

МСК ХОРИОНА ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Мария Александровна Шилина¹, Денис Николаевич Силачев², Наталья Алексеевна Пуговкина¹, Ирина Викторовна Кожухарова¹, Ольга Геннадьевна Люблинская¹, Николай Николаевич Никольский¹, Татьяна Михайловна Гринчук¹

¹ ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия;

² ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

shili-mariya@yandex.ru

Регенеративная медицина с использованием стволовых клеток (СК) человека получает все большее развитие с каждым годом. В своих исследованиях мы обратились к изучению клеток хориона человека. Нами было проанализировано 3 образца клеток, полученных из ФГБУ «Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Министерства Здравоохранения РФ. В системе *in vitro* все анализируемые клетки характеризовались профилем экспрессии поверхностных CD-маркеров и морфологией, типичной для клеток мезенхимального ряда. На 4–5 пассажах в логарифмической фазе роста регистрировалась заметная доля клеток в фазах синтеза ДНК и митоза, которая снижалась в последствии при уплотнении культуры. На 6–7 пассажах характер распределения по фазам клеточного цикла изменялся: наблюдалась низкая доля клеток в фазе синтеза ДНК, накопление клеток в фазе G₂/M и увеличение доли полиплоидных клеток, с количеством генетического материала > 2n. Оценка пролиферативной активности методами проточной цитометрии и построением кривых клеточного роста показали быстрое снижение пролиферативной способности всех культур по мере культивирования клеток, что является одним из основных недостатков данного объекта. Клетки хориона активно пролиферируют только 3–4 пассажа, а после 7 пассажа погибают. Такой короткий период активной жизни данных клеток не позволяет нарастить их в количестве, необходимом для использования в терапии. Кариологический анализ показал, что клетки хориона в культуре имеют околодиплоидный кариотип, склонный к поломкам хромосомного материала. Выявленная кариотипическая нестабильность клеток может быть объяснена стрессовым воздействием перевода клеток из системы *in vivo* в систему *in vitro*. Подводя итог настоящей работы можно сказать, что проанализированные нами клеточные линии хориона хотя по своим физиологическим характеристикам (морфологии, фенотипическому профилю) относятся к ряду мезенхимальных клеток, мало пригодны в качестве клеточного материала как в медицинских целях, так и в лабораторных исследованиях с длительными экспериментами. Все вышесказанное не умоляет работ по изучению физиологических и генетических характеристик МСК хориона т.к. эти данные могут быть полезны в области гинекологии и неонатологии, в связи с изучением причин неразвивающихся беременностей.

Работа выполнена в рамках и по тематике гранта РНФ № 19-14-00108.

ИЗМЕНЕНИЕ СТРОМАЛЬНОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ЛЕЙКОЗАМИ

Ирина Николаевна Шипунова, Наталия Арнольдовна Петинати, Нина Иосифовна Дризе, Екатерина Юрьевна Чельшева, Олег Александрович Шухов, Анна Григорьевна Туркина, Елена Николаевна Паровичникова, Валерий Григорьевич Савченко

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва, Россия

iranifontova@yandex.ru

Введение. Клетки стромального микроокружения (СМ) костного мозга (КМ) необходимы для нормального кроветворения, и они же вовлечены во взаимодействие с лейкозными стволовыми клетками (ЛСК).

Цель работы: выявить изменения в СМ больных на модели мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) в дебюте заболевания и после лечения.

Методы. МСК больных острым миелоидным (ОМЛ, N=32), острым лимфобластным (ОЛЛ, N=20) и хроническим миелоидным (ХМЛ, N=19) лейкозами были получены стандартным методом из КМ пациентов при проведении диагностических аспираций после информированного согласия. Экспрессию генов изучали с помощью ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. В дебюте ОМЛ, ОЛЛ и ХМЛ в МСК больных достоверно повышена экспрессия генов, регулирующих СКК и кроветворные клетки-предшественницы (*JAG1*, *LIF*, *IL6*). Общим для миелоидных лейкозов оказались повышение экспрессии генов, регулирующих пролиферацию стромальных клеток (*PDGFRA* и *FGFR1*), и гена-маркера жировой дифференцировки (*PPARG*). При острых лейкозах в МСК повышена экспрессия генов, участвующих в процессах воспаления и регуляции кроветворных и стромальных предшественников (*CSF1*, *IL1B*, *IL1BR1*), и снижена — гена-маркера хондрогенной дифференцировки (*SOX9*).

В ходе лечения при всех нозологиях экспрессия генов *LIF* и *IL6* осталась повышенной, а снизилась — гена *ICAM1*, осуществляющего адгезию кроветворных клеток. В МСК больных ОМЛ, которые для достижения ремиссии получают наиболее высокие дозы цитостатических препаратов, выявлено достоверное снижение экспрессии большинства исследованных генов. У больных ОЛЛ, лечение которых отличается непрерывностью и продолжительностью курсов в сочетании с более низкими дозами препаратов, экспрессия *IL1B* повышается, а снижается экспрессия только некоторых генов, отвечающих за регуляцию СКК (*SDF1*, *TGFB1*), а также генов *SOX9*, *FGFR1* и *FGFR2*. Лечение больных ХМЛ базируется на ингибиторах тирозиновых киназ в дозировке, рассчитанной на многолетнее применение, и наименее повреждает МСК. Было выявлено повышение экспрессии генов *TGFB1*, *SOX9*, *PDGFRA*, и снижение — гена *IL1B*.

Заключение. Лейкозные клетки адаптируют СМ к поддержанию ЛСК. При разных лейкозах наблюдаются одинаковые изменения в экспрессии генов в МСК. Лечение зависит от нозологии и в разной степени изменяет МСК. Изменения экспрессии *IL6*, который может действовать как провоспалительный и противовоспалительный цитокин, и *LIF*, повышающийся в ответ на развитие опухоли в организме, остаются общими для всех трех исследованных заболеваний.