

Наилучшим образом в эксперименте продемонстрировали себя гидрогели карбоксиэтилхитозана (КЭХ), сшитого глутаровым альдегидом, и интерполиэлектролитные гидрогели карбоксиметилхитозана, КЭХ и карбоксиметилцеллюлозы с альгинатом натрия, сшитые хлоридом кальция — клетки фибробластов в присутствии таких материалов, а также при непосредственном контакте с ними, проявляли хорошую адгезию к поверхности культурального планшета и росли с образованием конфлюэнтного клеточного монослоя. Величины индекса цитотоксичности при этом указывали на отсутствие негативных эффектов исследуемых материалов на клетки. Гели на основе пТМК вероятно оказали на клетки токсический эффект, что выразилось в постепенной их гибели в течение эксперимента.

Таким образом, испытанные материалы на основе пТМК требуют дополнительной функционализации для улучшения биосовместимости, тогда как гидрогели на основе карбоксиалкильных производных хитозана и целлюлозы демонстрируют неплохие показатели для дальнейших исследований.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ, СТИМУЛИРОВАННЫХ TGF- β 1 IN VITRO

Мария Константиновна Корнейко, Ирина Александровна Ляхова, Сергей Викторович Алейцев, Игорь Степанович Брюховецкий

Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

mari_korneiko@inbox.ru

Большинство современных методов лечения злокачественных опухолей головного мозга недостаточно эффективны, а средняя продолжительность жизни пациентов варьирует от 9 до 14 месяцев. Метастатические и инвазивные процессы являются основными характеристиками злокачественных опухолей. Наиболее важным патогенетическим механизмом является эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), который заставляет эпителиальные клетки терять свою апикально-базальную полярность, вследствие чего эти подвижные элементы приобретают способность проникать в окружающие ткани и мигрировать в отдаленные органы. Трансформирующий фактор роста- β 1 (TGF- β 1) играет особую роль среди механизмов, индуцирующих ЭМП. Роль TGF- β в этом процессе очень сложна. Согласно некоторым исследованиям, этот фактор, действуя в нормальных условиях, ингибирует пролиферацию клеток, блокирует жизненный цикл клетки, инициирует дифференцировку или апоптоз. В настоящем исследовании представлено взаимодействие между гемopoэтическими стволовыми клетками и клетками глиобластомы, стимулированными TGF- β 1 in vitro. Материалом для исследования были CD 34⁺ гемopoэтические стволовые клетки (HSCs), глиобластома U87 MG (ATCC® HTB-14™). Мы использовали методы культивирования клеток, роботизированный мониторинг межклеточных взаимодействий, конфокальную лазерную микроскопию, проточную цитометрию, электронную микроскопию. Было показано, что клетки U87 имеют сложную систему коммуникации, включающую адгезивные межклеточные контакты, области слияния с растворением цитоплазмы, слияние клеток, коммуникационные микротрубочки и микровезикулы. Влияние TGF- β 1 на клетки глиобластомы приводит

к изменению формы клеток и усилению их экзокринной функции. HSC мигрируют в клетки глиобластомы, взаимодействуют с ними и обмениваются флуоресцентной меткой. Стимуляция раковых клеток TGF- β 1 ослабляет их способность привлекать HSC и обмениваться с ними флуоресцентной меткой.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ИНДУКТОРОВ ДЛЯ МИОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Дарья Григорьевна Корovina, Ирина Петровна Савченкова

ФГБНУ «Федеральный научный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН», Москва, Россия

darya.korovina@gmail.com

Несмотря на возрастающее число опубликованных исследований по миогенной дифференцировке мультипотентных мезенхимных стволовых клеток (ММСК) человека, работ с использованием клеток крупных животных моделей, в частности сельскохозяйственных животных, в данной области все еще недостаточно. Поэтому целью данного исследования было определение оптимальных условий культивирования для дифференцировки в клетки скелетной мышечной ткани (СМТ) ММСК крупного рогатого скота (КРС) под влиянием различных индукторов.

В эксперименте использовали ММСК, выделенные нами ранее из костного мозга (КМ) и жировой ткани (ЖТ) КРС, на 4 пассаже и миобласты крысы L6J1 на 3 пассаже. Длительность всех протоколов дифференцировки составляла 28 сут. Согласно первому протоколу ММСК в течение 7 сут. культивировали в среде SKGM-2 с 10% сыворотки крови плодов коров (СКПК), 2% эмбрионального экстракта мышечного мозга и антибиотиками пенициллином 50 ед./мл, стрептомицином 50 мг/мл. Далее использовали среду, стимулирующую слияние миобластов (смесь сред DMEM и F12 в соотношении 1:1, 2% сыворотки крови лошади и антибиотики). Во втором протоколе в качестве фидерного слоя для ММСК использовали инaktivированные митомицином С миобласты L6J1. Клетки сокультивировали, используя только ростовую среду для ММСК (DMEM-LG, дополненная 10% СКПК и антибиотиками). Среда для дифференцировки по третьему протоколу состояла из среды для культивирования ММСК и 50% кондиционированной среды, полученной от клеток L6J1. В связи с отсутствием специфических антител, миогенный потенциал ММСК КРС оценивали методами фазово-контрастной микроскопии и ПЦР-РВ по уровню экспрессии генов-маркеров миогенеза *SM22 α* , *MyoD1* и *MyoG*.

Установлено, что применение первого протокола стимулировало появление как адипоцитов, так и образование миотрубочек, что подтверждалось высокой экспрессией генов *MyoD1* и *MyoG* в ММСК ЖТ. В ММСК КМ в случае использования данного протокола была выявлена наибольшая степень дифференцировки в клетки гладкой мышечной ткани. Показаны высокие уровни экспрессии гена *MyoD1*, характерного для стадии образования миобластов, в ММСК КМ и ЖТ как в системе сокультивирования, так и при добавлении кондиционированной среды. В целом, ММСК ЖТ обладали способностью к миогенной дифференцировке в ответ на индукционные стимулы