

вала количество тирозингидроксилаза (ТН) иммунопозитивных клеток в черной субстанции и улучшала моторную координацию подопытных мышей.

Финансирование исследования: *Работа поддержана Программой научных исследований президиума РАН «Фундаментальные основы технологии физиологических адаптаций».*

**Павлова С.В.¹, Милевская Е.А.¹,
Дементьева Е.В.¹, Чепелева Е.В.²,
Сергеевичев Д.С.², Закиян С.М.¹**

¹ Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики СО РАН

² ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр им.
акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России
spav@bionet.nsc.ru

МОНИТОРИНГ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КАРДИАЛЬНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КРЫСЫ В ПЕРИИНФАРКТНУЮ ЗОНУ МИОКАРДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛЮЦИФЕРАЗНОЙ РЕПОРТЕРНОЙ СИСТЕМЫ

Одним из перспективных направлений терапии ишемических поражений миокарда является использование клеточных технологий. Кардиальные мезенхимальные c-kit-позитивные клетки продуцируют широкий набор паракринных ангиогенных факторов и способствуют ревазуляризации миокарда в области трансплантации. Ключевым моментом успеха любой клеточной терапии является эффективная трансплантация целевых клеток и их приживание. В данной работе мы оценили эффективность приживания кардиальных мезенхимальных клеток (КМК) после трансплантации в перинфарктную зону на модели острого инфаркта миокарда у крыс. Трансплантацию клеток в миокард проводили в культуральной среде и в фибриновом матриксе. Клетки были модифицированы с помощью лентивирусов геном фермента люциферазы (КМК-Luc). Была показана линейная зависимость активности люциферазы в экстрактах КМК-Luc от их количества, что позволило провести количественную оценку эффективности трансплантации и приживания КМК-Luc в миокарде. В качестве контроля использовали значение люминесценции известного количества клеток, инъецированных в миокард *ex vivo*. Относительное количество люминесценции белкового экстракта миокарда определяли через 1, 2, 3, 5, 7, 10 и 14 сут. после трансплантации КМК-Luc. Достоверно показано положительное влияние фибринового геля на задержку и выживаемость КМК-Luc в миокарде в течение 7–10 дней. Однако при обоих способах трансплантации клеток на 14 сут. ни в одной из групп люминесценция КСК-Luc не определялась. На основании полученных данных были сделаны выводы, что клетки КМК-Luc сохраняются в миокарде 7–10 дней после трансплантации, что соответствует острому периоду развития инфаркта миокарда и терапевтическому окну, когда любое воздействие, направленное на сохранение жизнеспособного миокарда, имеет решающее влияние на прогноз развития заболевания.

Финансирование исследования: *Грант РФФ № 16-15-10322.*

**Панкина А.П.¹, Немец Е.А.²,
Севастьянов В.И.²**

¹ АНО «Институт медико-биологических
исследований и технологий»

² ФГБУ «Федеральный научный центр
трансплантологии и искусственных органов
им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава России
amagniya@yandex.ru

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА СТАБИЛИЗАЦИИ СТРУКТУРЫ 2D КОЛЛАГЕНОВЫХ МАТРИКСОВ НА РЕЗОРБЦИЮ И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ОБРАЗЦОВ

Увеличение биостабильности коллагенсодержащих материалов достигается, в основном, сшивкой глутаровым альдегидом (ГА). Основным недостатком ГА как сшивающего агента является его цитотоксичность. Поэтому поиск новых технологий повышения биостабильности коллагенсодержащих матриксов, предназначенных для применения в тканевой инженерии, остается актуальной задачей.

ЦЕЛЬ. Сравнить влияние различных способов стабилизации структуры 2D матриксов из коллагена на скорость их резорбции и цитотоксичность.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Пленки из склерального коллагена I типа (СК) сельскохозяйственных животных получали методом полива. Для стабилизации структуры 2D матриксов применяли: 1. Дегидротермосшивку (10–20 мм рт. ст.; 1200 С; 6–24 ч.). 2. УФ-облучение (16 Вт, 254 нм). 3. Обработкой в парах ГА (комн. темп., 1–7 сут.). Контролем служили образцы с ГА, внесенным в раствор СК в концентрации 0,001–1,0%. Изучали деградацию 2D матриксов под действием коллагеназы (1 ед/мг, рН = 7.4, 37°C, 1 ч.). Цитотоксичность 2D-матриксов определяли согласно ГОСТ ИСО 10993-5 на культуре фибробластов мыши линии NIH 3T3.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Потеря массы (ПМ) не стабилизированных пленок СК под действием коллагеназы составила 66±9%. В результате дегидротермосшивки биодеградация линейно уменьшалась с увеличением времени обработки и полностью отсутствовала после 18 ч. обработки. УФ-облучение слабо влияло на биодеградацию 2D матриксов (ПМ = 55±5%). Сшивка 2D матриксов в парах ГА сопровождалась повышением их биостабильности. Полное отсутствие ПМ наблюдалось после 24 ч. обработки. Было обнаружено, что в контрольном образце введение ГА в раствор СК в концентрации от 0,001 до 1,0% сопровождалось снижением потери массы образцов от 20±3% до 5±1%, соответственно. Контрольные образцы проявляли выраженную цитотоксичность, возрастающую от «незначительной» до «умеренной» по мере увеличения концентрации сшивающего агента ГА от 0,001 до 1,0%. Фиксация пленок в парах ГА в течение первых 48 ч. оказывает минимальное влияние на цитотоксичность образцов. Затем происходит нарастание цитотоксичности 2D матриксов, достигая к 1 нед. обработки максимального уровня – «резкая цитотоксичность», при которой происходит практически полное разрушение монослоя клеток, контактирующих с исследуемым образцом. Не было обнаружено статистически достоверно значимой разницы между цитотоксичностью образцов СК, обработанных УФ-облучением или дегидротермообработкой, показавших полное отсутствие признаков цитотоксичности.