повреждении тканей. При этом крайне актуальной оказывается разработка методов сохранения жизнеспособности и регенеративных свойств клеток после трансплантации. Одним из перспективных подходов может быть использование минимальных тканеинженерных конструкций в виде клеточных пластов, образованных МСК и наработанным ими внеклеточным матриксом, отчасти моделирующих клеточную нишу с поддерживающим микроокружением. Регенеративные эффекты МСК могут быть усилены путем генетической модификации, вызывающей гиперэкспрессию фактора роста с плейотропным влиянием на процессы регенерации. Мы оценили терапевтический эффект МСК жировой ткани (МСК ЖТ), модифицированных аденоассоциированным вирусным вектором, несущими ген фактора роста гепатоцитов (HGF), на модели ишемии задней конечности у мыши. Ангиогенный (плотность сосудов на срезах мышц $CD31^+$, α-$ГМА^+$) и нейропротективный эффекты (количество нервных волокон на срезах мышц, NF200+структур) были оценены после трансплантации МСК как в суспензии, так и в виде тканеинженерной конструкции (cell sheets, CS). Восстановление кровотока оценивали по лазерному доплеровскому сканированию в динамике до 21 дня после моделирования ишемии.

Полученные результаты показали, что трансплантация клеток, гиперэкспрессирующих плейотропный фактор роста HGF, ведет к более эффективному восстановлению ишемизированной конечности, включая восстановление кровоснабжения, васкуляризации и иннервации, уменьшение размера некроза мышц и последующего фиброза, чем трансплантация немодифицированных МСК ЖТ. Наибольшая эффективность отмечена при трансплантации МСК ЖТ, гиперпродуцирующих HGF, в виде клеточных пластов. Мы предполагаем, что наблюдаемые эффекты обусловлены плейотропным действием HGF наряду с многофакторным паракринным влиянием самих МСК ЖТ, которые остаются жизнеспособным и функционально активным при их трансплантации в виде клеточных пластов.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 18-015-00438.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА ТЕСТИРОВАНИЯ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ НА КУЛЬТУРЕ ФИБРОБЛАСТОВ

Виолетта Викторовна Болтовская, Виктория Викторовна Россинская, Ирина Феликсовна Нефедова, Лариса Николаевна Кулагина

Институт экспериментальной медицины и биотехнологий, СамГМУ, Самара, Россия

violetta.boltovskaya@yandex.ru

В настоящее время стандартные протоколы тестирования отсутствуют, каждый исследователь составляет свой план тестирования для каждого конкретного случая. Нами усовершенствован и оптимизирован протокол тестирования in vitro изделий медицинского назначения, имеющих металлические детали.

Протестировать целиком готовые изделия, применяемые в травматологии, ортопедии, стоматологии, на культурах клеток невозможно. Образцы, необходимые для исследования изготавливают определенной формы и размеров, структура их поверхности соответствует структуре поверхности самого готового изделия, образцы стерильны.

Первоначальная задача состоит в получении достаточного количества качественных линий клеток, полученных из первичных эксплантатов. Перед исследованием проверяют культуру на жизнеспособность и пролиферативный потенциал (индекс пролиферации, время удвоения, индекс адгезии). Затем приступают непосредственно к тестированию.

Рекомендуемые в ГОСТ ISO 10993, ч. 5 метод непрямого контакта используется только для качественной оценки цитотоксичности. Для возможности применения еще и количественных методов, мы предложили использовать 24-луночные планшеты со вставками.

При появлении явной цитотоксичности образцов на первом этапе (окрашивание клеток в синий цвет 0,4% раствором трипанового синего), дальнейшее исследование проводить нецелесообразно. При слабой цитотоксичности и ее отсутствии следующий этап включает комплекс общеморфологических и биохимических методов (МТТ и ЛДГ). При проведении исследования на адгезивную способность клеток к поверхности материала необходимо, чтобы образец полностью закрывал дно лунки в планшете, и суспензия клеток вносилась только на поверхность образца, иначе произойдет потеря клеток и будет получен недостоверный результат.

Предложенный нами протокол показал свою пригодность для тестирования новых изделий медицинского назначения, которые найдут широкое применение в регенеративной медицине.

ВЛИЯНИЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА НА ПРОДУКЦИИ ФАКТОР РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ-21 ЛОКАЛЬНЫХ ЖИРОВЫХ ДЕПО

Дарья Андреевна Бородкина[1, 3], Юлия Александровна Дылева[1], Ольга Викторовна Груздева[1, 2], Екатерина Владимировна Белик[1]

[1] *Лаборатория исследования гомеостаза, ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово, Россия;*

[2] *ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Кемерово, Россия;*

[3] *Областной диабетологический центр Кемеровской области, «Кемеровская областная клиническая больница» им. С.В. Беляева, Кемерово, Россия*

dyleva87@yandex.ru

Цель работы определить особенности продукции фактор роста фибробластов-21 (FGF-21) подкожных, эпикардиальных и периваскулярных адипоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца.

Материалы и методы исследования. В исследование включено84 пациента с ишемической болезнью сердца (ИБС) и инфарктом миокарда (ИМ) в анамнезе и 50 пациентов с пороками сердца: 30 человек с врожденными (ВПС, недостаточность аортального клапана) и 20 с приобретенными (ППС, на фоне ревматической болезни сердца, стеноз митрального клапана).Всем пациентам во время планового оперативного вмешательства (аортокоронарного шунтирования (АКШ) или замене клапанов сердца), проводился забор адипоцитов эпикардильной (ЭЖТ) и подкожной жировой ткани (ПЖТ) и периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ) (в области маммакоронарного сосудистого пучка, который располагается в переднем средостении — восходящей частью

аорты) с последующим культивированием и получением супернатанта. Со дна лунок аккуратно забирали среду для последующего определения экспрессии генаFGF-21, а также содержания продуктов его экспрессии методом иммуноферментного анализас использованием тест-систем фирмы BioVendor (США).Данные проанализированы с использованием пакета прикладных статистических программ Statistica 9.0.

Результаты: среди пациентов без поражения коронарных артерий не прослеживалось значимой разницы в экспрессии гена FGF-21 во всех трех культурах для адипоцитов. Тогда как среди пациентов с ИБС адипоциты ЭЖТ, характеризовались более низким уровнем экспрессии гена — в 3,3 раза ниже чем в культуре ПЖТ и в 3,11 ниже, чем в культуре ПВЖТ. Исследуемые группы достоверно не различались по уровню экспрессии гена *FGF-21* в культурах ПЖТ и ПВЖТ.Данные о секреции FGF-21 соответствовали экспрессии его гена. Так наименьшая концентрация FGF-21 регистрировалась в супернатанте адипоцитов ЭЖТ пациентов с ИБС и была почти в два раза ниже, чем в остальных культурах. Тогда как секреция FGF-21 в супернатанте адипоцитов ПЖТ и ПВЖТ достоверно не различалась, ни между группами пациентов, ни между культурами.

Выводы: Таким образом ЭЖТ у пациентов с ИБС характеризуется подавлением секреции FGF-21 по сравнению с пациентами без поражения коронарных артерий и других жировых депо.

Поисково-аналитическая работа по подготовке рукописи проведена при финансовой поддержке гранта РНФ № 17-75-20026 «Молекулярные маркеры патологической активации жировой ткани при сердечно- сосудистых заболеваниях».

ПРИМЕНЕНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ ПРИ МЕСТНЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ КОЖИ

Виталий Андреевич Брунчуков, Татьяна Алексеевна Астрелина, Виктория Андреевна Никитина, Ирина Владимировна Кобзева, Юлия Борисовна Сучкова, Дарья Юрьевна Усупжанова, Анна Андреевна Расторгуева, Ольга Александровна Максимова, Валерий Евгеньевич Крючихин, Сергей Владимирович Лищук, Елена Алексеевна Дубова, Константин Анатольевич Павлов, Валентин Андреевич Брумберг, Андрей Юрьевич Бушманов, Александр Сергеевич Самойлов

ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

brunya2008@yandex.ru

Изучение регенеративных процессов кожи у лабораторных животных с МЛП при использовании мезенхимальных стволовых клеток (МСК) плаценты человека и концентрата их кондиционированной среды (ПКС).

Моделировали МЛП на рентгеновской установке в дозе 110 Гр, 80 лабораторных животных (самцы Wistar, 8–12 недель, m=210,0±30,0 г) рандомизировали случайным образом на 4 группы (по 20 животных в каждой): контроль (К) — без получения терапии; контроль с введением концентрата культуральной среды (КС); терапия МСК плаценты (Пл); терапия ПКС. Терапию производили в рассчетной дозе 2×10^6/кг на 1, 14, 21 сутки. Проводили гистологическое и иммуногистохимическое исследования. Культивировали МСК до 3–5 пассажа, осуществляли забор кондиционированной среды и концентрировали ее в 10 раз. С помощью проточной цитофлюориметрии определяли иммунофенотип МСК и жизнеспособность.

Средняя площадь измененной кожи на 7 день была достоверно ниже в группах К и КС по сравнению с группами Пл и ПКС ($p\leq0,05$), к 14 дню общая измененная площадь в группах К, Пл и ПКС не различалась, тогда как в группе КС она была меньше до конца эксперимента. С 14 дня эксперимента регистрировали открытую раневую поверхность кожи у всех животных. Динамика уменьшения площади открытой раневой поверхности была одинакова для всех групп до 42 дня исследования. После наблюдали волновую динамику увеличения и уменьшения открытой раневой поверхности во всех группах, кроме КС. На 112 день площадь отрытой раневой поверхности в группе ПКС была в 6,7 раз меньше по сравнению с группой К. Полное заживление раневой поверхности кожи в группе КС отмечалось у 40%, в ПКС — 60%, в Пл — 20%, в группе К не произошло заживление раневого дефекта. По данным гистологического исследования отмечали уменьшение воспалительных процессов, наличие зачатков волосяных фолликулов и пролиферацию сосудов микроциркуляторного русла в ПКС в отличие от других групп, в которых эти изменения были не столь заметны.

Применение концентрата кондиционированной среды МСК плаценты (группа ПКС) при МЛП у лабораторных животных приводит к ускорению перехода раневого процесса в стадию регенерации и эпителизации. В одной из контрольной групп при применении концентрата культуральной среды (группа КС) наблюдали значимое уменьшение площади раневой поверхности по сравнению с другими группами на протяжении всего периода наблюдения. Однако, анализ гистологического и иммуногистохимического исследований не позволяет однозначно утверждать об эффективности применения данного типа терапии.

РОЛЬ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ БИОБАНКОВ: ЦЕЛИ И ФОРМЫ

Елена Владимировна Брызгалина

Философский факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

evbrz@yandex.ru

Междисциплинарное взаимодействие прим.тельно к биобанкам отличается опережающим развитием технических решений в сравнении с социогуманитарным осмыслением оснований и последствий биобанкинга, что подразумевает сложные кооперационно-координационные связи отдельных исследовательских групп и различный характер целевых ориентиров и форм междисциплинарности.

Философский уровень определяется включенностью биобанков в трансформацию природы человека, дискуссионностью оснований и границ вмешательств в естественную заданность телесной основы человеческого бытия, остротой проблем доступности и справедливости продуктов биобанкинга. Влияние на развитие общества расширяющихся и углубляющихся данных о человеке чревато дискриминационными и стигматизирующими последствиями, что требует анализа заинтересованности различных социальных субъектов в результатах