

Выбор среды культивирования для производства препаратов на основе секретома мезенхимных стромальных клеток для регенеративной медицины.

Научный руководитель – Ефименко Анастасия Юрьевна

Бирюкова Виктория Николаевна

E-mail: vbiryukova2000@gmail.com

Продолжительное время мезенхимные стромальные клетки (МСК) остаются востребованным инструментом различных подходов регенеративной медицины. Данные, свидетельствующие о том, что эффекты МСК реализуются через продукцию биологически активных факторов в составе секретома, открывают новые перспективы для бесклеточной терапии [1]. Известно, что свойства МСК, а также их секреторная активность могут изменяться в зависимости от условий культивирования, что осложняет контроль эффективности конечного продукта [2]. Ключевой шаг для решения этой проблемы - подбор среды для культивирования этих клеток, позволяющей поддерживать их рост и функциональные свойства для получения секретома стабильного и воспроизводимого состава.

Целью работы было провести сравнительный анализ четырех сред роста для культивирования МСК с целью выбора среды, обеспечивающей наиболее благоприятные условия для поддержания свойств этих клеток.

МСК выделяли из жировой ткани пациентов и культивировали в 3 средах различного состава с добавлением фетальной бычьей сыворотки – HiMesoXL (HiMEDIA), DMEM и MEM Alpha (Gibco), а также в среде с заменителем сыворотки Advance STEM (HyClone). Для оценки эффективности выделения МСК через 24-48 часов оценивали количество и морфологию выделенных клеток. На 2 пассаже анализировали влияние сред для культивирования на пролиферативные свойства МСК, иммунофенотип и потенциал направленной дифференцировки в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях.

Была обнаружена значительная гетерогенность исследуемых параметров при оценке МСК, полученных от разных доноров. Наибольшее число клеток было выделено при использовании сред культивирования DMEM ($95,33 \pm 22,12$) и MEM Alpha ($94,67 \pm 10,79$), наименьшее – Advance STEM ($79 \pm 20,07$). Наиболее однородной и фибробластоподобной морфологией обладали популяции МСК, культивировавшиеся в средах DMEM и Advance STEM. МСК, культивировавшиеся в каждой из тестируемых сред, были способны к индуцированной дифференцировке в трех направлениях, наиболее активная дифференцировка была показана для клеток, культивировавшихся в среде HiMesoXL. Иммунофенотип клеток, культивировавшихся во всех средах, соответствовал критериям Международного общества клеточной терапии, применяемым для определения МСК (>95% популяции МСК экспрессировали поверхностные маркеры CD105, CD73 и CD90 и не экспрессировали маркеры гемопоэтических стволовых клеток и эндотелиальных клеток). Было отмечено значительное влияние среды культивирования на кинетику роста МСК: наибольшей пролиферативной активностью обладали клетки, культивировавшиеся в среде aMEM.

Таким образом, мы подтвердили, что среда для культивирования может оказывать существенное влияние на морфологические характеристики, иммунофенотип, потенциал направленной дифференцировки и активность пролиферации МСК. Определенными преимуществами для выделения и быстрого наращивания МСК обладает среда культивирования aMEM, а для индукции специфичных дифференцировок - HiMesoXL.

Исследование выполнено при поддержке Государственного задания МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова.

Источники и литература

- 1) Moghadasi, Soudeh et al. "A paradigm shift in cell-free approach: the emerging role of MSCs-derived exosomes in regenerative medicine." *Journal of translational medicine* vol. 19,1 302. 12 Jul. 2021, doi:10.1186/s12967-021-02980-6
- 2) Vizoso, Francisco J et al. "Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine." *International journal of molecular sciences* vol. 18,9 1852. 25 Aug. 2017, doi:10.3390/ijms18091852