

в 1 год снижается на 38,70%, до 8,19%; с 1 года до 3 лет увеличивается на 64,08% и составляет 19,69% в эндокринном островке. ЯЦО *skit⁺* клеток в суточном возрасте составляет $0,18 \pm 0,008$. С 1- до 3-месячного возраста снижается на 17,53%, с 3 до 6 месяцев увеличивается на 29,22% и составляет $0,19 \pm 0,008$, после чего не изменяется до 3-летнего возраста кошек. Таким образом, *c-kit⁺* клетки в поджелудочной железе млекопитающих являются динамическим показателем, отражающим регенераторный потенциал эндокриноцитов железы.

АКТИВАЦИЯ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ NOTCH И ГЕНОВ РАННЕГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ В МЕЗЕНХИМНЫХ КЛЕТКАХ СЕРДЦА ПРИ ОСТРОМ ГИПОКСИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Павел Михайлович Докшин¹, Андрей Александрович Карпов¹, Анна Борисовна Малашичева^{1,2}

¹ Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия;

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

p.docshin@gmail.com

Восстановление сократительной функции сердца после инфаркта миокарда является актуальной проблемой современной регенеративной медицины. Открытие и экспериментальное использование мезенхимных клеток сердца (МКС) стало новой вехой в развитии клеточной терапии «нового поколения». Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе репаративных процессов, остаются малоизученными. Было показано, что при остром гипоксическом поражении миокарда в периинфарктной области повышается экспрессия гена *notch1* и усиливается пролиферация клеток. Известно, что передача сигналов Notch имеет важное значение в кардиогенезе, клеточной дифференцировке и в поддержании популяции стволовых клеток в постнатальном периоде. Участвует ли Notch-сигналинг в процессах, определяющих степень ремоделирования сердца после инфаркта миокарда, остаётся неясным.

Целью нашего исследования было проведение анализа роли сигнального пути Notch и связанных с ним генов раннего ремоделирования в активации регенеративного потенциала МКС.

Развитие инфаркта миокарда у крыс индуцировали посредством лигирования левой коронарной артерии. МКС были получены из ишемизированной области путём ферментативной диссоциации ткани; в качестве контроля были использованы МКС из здорового миокарда ложнопериорированных крыс. Гипоксию *in vitro* индуцировали за счёт инкубирования здоровых МКС в условиях низкого содержания кислорода (1%) в воздушной камере на протяжении 48 часов. Искусственную активацию Notch в МКС проводили путём внесения NICD на лентивирусном носителе. Экспрессию целевых генов оценивали с помощью qPCR.

Ишемическое воздействие вызвало активацию генов сигнального пути Notch и *runx2/bmp2* в ткани сердечной мышцы, а также в МКС, полученных из периинфарктной области. Последние имели больший потенциал к миграции, пролиферации и дифференцировке. Индуцированная гипоксия *in vitro* в контрольных МКС также вызвала активацию генов сигнального пути Notch и *runx2/bmp2*. Введение NICD дозозависимо активировало *runx2*.

Таким образом, гипоксический стресс индуцирует кратковременную активацию регенеративного потенциала МКС, и в этих процессах задействованы компоненты сигнального пути Notch и гены раннего ремоделирования *bmp2* и *runx2*. Запланированы дальнейшие исследования этого феномена.

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА ОБРАБОТКИ ПОВЕРХНОСТИ ИМПЛАНТАЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА УРОВЕНЬ АТФ МСК ПУЛЬПЫ ЗУБА ЧЕЛОВЕКА

Александр Александрович Долгалев, Дмитрий Викторович Бобрышев, Николай Николаевич Диденко, Виктор Иванович Зеленский

ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

nikolai.n.didenko@gmail.com

Изменение микро- и наноструктуры поверхности имплантата является ключом к оптимальной остеоинтеграции. При этом в доступной литературе практически отсутствуют исследования по изучению влияния различных видов поверхности имплантата на клетки и ткани, с которыми она контактирует.

Цель исследования: изучение уровня внутриклеточного АТФ МСК пульпы зуба человека, культивированных в присутствии образцов титановых сплавов, поверхность которых была обработана различными способами.

Материалы и методы. Первичные культуры МСК пульпы зуба человека, полученные из удаленных по ортодонтическим показаниям третьих моляров, культивировали при 37°C и 5% CO₂ в пластиковых культуральных флаконах 25 см², содержащих полную питательную среду. На третьем пассаже клетки высевались в 24-луночные планшеты по 3×10^4 клеток на лунку. По достижении 70–80% конfluenceности в лунки помещали образцы исследуемых материалов.

Люминесцентный анализ уровня АТФ проводился через 24 и 48 ч с использованием ATPlite 1 step (PerkinElmer) при помощи фотометра-имиджера Cytation 1 (BioTek). Подсчет клеток и уровня их жизнеспособности проводился при помощи автоматического счетчика LounaFL (LogosBio). Различия средних величин уровня АТФ оценивались при помощи t-критерия Стьюдента и считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При анализе уровня АТФ в культивируемых клетках через 24 и 48 ч после внесения образцов титановых сплавов наибольший результат получен у клеток, культивированных в присутствии образца титано-ванадиевого сплава с покрытием нанодисперсным углеродом BT-6 DLC, наименьшим — в присутствии BT-6 с ультразвуковой обработкой ($t = 6,23$; $p < 0,05$). При этом уровень АТФ в клетках, культивированных в присутствии образца материала BT-6 DLC, достоверно не отличался от уровня АТФ в клетках, культивированных в присутствии чистого титанового сплава BT1-0 ($t = 0,18$; $p > 0,5$). Наибольший прирост уровня АТФ за вторые сутки показаны у клеток, культивированных в присутствии образца материала с магнетронным покрытием титаном, мощность 200 Ватт (BT-6 W 200) (+96,4%), несколько меньше — в присутствии BT-6 DLC (+88,3%), наименьшая — в присутствии образца с нанодисперсным покрытием диоксидом титана (BT-6 TiO₂) (+17,60%).

Заключение. Таким образом, клетки, культивированные в присутствии образца BT-6 DLC, обладают

наибольшим уровнем АТФ по сравнению с другими исследуемыми образцами, что говорит о положительном влиянии данного способа обработки поверхности материала с точки зрения биофункциональности.

ТИТАНОВЫЕ ИМПЛАНТАТЫ С НАНОСТРУКТУРИРОВАННОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ КАК МАТЕРИАЛ-НОСИТЕЛЬ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК ПРОИЗВОДНЫХ НЕРВНОГО ГРЕБНЯ (NCSC) НА МОДЕЛИ СТАНДАРТИЗИРОВАННОГО КОСТНОГО ДЕФЕКТА

Александр Александрович Долгалев¹, Виктор Иванович Зеленский¹, Игорь Владимирович Ржепаковский², Николай Николаевич Диденко³

¹ Кафедра стоматологии общей практики и детской стоматологии, Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия;

² Институт живых систем, Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия;

³ Лаборатория регенеративной медицины, Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

dolgalev@dolgalev.pro

Рентгеновская микротомография является методом микроструктурного анализа, обладающий высоким уровнем детализации и позволяющий расширить возможности оценки внутренней архитектуры органов и тканей с применением их 3Д реконструкции. Преимуществом данного метода перед морфологическими является то, что нет необходимости разделять исходный материал на срезы и шлифы. Специфику работы с подобным оборудованием можно разделить на две части, это проведение исследований *in vivo* и *in vitro*, то есть работа с живыми лабораторными животными по или изучение органов и тканей, отделенных от животного.

В рамках этого исследования нами проведен микроКТ анализ остеоинтеграции имплантатов в зону нижней челюсти и в крыло подвздошной кости экспериментальных животных (овец) в норме и при экспериментальном остеопорозе. Животным контрольной и опытной групп были установлены дентальные имплантаты в нижний край нижней челюсти и передний край крыла подвздошной кости. Животных вывели из эксперимента через 30 и 90 дней. Образцы костных тканей, фиксировались в 10% забуференном растворе формалина. Для сканирования и обработки материалов использовали рентгеновский микротомограф Skyscan 1176 (Bruker-microCT, Бельгия) и программное обеспечение Skyscan 1176 control program (1.0.0.0), Nrecon (1.7.4.2), DataViewer (1.5.6.2), CT-analyser (1.18.4.0), CTvox (3.3.Or1403). Сканирование каждого фрагмента кости проводилось вместе с двумя фантомами (0,25 и 0,75 г/см³ гидроксиапатита кальция) имеющими диаметр соответствующий толщине исследуемых проб. В зависимости от размеров пробы и ее толщины использовалось разрешение от 9 до 36 мкм и два фильтра (Cu+Al и Cu O,1 мм).

Анализ внедрения различных имплантатов в подвздошную кость показал, что уровнем лучшей имплантации по сравнению с другими отличались «BT6+M5 (магнетрон)» и «BT6 с», у остальных уровень имплантации достоверно не изменялся, по уровню состояния костной ткани вокруг имплантата все изделия значительных отличий не имели.

Анализ внедрения различных имплантатов в нижнюю челюсть, показал в апикальной части, лучший уровень имплантации у изделий «BT1-О не обр.», а также «BT6+M5 (магнетрон)», кроме того процентное содержание костной ткани вокруг имплантатов было больше у изделий «BT1-О не обр.», «BT6+DLC» и «IRIS», причем последний отличался наиболее равномерным заполнением губчатой костной тканью по всей исследуемой поверхности.

НОВЫЙ СПОСОБ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА НОВООБРАЗОВАННЫХ РЕГЕНЕРАТОВ ПОСЛЕ ХОНДРОПЛАСТИКИ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ АУТОПЛАЗМОЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Дмитрий Александрович Долгушкин¹, Владимир Анатольевич Лазарев¹, Наталья Николаевна Сарбаева¹, Павел Михайлович Зельтер²

¹ ИЭМБ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, Самара, Россия;

² Клиники ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, Самара, Россия

dirol900@yandex.ru

Введение. Экспериментальных работ для оценки эффективности хондропластики и оценки качества восстановления регенератов у животных с помощью компьютерной томографии крайне мало, а результаты их противоречивы.

Целью работы является оценка эффективности хондропластики обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмой (ОТП) в эксперименте у кроликов с помощью компьютерной томографии.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе Института экспериментальной хирургии и биотехнологий СамГМУ. Работа проведена на 30 кроликах породы «Шиншилла» массой 2,5–3 кг, возрастом 1–1,5 года. Всем животным моделировали костно-хрящевые дефекты надколенниковой суставной поверхности бедренной кости. Контрольной группой выступали животные без последующей пластики дефектов. Первой опытной группой животных осуществляли пластику дефектов ОТП, второй – заполняли дефекты бионосителем — деминерализованной лиофилизированной спонгиозой, изготовленной по методике «Лиопласт». Оценку восстановления области пластики осуществляли с помощью разработанного способа оценки качества регенерата с помощью компьютерной томографии, спустя 2 недели, 1,2,3 месяца после операции.

Результаты и их обсуждение. Предложенный эффективный способ оценки качества регенератов после хондропластики разными способами позволил в динамике выявить отличия процессов восстановления тканей области дефекта. Были оценены качественные и количественные показатели плотности новообразованной ткани в области дефектов в целом, а также изолированно — на уровне гиалинового хряща, субхондральной кости и промежуточной зоне регенерата.

Выводы. Результаты компьютерной томографии показали, что, если на ранних сроках после хондропластики обогащенной тромбоцитами аутоплазмой регенераты по своим качественным и количественным характеристикам значительно уступали аналогичным показателям интактных тканей, то ко 2 месяцу наблюдения значения плотности этих регенератов были сравнимы с этими показателями. А к 3 месяцу наблюдений превосходили