

ОЦЕНКА ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ПУЛИРОВАННЫХ КУЛЬТУР МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ

Рында Е.Г., Антоневиц Н.Г., Гончаров А.Е.

*Государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной инженерии
Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь*

Введение. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) представляют значительный интерес для использования в качестве биомедицинского клеточного продукта (БМКП) благодаря их регенеративному потенциалу и иммуномодулирующей активности. Широко используемыми являются БМКП на основе аутологичных МСК пациента, однако, такое лечение может быть малоэффективным при некоторых заболеваниях вследствие aberrантного функционального состояния полученных клеток [1]. До сих пор является проблематичным быстрое производство достаточного количества клеточной биомассы для системного применения. Использование аллогенных культур МСК является многообещающим подходом для преодоления этих ограничений. Кроме того, объединение (пулирование) культур от разных доноров позволяет накопить клеточный материал и минимизировать изменения его биологических свойств [2]. Целью данного исследования была оценка пролиферативного потенциала культур МСК обонятельной выстилки (ОВ) для дальнейшего их пулирования и применения в качестве БМКП.

Материалы и методы исследования. Образцы ОВ были получены от 10 здоровых добровольцев. Первичные культуры МСК ОВ получали путем механической обработки тканевых фрагментов и культивировали на питательной среде DMEM / F12 + 10% FBS. На пассаже 3 (P3) МСК ОВ от 3 доноров были объединены в равной пропорции (1:1:1) и выращивались вместе до P4-P5. Перед пулированием каждая культура была окрашена красителями CellBrite. Индекс пролиферации (ИП) моно- и пулМСК ОВ рассчитывали в течение P3-P5, в смешанных культурах рассчитывали процент окрашенных клеток.

Результаты. Все 10 образцов МСК ОВ имели типичный фенотип CD73⁺, CD90⁺, CD105⁺, CD31⁻, CD45⁻, который сохранялся после пулирования. Было установлено, что 7 образцов имели более высокий показатель ИП (MSC^{hi}) по сравнению с 3 другими культурами (MSC^{lo}) (p<0.05). Клетки были объединены в 2 группы в зависимости от установленного ИП: группа 1: 1^{hi}:1^{hi}:1^{hi} (n = 2) и группа 2: 1^{hi}:1^{lo}:1^{lo} (n = 2). Обе культуры пулМСК группы 1 не имели между собой различий ИП, но их ИП был выше, чем у пулМСК группы 2 (p<0.05). В 1 группах равная пропорция клеток каждой культуры сохранялась на P5, в группе 2 наблюдали преобладание MSC^{hi} (1^{hi}: 0.5^{lo}: 0.4^{lo}). Пулированные культуры МСК ОВ с высоким ИП после прохождения контроля качества подвергали криоконсервации для длительного хранения (10 × 10⁷ клеток / культура, P4).

Выводы. Был разработан метод пулирования МСК ОВ: отбор культур с высоким ИП, объединение моно-МСК в P3 с последующим накоплением биомассы пулМСК до P4 – P5. Смешивание МСК с разными ИП не привело к стимуляции общей пролиферативной активности клеток в сокультуре. Культуры клеток МСК ОВ, подвергшиеся криоконсервации, в дальнейшем могут быть использованы для проведения клеточной иммунотерапии.

Библиографические ссылки

1. Nie Y., Lau Cs., Lie A. et al. Defective phenotype of mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus // *Lupus*. 2010. Vol. 19. Issue 7, P. 850-859.
2. Widholz B. et al. Pooling of Patient-Derived Mesenchymal Stromal Cells Reduces Inter-Individual Confounder-Associated Variation without Negative Impact on Cell Viability, Proliferation and Osteogenic Differentiation // *Cells*. 2019. Vol. 8, №. 6. P. 633.