

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ПОЛИЛАКТИДНЫХ СКАФФОЛДАХ

Каширова А.О.¹, Никонов П.О.², Нащекина Ю.А.²

1. Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия.
2. Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия.
k-alyona94@yandex.ru

Введение. Для культивирования клеток используют трехмерные полимерные конструкции - скаффолды, способствующие формированию тканеподобных структур, приближенных по своим свойствам к естественному состоянию клеток в тканях организма с наибольшей функциональной активностью.

Эффективность создаваемых конструкций зависит от свойств использованного материала, структуры, модификации поверхности, а также условий посадки, культивирования и направленной дифференцировки клеток.

Их поверхность может быть функционализирована за счет химического присоединения биомолекул, которые способствуют адгезии клеток к поверхности скаффолда. Модификация природными биоматериалами ведет к лучшему прикреплению, распластыванию, размножению клеток, а также способности кангиогенезу.

Цель работы. Модификация поверхности скаффолдов биологическими агентами улучшающими их биосовместимость; культивирование клеток на сформированных скаффолдах.

Для исследования использовали полилактидные скаффолды в виде пленок. Поверхность скаффолдов модифицировали аргинином. На скаффолдах культивировали МСК кролика в течение 5 суток. Сравнивали степень расплываемости мезенхимных стволовых клеток на приготовленных скаффолдах. Структуру цитоскелета анализировали с использованием конфокальной микроскопии.

Результаты. При обработке скаффолдов в водном и водно-спиртовом растворе аргинина показано, что сорбция аргинина зависит от времени обработки пленки, концентрации аргинина в растворе и содержания спирта в системе. При анализе структуры актинового цитоскелета установлены оптимальные условия модификации поверхности скаффолда аргинином. Наиболее расплываемые клетки обнаружены на образце пленки, которую обрабатывали в течение 10 минут в 1М растворе аргинина в воде.

Выводы. Культивирование мезенхимных стволовых клеток на сформированных полилактидных скаффолдах позволяет оценить эффективность модификации поверхности скаффолдов биологическими агентами.

Работа выполнена при поддержке РНФ № 14-50-00068.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОСОВМЕСТИМОСТИ БРУШИТОВОГО ЦЕМЕНТА НА ОСНОВЕ АЛЬФА-ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТА, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ

Кирсанова В.А.¹, Фадеева И.В.², Свиридова И.К.¹, Сергеева Н.С.¹, Ахмедова С.А.¹, Фомин А.С.², Рыжов А.П.², Евдокимов П.В.³, Путляев В.И.³, Кнотько А.В.³

1. Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена - филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия.
2. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук, г. Москва, Россия.
3. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», факультет наук о материалах, г. Москва, Россия.
prognoz.06@mai.ru

Для замещения костных дефектов в онкологии после удаления первичных и метастатических опухолей, в травматологии и ортопедии традиционно используются кальцийфосфатные(КФ) керамические материалы. Клиническое использование цементов, несмотря на их «привлекательность», в частности, для закрытия трещин или заполнения дефектов сложной геометрии, ограничивается их недостатками. Так, при затвердевании брушитовых цементов (БЦ) в зоне дефекта резко снижается рН из-за наличия кислотного компонента затворяющей жидкости, что сказывается на их цито- и биосовместимости. Кроме того, БЦ имеют недостаточную прочность и короткое время схватывания.

Цель работы - исследование цитосовместимости БЦ и композиционного БЦ (КБЦ), полученных по новым технологиям.

Материалы и методы. Исследованы БЦ состава брушит/гранулы карбонатгидроксиапатита и КБЦ, упрочнённый полилактидом (ПЛ) путем введения жидкого БЦ в ПЛ каркасы методом экструзии. Время схватывания БЦ и КБЦ -10-12 мин; кислотность в окружающей среде нормализуется в течение 1 часа после отвердевания; прочность на сжатие -15 и 35 МПа, соответственно. In vitro исследования образцов БЦ и КБЦ проводили на культуре иммортализованных фибробластов человека (ФЧ),

штамм 1608hTERT и остеосаркомы человека MG-63. На этапах культивирования (до 14 суток) оценивали динамику изменения клеточной популяции (МТТ-тест).

Результаты и обсуждение. Выявлено отсутствие цитотоксичности образцов БЦ и КБЦ и удовлетворительные матриксные свойства их поверхности. Через 7 суток величина пула жизнеспособных клеток (ПЖК) в лунках, содержащих БЦ и КБЦ, составила 90,6 и 85,3% для ФЧ и 74,1 и 70,9% для MG-63 по отношению к контролю, соответственно. К концу второй недели культивирования этот показатель для ФЧ составил 143,9 и 117,4%, для MG-63 -119,2 и 111,5%, соответственно. Микроскопия показала равномерное заселение клетками поверхности образцов БЦ и КБЦ. Полученные данные свидетельствуют о цитосовместимости разработанных образцов цементов и целесообразности проведения исследования их биосовместимости и остеозамещающих потенциалов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-офи №15-29-04871

ПУПОЧНЫЙ КАНАТИК - ИСТОЧНИК МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Кольцова А.М.¹, Зенин В.В.¹, Полянская Г.Г.¹

1. ФГБУН Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, Россия.
koltsova.am@mail.ru

Мезенхимные стволовые клетки человека (МСКч) являются перспективным материалом для применения в клеточной терапии. МСКч присутствуют в большинстве тканей, однако их получение в достаточном для работы количестве имеет ограничения. Это связано с инвазивностью методов их получения и с ограниченностью их пролиферативного потенциала. Поиск новых доступных источников МСКч - актуальная задача для исследователей, работающих в данной области клеточной биологии.

Одним из источников МСКч может быть Вартонов студень - слизистая соединительная ткань пупочного канатика. Его получение не требует оперативного вмешательства, и, учитывая размеры самой пуповины (от 50 до 70 см), может быть выделен в большом объеме. Кроме того, клетки, входящие в его состав являются неонатальными и должны обладать большим, по сравнению с клетками от взрослого донора, пролиферативным потенциалом.

Целью данного исследования было выделение клеток, входящих в состав Вартонова студня пупочного канатика человека, и их полная характеристика с позиции соответствия МСКч.

Материалы и методы. Из пупочного канатика вырезали ткань Вартонова студня, фрагментировали и помещали в чашку Петри с культуральной средой. Образующиеся вокруг фрагментов ткани зоны роста фибробластоподобных клеток изолировали и культивировали стандартным методом. В результате была получена новая неиммортилизованная фибробластоподобная линия с характерной для МСКч экспрессией поверхностных маркеров: CD44, CD73, CD90, CD105 и HLA-ABC и отсутствием экспрессии CD34, CD45 и HLA-DR. Была показана способность этих клеток направленно дифференцироваться в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях. Кроме того, иммунофлуоресцентный анализ выявил экспрессию маркеров, характерных для производных трех зародышевых листков-эктодермы (нестин), мезодермы (альфа-актинин) и энтодермы (альфафетопротейн), что может свидетельствовать о расширенном дифференцировочном потенциале данной клеточной популяции.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что новая клеточная линия имеет статус МСКч. Последующая работа будет направлена на определение основных ростовых характеристик данной линии, кардио-