

ОБ ИНДУЦИРОВАННОЙ ГЕПАТОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА КРЫС

Горохова Н.И., Полешко А.Г., Пинчук С.В., Волотовский И.Д.

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
Минск, Беларусь*

На данный момент заболевания печени различной этиологии широко распространены и являются одной из главных причин смертности населения. Существующие методы их лечения не всегда эффективны. В связи с этим, особый интерес представляет изучение возможности восстановления функции печени с помощью клеточной терапии, основанной на использовании мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Учитывая, что МСК поддаются индуцированной дифференцировке *in vitro*, в том числе в гепатоцитарном направлении, представляется актуальным изучение процесса их направленной дифференцировки в культуре для получения предшественников гепатоцитов.

Целью данной работы стала адаптация протокола направленной дифференцировки клеток в гепатоцитарном направлении для получения предшественников гепатоцитов из МСК костного мозга (КМ) крыс *in vitro*.

МСК выделяли из КМ большеберцовой или бедренной костей белых беспородных крыс 3-х месячного возраста, культивировали в стандартных условиях (5 % CO₂, 95% атмосферного воздуха) до 2 пассажа в среде α MEM с 10 % фетальной бычьей сывороткой. Природу полученной культуры клеток оценивали по их иммунофенотипу. Для направленной гепатогенной дифференцировки МСК использовали клетки 3-го пассажа с фенотипом CD29⁺/CD44⁺/CD90⁺/CD34⁻/CD45⁻, при достижении ими конфлюентности монослоя в 80%. В культуру клеток вносили следующие индукторы дифференцировки: FGF4 (10 нг/мл), HGF (20 нг/мл), онкостатин М (10 нг/мл) и дексаметазон (1 мкМ). Эффективность проведенной *in vitro* дифференцировки, оценивали по экспрессии полученными клетками основных маркеров предшественников гепатоцитов цитокератина 18 (ЦК-18) [1] и белка плазмы α -фетопротейна (ФПр) [2] методом проточной цитофлуориметрии.

В результате было выявлено, что клетки, которые культивировали с добавлением в среду роста индукторов дифференцировки в указанном выше составе и концентрациях, экспрессировали ФПр и ЦК-18 в 1,3 и 13 раз выше, соответственно, по сравнению с контрольными МСК, выращенными без добавления компонентов индукционной среды. Полученные данные свидетельствуют, что подобранные условия направленной дифференцировки *in vitro* являются оптимальными для индукции процесса дифференцировки в гепатогенном направлении в МСК КМ крыс. Данная методика будет использоваться для изучения механизмов эпигенетического контроля МСК, индуцированных к дифференцировке в гепатогенном направлении.

Библиографические ссылки

1. Chougule P., Sumitran-Holgersso. S. Cytokeratins of the Liver and Intestine Epithelial Cells During Development and Disease // Cytokeratins: Tools in Oncology. 2012. Vol. 1. P. 15–32.
2. Kuijk E. W., Rasmussen S. et al. Generation and characterization of rat liver stem cell lines and their engraftment in a rat model of liver failure // J. Scientific Reports. 2016. Vol. 6. P.1–11.