параметров с использованием высокотехнологичных подходов в дальнейшем может стать потенциальным параметром оценки эффективности технологий направленной дифференцировки ИПСК.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (проект № 17-75-20178).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИМПЛАНТАЦИИ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННЫХ И РЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННЫХ МАТРИКСОВ КОЖИ СВИНЬИ

Карина Игоревна Мелконян[1], Александр Сергеевич Сотниченко[1], Ирина Валерьевна Гилевич[2], Татьяна Викторовна Русинова[1], Яна Андреевна Юцкевич[1], Антон Владимирович Каракулев[2], Сергей Борисович Богданов[2], Илья Михайлович Быков[3], Владимир Алексеевич Порханов[2], Андрей Николаевич Редько[3], Сергей Николаевич Алексеенко[3]

[1] *Лаборатория фундаментальных исследований в области регенеративной медицины ЦНИЛ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия;*
[2] *ГБУЗ «Научно-исследовательский институт Краевая клиническая больница № 1 им. С.В. Очаповского», Краснодар, Россия;*
[3] *ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия*

alex24.88@mail.ru

Возможность применения рецеллюляризированных фибробластами дермальных матриксов при повреждении кожи делает их перспективными для широкого клинического применения для заживления ран с нарушениями кожной поверхности.

Цель исследования: оценка результатов имплантации ацеллюлярных и рецеллюляризированных дермальных матриксов на модели кожной раны свиньи.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на поросенке породы Ландрас с массой тела 25,5 кг. На спине животного при помощи дерматома была сформирована глубокая кожная рана — 15×5 см. Для закрытия раневой поверхности были использованы децеллюляризированные детергент-энзиматическим методом матриксы кожи свиньи с применением Тритона X100 и дезоксихолата натрия и матриксы, рецеллюляризированые дермальными фибробластами свиньи. Фибробласты выделяли ферментативным методом и культивировали до 2 пассажа. Для морфологической оценки результатов имплантации проводили гистологическое исследование биоптатов биоматериалов на 2, 5, 8, 16, 20 сутки эксперимента.

Результаты. После имплантации в децеллюляризированном матриксе и окружающих тканях развилась воспалительная реакция с преобладанием лимфомакрофагального инфильтрата с последующим образованием рубцовой ткани к 11 суткам. Исследование рецеллюляризированных фибробластами образцов матрикса показало, что на 2–5 сутки также развивалась воспалительная реакция, однако она происходила только в окружающих тканях и участках матрикса, граничащих с дном раны. При этом была отмечена периваскулярная пролиферация фибробластов с появлением дермального слоя, толщиной до 200 мкм. На 8 сутки под матриксом толщина новообразованного дермального слоя увеличилась до 1 мм. Обнаружено образование плоского неороговевающего эпителия толщиной до 5 слоев. Верхняя часть матрикса оставалась интактной, без признаков воспаления. На 16 сутки толщина новообразованной дермы достигла 2 мм, в ней выявлено большое количество новообразованных сосудов и пролиферирующих фибробластов. Число слоев эпидермиса достигло 15, в том числе появился роговой слой. На 20 сутки прогрессивно увеличилось количество новообразованных сосудов и очагов пролиферации фибробластов и кератиноцитов. Число слоев эпидермиса при этом достигло 25.

Заключение. Полученные результаты показали наличие репаративных изменений при закрытии раневой поверхности на модели кожной раны свиньи рецеллюляризированными фибробластами дермальными матриксами.

Работа выполнена в рамках комплексной НИР (рег. № АААА-А16-116042550089-5 от 25.04.2016).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТИМИДИНКИНАЗЫ ДЛЯ ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ СЕЛЕКЦИИ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Алексей Гавриилович Мензоров[1, 2], Константин Евгеньевич Орищенко[1], Мария Михайловна Гридина[1], Вениамин Семенович Фишман[1, 2], Олег Леонидович Серов[1, 2], Анна Александровна Кашеварова[3], Татьяна Владимировна Никитина[3], Игорь Николаевич Лебедев[3]

[1] *ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;*
[2] *Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия;*
[3] *НИИ медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия*

menzorov@bionet.nsc.ru

Применение дифференцированных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) в клеточной терапии потенциально опасно из-за риска формирования опухоли. Для элиминации клеток донора была предложена стратегия «суицидальной кассеты», содержащей «ген-самоубийцу» (suicide gene). В клетки донора вводится генетическая конструкция, содержащая тимидинкиназу (ТК) вируса герпеса, преобразующую ганцикловир в токсичный монофосфат. При действии ганцикловира клетки гибнут. Мы поставили задачу изучить влияние места встройки «суицидальной кассеты» на выживание ИПСК при обработке ганцикловиром in vitro.

Мы ввели в линию ИПСК iTAFdup22, имеющую dup3p26.3, затрагивающую ген *CNTN6* (Gridina et al., 2018), генетические конструкции, содержащие ТК под конститутивным промотором. Оказалось, что селекция ганцикловиром не всегда приводит к гибели всех клеток. При обработке пяти миллионов клеток мы наблюдали следующие результаты: в клонах iTAFdup22-308, iTAFdup22-347 и iTAFdup22-348 происходила ожидаемая гибель всех клеток. В клонах iTAFdup22-e5, iTAFdup22-320 и iTAFdup22-425 образовалось от 40 до более сотни субклонов, причем выборочный анализ 55 субклонов выявил потерю ДНК трансгена только в одном.

Есть три возможных механизма элиминации продукта гена ТК: 1) эпигенетическое замолкание (предполагается в клонах iTAFdup22-e5, iTAFdup22-320 и iTAFdup22-425); 2) микроделеция