

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ И НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ НЕЙРОНАЛЬНЫХ, ГЛИАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ И МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Георгий Евгеньевич Леонов¹, Диана Ирековна Салихова^{1,2}, Татьяна Борисовна Бухарова¹, Зоя Валентиновна Корниенко¹, Наталья Вадимовна Булатенко¹, Олег Владимирович Махнач¹, Андрей Витальевич Макаров², Тимут Хайсамутдинович Фатхудинов^{2,3}, Сергей Львович Киселев^{1,4}, Дмитрий Вадимович Гольдштейн^{1,3}

¹ ФГБНУ Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова, Москва, Россия;

² ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия;

³ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

⁴ ФГБНУ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

golerus@gmail.com

Введение. Лечение неврологических заболеваний, таких как ишемический инсульт, спинальная травма не имеют эффективного лечения и до сих пор остаются частыми причинами смертности и инвалидизации. Перспективным направлением служит клеточная терапия, одним из механизмов действия которой может являться секреция трансплантированными клетками биологически активных факторов. Целью исследования является изучение нейропротективных и нейротрофических свойств нейрональных предшественников (НП), глиальных предшественников (ГП), полученных путем дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) в моделях глутаматной токсичности и при направленной дифференцировке.

Материалы и методы. Исследование проводили на линии феохромоцитомы крысы (PC-12). Использовали кондиционированные среды (КС) НП, ГП и ММСК, полученные после 12 часов культивирования в среде DMEM/F12, (содержание общего белка 0,5 мг/мл). Для моделирования глутаматной токсичности клетки PC-12 культивировали в среде DMEM с 10% ЭТС в 96-луночном планшете. За 24 часа до добавления глутамата в лунки вносили КС, затем добавляли глутамат (10 мМ). Через 24 часа проводили МТТ тест и окрашивание Hoechst 33342. Для дифференцировки клетки PC-12 культивировали в среде OptiMem с 1% ЭТС в 24-луночном планшете. На 6 сутки после добавления КС оценивали количество и среднюю длину нейритов.

Результаты. В условиях глутаматной токсичности жизнеспособность клеток PC-12 увеличивалась при добавлении КС ГП на 21±5%, а КС ММСК — на 10±3%, количество апоптотических клеток уменьшилось с 11±3% до 4±2% и до 7±2% соответственно. КС НП не оказала значимого действия по сравнению с контролем. При направленной дифференцировке в образцах с добавлением КС ГП выявлено увеличение количества и средней длины нейритов (154% от контроля). При добавлении КС ММСК изменений по сравнению с контролем не выявлено, а КС НП, напротив, заведляла нейритогенез (57% от контроля).

Выводы. В моделях in vitro показано, что КС ГП оказывает нейропротекторное и нейротрофическое действие, превосходящее по эффективности влияние КС ММСК и НП. Полученные результаты являются обоснованием терапевтических эффектов ГП и служат основанием для разработки новых методов клеточной терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 14.604.21.0184 RFMEFI60417XO184).

НЕЙРОРЕПАРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ИЗ ГИДРОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ПРИВИТОГО СОПОЛИМЕРА ХИТОЗАНА С ОЛИГО (L,L-ЛАКТИДОМ) И ИПСК ЧЕЛОВЕКА В МОДЕЛИ ТРАВМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА У МЫШЕЙ

Наталья Владимировна Лизунова^{1,2}, Занда Валериевна Бакаева¹, Екатерина Андреевна Ивукина³, Вячеслав Игоревич Дамулин³, Артемий Александрович Шлычков^{1,2}, Никита Владимирович Минаев⁴, Татьяна Сергеевна Демина³, Ксения Николаевна Бардакова³, Петр Дмитриевич Брежестовский⁵, Петр Сергеевич Тимашев³, Всеволод Григорьевич Пинелис¹, Александр Михайлович Сурин^{1,6}

¹ ФГАУ «НМИЦ здоровья детей», Москва, Россия;

² Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва Россия;

³ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.И. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

⁴ Институт фотонных технологий ФНИЦ «Кристаллография и Фотоника» РАН, Москва, Россия;

⁵ Institut de Neurosciences des Systemes, UMR INSERM 1106, Marseille, France;

⁶ ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

natalia.lizunova18@mail.ru

В работе изучали нейрорепаративное влияние тканеинженерной конструкции (ТИК) на основе привитого сополимера хитозана с олиго (L,L-лактидом) in vivo в условиях сенсомоторного дефицита, вызванного травмой мозга. У мышей 8-недельного возраста, экспрессирующих в нейронах генетически кодируемый флуоресцентный Сl-сенсор, удаляли участок мозга (Ø2 мм × 1,5 мм в области 1S и 1M коры) и имплантировали ТИК, на которые предварительно высаживали нокаунтные по генам HLA человеческие ИПСК, индуцированные в нейроны. Краниотомию закрывали покровным стеклом, к черепу мыши, используя стоматологическую пластмассу и прозрачный полимер, крепили устройство для фиксации в установке для широкопольного оптического имиджинга (WFI, NeuroTag, Финляндия). Данная методика обеспечивала визуализацию поверхности головного мозга, включая область травмы, в течении >30 дней. Для оценки неврологического дефицита проводили тест «Цилиндр» до травмы и на 2, 7 и 14 сутки после нее. Максимальный неврологический дефицит (~35% для травмированной стороны у мышей без ТИК) наблюдали на вторые сутки после операции. Восстановление функций происходило быстрее у животных с ТИК: на 7 сутки разница между группами составила не менее 5%.