

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Учреждение образования

«Международный государственный экологический институт

имени А. Д. Сахарова»

Белорусского государственного университета

ФАКУЛЬТЕТ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

КАФЕДРА ИММУНОЛОГИИ

Дубровченко Алина Викторовна

**ВЛИЯНИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ
ГЕПАТОЦИТОВ *IN VITRO***

Аннотация к дипломной работе

кафедры иммунологии

Научный руководитель:
старший преподаватель
Лобай Марина Валерьевна

МИНСК 2023

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: Влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на жизнеспособность гепатоцитов *in vitro*: 47 страниц, 13 рисунков, 3 таблицы, 51 источник.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, жировая ткань, первичная культура, печень, гепатоциты, ко-культивирование, морфология, жизнеспособность.

Цель работы: оценить влияние ММСК жировой ткани на жизнеспособность, морфологию и адгезивные свойства гепатоцитов при кокультивировании в стандартных условиях.

Методы исследования: метод экспериментального моделирования, культуральный, микроскопический метод, метод проточной цитометрии, статистические методы.

Полученные результаты и их новизна. В результате проведенных исследований установлено, что ММСК ЖТ, начиная с 1-го пассажа представляют гомогенные культуры клеток, характеризующихся веретенновидной фибробластоподобной морфологией с четко различимым ядром, ядрышками и цитоплазматической перинуклеарной зернистостью, что может указывать на выраженную секреторную активность этих клеток. Клетки также обладали способностью к колониеобразованию и высокой пролиферативной активностью, что приводило к формированию к 18 – 22 дням культивирования монослоя с 90 – 100% конфлюэнтностью. При культивировании изолированных гепатоцитов в стандартных условиях формируются сфероидные клеточные культуры, напоминающие организацию печени при регенерации. Клетки характеризуются высокой жизнеспособностью и хемилюминесцентной активностью, статистически значимо снижающимися по мере их культивирования.

При совместном культивировании гепатоцитов с мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками жировой ткани наблюдается формирование межклеточных контактов, а также повышение жизнеспособности гепатоцитов на 15% и хемилюминесцентной активности на 30% по сравнению с монокультурами сфероидов. Гепатоциты достаточно прочно адгезируются к монослойным культурам клеток, используя ММСК, тогда как в одиночных культурах гепатоциты не проявляли адгезивной способности к лабораторному пластику. Таким образом, ММСК способны оказывать не только нутритивную поддержку гепатоцитов *in vitro*, но и обеспечивают формирование многочисленных межклеточных контактов.

Степень использования: результаты работы могут использоваться при проведении практических и лабораторных занятий по курсу «Стволовая клетка».

Область применения: экспериментальная и клиническая иммунология, регенеративная медицина, клеточная биотехнология.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: уплыў мультіпотэнтных мезенхімальных стромальных клетак на жыццяздольнасць гепатацытаў *in vitro*: 47 старонак, 13 малюнкаў, 3 табліц, 51 крыніца.

Ключавыя словы: мультіпотэнтныя мезенхімальныя ствалавыя клеткі, тлушчавая тканіна, першасная культура, Печань, гепатацытаў, кокультываванне, марфалогія, жыццяздольнасць.

Мэта работы: ацэнка ўплыву ММСК тлушчавай тканіны на жыццяздольнасць, марфалогію і адгезіўныя ўласцівасці гепатацытаў пры кокультывіраванні ў стандартных умовах.

Метады даследавання: метады эксперыментальнага мадэлявання, культуральны, мікраскапічны метады, метады пратоchnай цытометрыі, статыстычныя метады.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. У выніку праведзеных даследаванняў устаноўлена, што ММСК ЖТ, пачынаючы з 1-га пасажа ўяўляюць гамагенную культуру клетак, якія характарызуюцца верацёнападобнай фібробластападобнай марфалогіяй з выразна адрозным ядром, ядзеркамі і цытаплазматычнай перинуклеарнай зярністасцю, што можа паказваць на выяўленую сакраторную актыўнасць. Клеткі таксама валодалі здольнасцю да калоніеўтварэння і высокай праліфератывнай актыўнасцю, што прыводзіла да фарміравання да 18 - 22 днях культывавання монослоя з 90 -100% канфлюэнтнасцю. Метады, заснаваны на механічнай дэагрэгацыі тканіны печані, апрацоўцы эксплантаў 0,01% раствораў калагеназы IV тыпу з наступным фільтраваннем атрыманай завісі (дыяметр часу 100 мкм) і кароткачасовым нізкахуткавым цэнтрыфугаваннем (5 - 8 мін, 50 g) цэласных гепатацытаў. Ізаляваныя гепатацытаў валодаюць высокай жыццяздольнасцю і хемілюмінесцэнтнай актыўнасцю, статыстычна значна зніжаюцца пры культываванні клетак. Пры сумесным культываванні гепатацытаў з мультыпатэнтнымі мезенхімальнымі стромальнымі клеткамі назіраецца фарміраванне шматлікіх міжклеткавых кантактаў, а таксама павышэнне жыццяздольнасці гепатацытаў на 15% і хемілюмінесцэнтнай актыўнасці на 30% у параўнанні з монакультурамі сфероідам. Гепатацытаў досыць трывала адгезаваць да монослойным культурам клетак, выкарыстоўваючы ММСК, тады як у адзіночных культурах гепатацытаў не выяўлялі адгезіўнай здольнасці да лабараторнага пластыка. Такім чынам, ММСК здольныя аказваць не толькі нутрытыўнай падтрымку гепатацытаў *in vitro*, але і забяспечваюць фарміраванне шматлікіх міжклеткавых кантактаў.

Ступень выкарыстання: вынікі працы могуць выкарыстоўвацца пры правядзенні практычных і лабараторных заняткаў па курсе «Ствалавая клетка».

Вобласць ужывання: эксперыментальная і клінічная імуналогія, рэгенератыўная медыцына, клеткавая біятэхналогія.