

Полученные нейросферы были разделены на две группы: 1 (диаметр > 900 мкм), 2 (диаметр < 900 мкм). В 1 группе отмечена гибель клеток центральной части сфероидов и сохранение жизнеспособности клеток в периферической зоне. Ki67⁺ клетки преобладали в кортикальном отделе 1 группы, и были распределены диффузно в образцах из 2 группы. Выявлено формирование примитивных нервных трубок — «розеток», сформированных медуллобластами или эпендимоподобными клетками, между которыми выявлены плотные межклеточные контакты.

Во всех нейросферах детектированы клетки, содержащие нейронспецифические маркеры β -III-tubulin и MAP2; ChAT (маркер холинергических нейронов); GFAP (маркер нейроглии); SOX1 (маркер ранних клеток-предшественниц).

Наибольшая плотность GFAP⁺ клеток отмечена в кортикальном отделе (некоторые SOX1⁺), β -III-tubulin⁺ — в субкортикальных отделах нейросфер. Для 2 группы характерно диффузное равномерное распределение перечисленных маркеров, с преобладанием GFAP⁺ клеток в периферической части.

Таким образом, в модельных условиях 3D культивирования *in vitro* показана возможность пролиферации и дивергентной нейро- и глиоцитарной дифференцировки. Гибель клеток центральной части крупных сфероидов наиболее вероятно связана с метаболическим дефицитом в этой области, что может являться объективным ограничением использованной модели.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Илья Игоревич Еремин¹, Иван Николаевич Корсаков², Анастасия Петровна Петрикина², Татьяна Сергеевна Чаузова², Ольга Сергеевна Гринаковская², Галия Равиленовна Сетдикова³, Оксана Владимировна Паклина³, Андрей Алексеевич Пулин¹

¹ Курчатовский комплекс НБИКС-природоподобных технологий, НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия;

² Лаборатория клеточной биологии и патологии развития, ФГБНУ «НИИОПП», Москва, Россия;

³ Патологоанатомическое отделение ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ, Москва, Россия

cd105@mail.ru

Сегодня в регенеративной медицине используется широкий спектр клеточных продуктов, содержащих разные типы клеток, полученные из различных источников. При этом, каждый из источников обладает своими преимуществами и недостатками. Сравнительные исследования клеток, выделенных из различных источников, их концентраций и кратности введения на одной модели практически отсутствуют.

Цель работы — сравнительный анализ терапевтической эффективности клеточных продуктов, содержащих различные клетки, в условиях одной экспериментальной модели.

В качестве модели нами была выбрана модель термического ожога кожи крысы.

Животные (крысы Wistar, массой тела 200–250 г) были разделены на 16 групп по 12 животных в каждой. В качестве клеточных продуктов были использованы: стромально-васкулярная фракция жировой ткани (СВФ),

выделенная из 1 мл жира, СВФ из 1 мл жира, обогащенная культивированными аутологичными мезенхимальными стромальными клетками жировой ткани (МСК ЖТ) (5 или 10 млн клеток), СВФ из 1 мл жира, обогащенная аллогенными МСК ЖТ (1, 5 или 10 млн клеток), аутологичные МСК ЖТ (1, 5 или 10 млн клеток), аллогенные МСК ЖТ (5 млн клеток), аллогенные МСК, выделенные из плаценты (однократная инъекция 5 млн клеток или двукратная инъекция по 5 млн клеток с интервалом в неделю), аллогенные МСК, выделенные из слизистой оболочки полости рта (1 или 5 млн клеток). Исследуемый продукт ресуспендировали в 0,6 мл физиологического раствора и вводили равными порциями подкожно в 24 точках по окружности и под дно раны через 8 проколов на третьи сутки после моделирования ожога и на 10 сутки (в случае двукратного введения). Животным в контрольной группе вводили аналогичный объем физиологического раствора.

Основным критерием эффективности являлось время до полной эпителизации раны (в сутках). Дополнительными критериями эффективности были — уменьшение площади кожной раны на 21 и 30 сутки и степень регенерации по данным гистологического исследования.

В результате были получены данные, свидетельствующие в пользу большей терапевтической эффективности аллогенных МСК, выделенных из плаценты по сравнению со всеми другими видами клеток. При этом двукратное введение плацентарных МСК было более эффективным по сравнению с однократным. Таким образом, по результатам проведенного эксперимента, можно считать, что плацента является наиболее перспективным источником для получения аллогенных клеточных продуктов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-30066).

СТАТУС СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ КАК КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА В СОВРЕМЕННЫХ РЕАЛИЯХ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРАВОВОГО ПОЛЯ

Илья Игоревич Еремин¹, Ирина Ивановна Надеяева¹, Вячеслав Сергеевич Васильев²

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия;

² ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия

cd105@mail.ru

Современная регенеративная медицина в числе своих основных инструментов имеет значительное число клеточных продуктов. В условиях текущих реалий отечественного правового поля, существует ситуация, когда часть продуктов для клеточной терапии не подпадает под правовое регулирование. Основная причина — отсутствие какой-либо классификации клеточных продуктов, закрепленной в нормативно-правовых актах. В результате существует целый класс продуктов, которые применяются в клинической практике без законодательно установленных правил обращения. Соответственно отсутствует и государственный контроль за оборотом и последствиями применения таких продуктов. К таким продуктам относятся те, которые получают без использования этапа культивирования клеток, соответственно, в терминологии Федерального закона № 180 «О биомедицинских клеточных продуктах» от 23 июня 2016 г, они не являются

биомедицинскими клеточными продуктами. К таким продуктам можно отнести стромально-васкулярную фракцию клеток жировой ткани, мононуклеары костного мозга и плазму, обогащенную тромбоцитами. Некоторое время назад такие продукты называли минимально манипулированными. Причем для их получения существуют специальные медицинские изделия, которые позволяют проводить обработку биологического материала в закрытых одноразовых контурах. Некоторые из таких медицинских изделий зарегистрированы Росздравнадзором и разрешены для клинического применения. Другие медицинские изделия доступны на рынке без регистрационного удостоверения и ошибочно позиционируются дистрибьюторами как разрешенные, именно ввиду отсутствия правил обращения на рынке клеточных продуктов, которые могут быть получены с их помощью.

Вместе с этим у практикующих врачей часто возникает вопрос — можно или нельзя применять клеточные продукты, полученные с помощью таких изделий. С учетом постоянного развития технологий, наличия выработанного с участием профессиональных сообществ правового поля в странах ЕС и США, а также данных, подтверждающих эффективность и безопасность минимально манипулированных продуктов, рынок медицинских изделий для их получения постоянно растет, в том числе и в Российской Федерации. Существующие проблемные вопросы государственного регулирования обращения клеточных продуктов всех типов, оценка правовых рисков сложившейся ситуации для врачей и пациентов требует обсуждения профессиональным сообществом и инициации внесения изменений в действующее законодательство.

ИЗМЕНЕНИЕ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПОД ДЕЙСТВИЕМ МЕНСТРУАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В КОНТЕКСТЕ ЗАЖИВЛЕНИЯ ЭНДОМЕТРИЯ

**Р.Ю. Еремичев¹, М.А. Кулебякина²,
П.П. Нибирицкий^{1,2}, М.Г. Егiazарян²,
Н.А. Александрович^{1,2}, П.И. Макаревич^{1,2}**

¹ Институт регенеративной медицины, МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова

² Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова

romaneremichev@gmail.com

Эндометрий — уникальная часть женского организма, которая повреждается и затем полностью восстанавливается во время каждой менструации. Быстрая эпителизация и отсутствие образования грануляционной ткани с дальнейшим образованием рубца являются важнейшими отличительными особенностями процесса его заживления. Стромальные клетки эндометрия (СКЭ) могут быть источником эпителиоцитов за счет мезенхимно-эпителиального перехода или особым образом взаимодействовать с клетками эпителия, способствуя быстрой эпителизации. Также не исключено, что СКЭ устойчивы к действию стимулов, индуцирующих фиброплазию. При этом в настоящий момент не сложилось единого мнения о механизме участия СКЭ в регенерации эндометрия.

Целью работы было расширение представлений о том, каким изменениям подвергаются СКЭ во время менструации.

Задачи: оценить изменение маркеров эпителия (E-кадгерин, цитokerатины), миофибробластов (α -гладкомышечный актин, винкулин), продукции белков межклеточного матрикса (фибронектин, коллаген I,

коллаген IV, ламинин) под действием растворимых факторов менструального отделяемого здоровых женщин.

СКЭ и менструальная жидкость, содержащая растворимые факторы были выделены по отработанному ранее протоколу из менструальной крови добровольных доноров (n=3). В качестве контроля использовали сыворотку венозной крови (СК), полученную во второй день менструации. Выделенные СКЭ 4–5 пассажа затем культивировали в присутствии 10% МЖ или СК в течение 9 дней. В конечной точке мы проводили визуализацию исследуемых молекул путем иммуноцитofлуоресценции и количественный анализ методом иммуноблоттинга.

Культивирование с МЖ статистически значимо ($p < 0,05$) повышало количество коллагенов I и IV по сравнению с СК. При этом наблюдалось снижение количества фибронектина, винкулина и α -гладкомышечного актина, а количество ламинина и цитокератинов не отличалось. Белки межклеточного матрикса локализовались во внеклеточном пространстве, α -гладкомышечный актин — в стресс-фибриллах, при этом небольшая доля клеток была положительна на цитокератины.

Таким образом, во время менструации под влиянием растворимых факторов окружения СКЭ увеличивают продукцию молекул межклеточного матрикса и компонентов базальной мембраны, необходимых для быстрого восстановления целостности и эпителизации. В то же время не отмечается признаков перехода СКЭ в миофибробласты, который возможен для этих клеток при культивировании с СК.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФ № 19-75-30007.

АПОПТОЗ: РЕГУЛЯЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ DEB-СОДЕРЖАЩИМИ БЕЛКАМИ

**Виктория Вячеславовна Ерофеева¹,
Виктор Васильевич Глебов¹, Елизавета
Вячеславовна Аникина¹, Ксения Юрьевна
Михайличенко¹, Гульнара Александровна
Кулиева¹, Светлана Васильевна Горюнова²**

¹ Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

² Московский городской педагогический университет, Москва, Россия

vg44@mail.ru

Апоптоз является важным механизмом регуляторных процессов в организме всех многоклеточных организмов, который осуществляется на основе двух основных сигнальных путей: 1. Внешней, передаваемой с помощью рецепторов смерти (death receptors) и 2. Внутренней (митохондриальный), за счет антигена CD95, являющимся одним из рецепторов смерти.

Белки каспаза-8 и c-FLIP регулируют непосредственно запуск процесса клеточного уничтожения. На клеточном уровне (клеточная мембрана, цитозоль), отмечается комплексная связь белков. Данные механизмы сигнальной связи, позволяют регулировать запускать процессы ликвидации клеток. Механизмы апоптоза в клетке непосредственно связаны каспазой-8 (CASP8). Однако процесс может также подавляться с помощью белков c-FLIP, которые подавляют работу каспазы-8.

Другим механизмом регуляции клеточной популяции, который может проходить в цитозоле является использование транскрипционного фактора NF- κ B. В исследованиях зарубежных и отечественных ученых отмечено, что в ходе процесса происходит