

Секретом, продуцируемый МСК жировой ткани в составе клеточных пластов, способствует выживаемости эндотелия и стабилизации образованных сосудистых структур

Научный руководитель – Макаревич Павел Игоревич

Александровичкина Н.А.¹, Макаревич П.И.², Нимирицкий П.П.³, Днепровский В.Р.⁴

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: n.alexandrushkina@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: pmakarevich@mc.msu.ru*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: nimiritsky@gmail.com*; 4 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия, *E-mail: dneprovsky.vladimir@mail.ru*

Успешное применение мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) для восстановления поврежденных тканей показало высокую эффективность в лечении широкого спектра заболеваний. Клеточные пласты (КП) - многослойные конструкции из клеток и наработанного ими внеклеточного матрикса, стали одним из способов решения проблемы гибели клеток при инъекции и их низкой выживаемости в ткани. Долгое время КП воспринимались как технология доставки и механизмы действия МСК в составе таких конструкций считались, в целом, аналогичными механизмам действия МСК в суспензии.

Ранее в эксперименте нами была показана эффективность применения МСК в составе КП для лечения глубоких дефектов кожи [1], хронических ран [2], ишемии задней конечности [3]. На модели пролежневого дефекта кожи было показано, что трансплантация КП приводит к активному образованию грануляционной ткани и уменьшению ее васкуляризации. Это позволило предположить, что МСК в составе КП оказывают действие на процессы регенерации путем регуляции ангиогенных процессов в поврежденной ткани.

Для экспериментов использовали иммортализованную линию МСК жировой ткани человека (ASC52telo, АТСС, США). Сборку КП осуществляли путем длительного (12-14 дней) культивирования МСК со сменой среды каждые 2 дня. Для оценки эффектов секретуемых МСК факторов получали кондиционированную среду от МСК в составе КП и монослоя путем культивирования клеток в среде без сыворотки в течение 3-7 дней. Данные мультиплексного ИФА показали, что МСК в составе КП повышают продукцию ангиогенных факторов, при этом содержание отдельных факторов изменяется в несколько раз. Так, продукция ангиопоэтина-2 изменялась наиболее сильно (5,1x), PDGF-BB (критического фактора для созревания сосудов) возросла в 2,45x по сравнению с МСК в монослое, тогда как изменение продукции мощного ангиогенного фактора VEGF165 не достигало статистической значимости.

Стимуляцию ангиогенеза оценивали по образованию клетками эндотелия (HUVES) капилляроподобных структур (tube assay) на покрытии из белков внеклеточного матрикса. Оба секрета МСК (монослой и КП) стимулировали формирование сосудоподобных структур, однако по сравнению с секретом МСК в монослое секретом МСК в составе КП обладал сниженным ангиогенным потенциалом (в 1,2 раза меньше образованных структур по сравнению с монослоем), несмотря на повышенную продукцию ряда факторов, для которых описана проангиогенная активность. Было отмечено, что секретом МСК в составе КП способствует более длительному сохранению капилляроподобных структур,

чем секретом монослоя МСК (через 36 часов после начала эксперимента при использовании секрета МСК в составе КП сохраняется более 60% сосудоподобных структур по сравнению с 50% при использовании секрета от монослоя).

Таким образом, одним из возможных механизмов реализации терапевтического действия МСК в составе КП может являться сдвиг профиля секреции МСК в сторону «стабилизирующего» фенотипа, способствующего не только активации ангиогенеза, но поддержанию и выживаемости образованных в поврежденной ткани сосудистых структур.

Исследование поддержано государственным заданием МГУ имени М.В. Ломоносова

Источники и литература

- 1) Aleksandrushkina N.A., Danilova N.V., Grigorieva O.A. et al. Cell sheets of mesenchymal stromal cells effectively stimulate healing of deep soft tissue defects // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2019. Vol. 167. no. 1. P. 159–163
- 2) Alexandrushkina N.A., Nimiritsky P.P., Eremichev R.Yu. et al. Cell sheets from adipose tissue msc induce healing of pressure ulcer and prevent fibrosis via trigger effects on granulation tissue growth and vascularization // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21, no. 15. P. 5567.
- 3) Макаревич П.И., Болдырева М.А., Дергилёв К.В. и др. Трансплантация клеточных пластов из мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани эффективно индуцирует ангиогенез в ишемизированных скелетных мышцах // Гены и клетки. 2015. Т. 10, No. 3. С. 68–77.