

Изучение биораспределения препарата на основе секрета МСК в нише сперматогониальной стволовой клетки

Научный руководитель – Ефименко Анастасия Юрьевна

Монакова А.О.¹, Сагарадзе Г.Д.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: monakova-anya@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: monakova-anya@mail.ru*

Терапия идиопатического мужского бесплодия является неудовлетворённой медицинской потребностью, поскольку отсутствуют эффективные способы лечения данного заболевания. В доклинических исследованиях нами было показано, что мезенхимные стромальные клетки (МСК) способствуют восстановлению ниши сперматогониальных стволовых клеток (ССК) в основном за счет набора паракринных факторов (секрета). Таким образом, мы рассматриваем секрет МСК как перспективную субстанцию для лечения мужского бесплодия в клинической практике. Однако переход в клинические исследования затруднён из-за отсутствия стандартизованных методов оценки таких показателей качества как специфическая активность. Для биологических препаратов специфическая активность должна отражать механизмы действия субстанции. В нашей лаборатории *in vivo* показали, что введение секрета сдерживает пролиферацию клеток Лейдига и увеличивает количество сперматозоидов первого и второго порядка. Однако мы решили выяснить, где локализуется первичная мишень секрета МСК, чтобы её использовать для разработки модели специфической активности. Для этого мы изучили биораспределение препарата на основе секрета МСК в яичке при локальном введении в норме и при повреждении.

Химиотерапевтическое повреждение сперматогенеза моделировалось введением доксорубина внутривенно в дозе 1,0 мг/кг с периодичностью 1 раз в 2 дня до достижения суммарной дозы 10 мг/кг. Для оценки биораспределения препарата вместо секрета МСК в качестве белковой субстанции вводился зелёный флуоресцентный белок GFP, поскольку секрет МСК сложно визуализировать. Таким образом, мышам после терапии доксорубином в одно яичко под белочную оболочку был введён коллаген, во второе яичко - коллаген с зелёным флуоресцентным белком GFP. Другой мышам, получившей доксорубин, в яичко мы ввели среду DMEM с GFP. Интактной мышам в одно яичко мы сделали инъекцию коллагена с GFP, со вторым яичком не проводили манипуляций. Из яичек животных после заморозки в жидком азоте были сделаны гистологические срезы.

Было показано, что в норме введённый с коллагеном GFP распределяется преимущественно в интерстициальном пространстве и не обнаруживается внутри канальцев. В модели химиотерапевтического повреждения наблюдается похожая картина биораспределения. Коллаген обладает аутофлуоресценцией и наблюдается в интерстиции, однако интенсивность свечения меньше, чем с GFP. Таким образом, секрет МСК при введении в яичко попадает преимущественно в интерстициальное пространство, большую часть которого составляют клетки Лейдига. Соответственно, клетки Лейдига могут являться основной мишенью действия секрета МСК и применяться в модели оценки специфической активности *in vitro*.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова.