

Влияние концентрации ДМСО в среде для криоконсервации на выживаемость, пролиферативный потенциал и функциональные характеристики мезенхимных стволовых клеток

Научный руководитель – Семина Екатерина Владимировна

Klimovich Polina Sergeevna

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: lex2050@mail.ru

Мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (МСК) - популяция низкодифференцированных клеток, обладающих высоким пролиферативным и регенеративным потенциалом. Малая часть МСК является стволовыми клетками, а более дифференцированные клоны могут быть предшественниками эндотелиальных, хрящевых, мышечных тканей [2]. МСК могут быть культивированы *in vitro* и использованы в терапевтических целях для стимуляции ангио-, остео-, нейро- и дерматогенеза. Многие стратегии лечения подразумевают многократное введение МСК, поэтому требуется их амплификация. Необходимое количество клеток не всегда удастся выделить из ткани пациента, поэтому необходимо использование аллогенных продуктов из банков клеток.

Для сохранения клеток используется криоконсервация. При заморозке клеток образуются кристаллы льда, повреждающие мембраны и вызывающие обезвоживание клеток. В целях предотвращения этого действия используют криопротекторы. Наиболее часто используемый криопротектор - 10% раствор диметилсульфоксида (ДМСО), однако накапливаются данные о его высокой токсичности [3]. Таким образом оптимизация состава криосред с целью сохранения пролиферативной и функциональной активности МСК является актуальной задачей.

В ходе исследования, были выделены и культивированы МСК из жировой ткани (МСК-ЖТ) 5 доноров после получения информированного согласия. Клетки криоконсервировали в человеческой сыворотке с содержанием ДМСО равной 2, 5 и 10 %, клетки, не подвергавшиеся криозаморозке использовали в качестве контроля. После разморозки клетки рекультивировали и сравнивали пролиферативную активность, выживаемость и оценивали секретом клеток.

Пролиферативная активность и выживаемость контрольных МСК-ЖТ и клеток, прошедших этап криозаморозки в 5 % и 10% ДМСО, через 24 и 72 часа рекультивирования статистически не отличались, в то время, как клетки, криоконсервированные в 2% ДМСО в 3 из 5 случаев не удалось рекультивировать. При оценке секретомы оказалось, что секреция VEGF, HGF подавляется после криоконсервации, однако секреция факторов статистически значимо выше в группе 5 % ДМСО, чем в 10 %. Секреция Ang-1, BDNF и GDNF после криоконсервации в 5 % ДМСО остается на уровне контроля, однако у клеток из группы 10% ДМСО секреция данных факторов была снижена. Таким образом можно сделать вывод о целесообразности снижения концентрации криопротектора до 5 %.

Источники и литература

- 1) 1. Russell K.C., Phinney D.G., Lacey M.R. et al. In vitro high-capacity assay to quantify the clonal heterogeneity in trilineage potential of mesenchymal stem cells reveals a complex hierarchy of lineage commitment // Stem Cells. 2010 №28(4), p. 788-798.

- 2) 2. Phinney DG. Functional heterogeneity of mesenchymal stem cells: implications for cell therapy // J Cell Biochem. 2012 №113(9), p. 2806-2812.
- 3) 3. Wang C., Xiao R., Cao Y.L. et al. Evaluation of human platelet lysate and dimethyl sulfoxide as cryoprotectants for the cryopreservation of human adipose-derived stem cells// Biochem Biophys Res Commun. 2017 №491(1), p. 198-203