

ВЛИЯНИЕ БИОДЕГРАДИРУЕМОГО НОСИТЕЛЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ МСК ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА

Полешко А.Г., Пинчук С.В., Тишук О.И., Мисюкевич А.Ю.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Несмотря на то, что стволовые клетки обнаруживаются в большинстве тканей человека, не все из них могут использоваться как источник клеток для клеточной терапии. Показано, что выделенные из ткани эндометрия изолированные обогащенные культуры прогениторных клеток представлены популяциями эпителиальных, эндотелиальных и мезенхимальных стромальных стволовых клеток. При этом мезенхимальные стромальные стволовые клетки (эМСК), обеспечивая восстановление стромы эндометрия *in vivo*, пролиферативно активны, жизнеспособны и демонстрируют мультипотентность *in vitro* [1]. Это, наряду с малой инвазивностью методов получения биоптата эндометрия, делает культивируемые эМСК привлекательными для приготовления на их основе биомедицинских клеточных продуктов (БМКП), в том числе с использованием биodeградируемых матриц. Целью данной работы стало оценить пролиферативный потенциал культивируемых эМСК, а также их жизнеспособность без и после инкубации с гиалуроновой кислотой, которая, как известно, обладает регенеративной, антиоксидантной, противовоспалительной активностью, участвует в передаче сигналов, овуляции, оплодотворении, морфогенезе плаценты [2].

эМСК получали из биоптата патологически неизмененного эндометрия секреторной фазы методом ферментативной обработки и накапливали в пассажах (37 °C, 5% CO₂, 100% влажность, ростовая среда DMEM/F12 с 10% фетальной бычьей сыворотки, 2 мМ глутамин, 1% смеси антибиотиков-антимикотиков) по стандартному протоколу (полная замена ростовой среды каждые 3 сут, по достижении 80% конфлюэнтного монослоя пассирование с использованием 0,25% раствора трипсин-ЭДТА 5·10³ кл/см²). Пролиферативную активность приготовленных культур МСК (n = 3), как основной показатель функциональной активности клеток, оценивали на 2-3 пассаже по таким параметрам, как число клеточных удвоений, среднее время удвоения популяции, число клеточных делений за единицу времени, а также по состоянию клеточного цикла и экспрессии белка Ki67. Установлено, что культура эМСК достигала конфлюэнтности за 120±5 ч. При этом популяция МСК за период времени достижения конфлюэнтного монослоя удваивалась в среднем 3 раза, т.е. время удвоения популяции составляло 57,5±3 ч. Высокий пролиферативный потенциал эМСК подтверждается их распределением по клеточному циклу: 12,5% клеток в популяции находится в S-фазе, а в G2/M – 15,5%; и экспрессией маркера пролиферации Ki67, наработка которого выявлена в среднем у 40±5% клеток. Полученные данные по пролиферативному потенциалу и активности эМСК *in vitro*, которые достоверно выше, чем у МСК из жировой ткани при одинаковой плотности посева, объясняются необходимостью обеспечивать циклическое обновление эндометрия *in vivo*. Кроме того, при исследовании влияния натриевой соли гиалуроновой кислоты как потенциального биodeградируемого носителя эМСК в составе БМКП на жизнеспособность клеток, показано, что их инкубация (4 ч, 37 °C) в растворе гиалуроната натрия (5 мг/мл) способствует сохранению жизнеспособности культивируемых эМСК.

Библиографические ссылки

1. Mutlu L., Hufnagel D., Taylor H.S. The Endometrium as a Source of Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine // biology of reproduction. 2015. Vol. 92, № 6. Art. 138.
2. Соколова А.В., Аполихина И.А. Гиалуроновая кислота: перспективы использования в гинекологии // Гинекология. 2021. Т. 20, №8. С. 36–40.