

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ВЫЯВЛЕНИЕ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ, МОДУЛИРУЮЩИХ ПРОЦЕССЫ РЕГЕНЕРАЦИИ.

Руководитель темы:

Руководитель группы клеточной биологии
института молекулярной биологии и
генетики, к. б. н. Р. И. Дмитриева

Исполнители темы:

Старший научный сотрудник группы
клеточной биологии института молекулярной
биологии и генетики, к. б. н. А. В. Карпушев

Основной целью проекта являлось исследование возможной роли стволовых клеток различного происхождения в механизмах регенерации тканей и выявление сигнальных путей, модулирующих эти процессы. Нас интересовали сигнальные пути, которые могли бы модулировать процессы регенерации сердечно-сосудистой системы, особенно при хронической сердечной недостаточности (ХСН).

Исследования проводились с использованием клеточных *in vitro* моделей на основе первичных клеточных культур, полученных из разных тканей здоровых доноров и пациентов с ХСН, в частности использовались резидентные стромальные и сателлитные клетки скелетной мускулатуры человека, мультипотентные мезенхимные стромальные клетки жировой ткани (ЖТ-ММСК) и костного мозга (КМ-ММСК). В ряде экспериментов также использовалась клеточная линия мышечных миобластов C2C12.

В ходе выполнения проекта были получены следующие результаты:

(А) Были апробированы экспериментальные модели, позволяющие исследовать молекулярные механизмы регенерации и дегенерации мышечной ткани *in vitro* с использованием резидентных стромальных и сателлитных клеток скелетной мускулатуры мышцы. Была показана важность межклеточных взаимодействий в активации и регуляции механизмов регенерации и развития мышечной ткани, также была показана роль активации PPARg/Pgc1a комплекса в стимуляции миогенной дифференцировки, были получены экспериментальные доказательства перспективности использования наших клеточных моделей для исследования ответа мышечной ткани на молекулярном и клеточном уровнях на различные физиологические и фармакологические вмешательства, а также для моделирования *in vitro* патологий, которые сопровождаются нарушениями регенерации скелетной мускулатуры;

(Б) Было показано, что культивирование МСК в условиях умеренной гипоксии при низкой плотности посева способствует повышению эффективности экспансии клеточного образца *in vitro*: существенно возрастает время поддержания высокого уровня пролиферативной активности (число пассажей) при сохранении функциональных свойств МСК. Мы показали что эти эффекты могут быть обусловлены комбинацией активации следующих механизмов: в культуре снижается доля клеток с фенотипом CD146+/SMA α +, характерным для миофибробластов, а также происходит активация TGF β сигнального пути;

(В) Было показано, что в МСК пациентов с сердечной недостаточностью активированы гены, отвечающие за различные этапы репарации пораженной ткани: воспалительный, пролиферативный и этап ремоделирования. При этом такие сопутствующие заболевания, как диабет второго типа и ожирение модулируют профиль активацию.

Таким образом, в ходе выполнения проекта были созданы экспериментальные модели для исследований, направленных на поиск путей стимуляции регенеративного потенциала стволовых клеток разного происхождения *in vitro*. Было показано влияние индивидуальных особенностей

донора на функциональные свойства стволовых клеток и предложены методы экспансии, которые позволяют свести к минимуму это влияние.

Итоги проведенного исследования

В ходе выполнения данной части работы мы показали, что: (а) культивирование МСК в условиях умеренной гипоксии (5% O₂) не только способствует длительному поддержанию высокого уровня пролиферативной активности, но и способствует поддержанию/сохранению функциональных свойств МСК; (б) в МСК пациентов с сердечной недостаточностью активированы гены, отвечающие за различные этапы репарации пораженной ткани: воспалительный, пролиферативный и этап ремоделирования. При этом сопутствующие заболевания модулируют профиль активации; (в) эти эффекты могут быть обусловлены комбинацией активации следующих механизмов: в культуре снижается доля клеток с фенотипом CD146+/SMA α +, характерным для миофибробластов, а также происходит активация TGF β сигнального пути. (г) созданы предпосылки для выбора потенциальных мишеней исследования молекулярных механизмов регенерации, роли стволовых клеток в модуляции этих процессов, влиянии индивидуальных особенностей потенциальных доноров стволовых клеток на их регенеративный потенциал, а также для поиска путей направленной стимуляции регенеративного потенциала стволовых клеток *in vitro*.

В ходе выполнения работы поставленные задачи были выполнены, по результатам исследования опубликовано пять статей:

1. Dmitrieva RI, Minullina IR, Bilibina AA, Tarasova OV, Anisimov SV, Zaritskey AY. Bone marrow- and subcutaneous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: differences and similarities. *Cell Cycle*. 2012;11(2):377-83.
2. Р.И. Дмитриева, М.А. Клюкина, И.Р. Минуллина, С.В. Анисимов, А.Ю. Зарицкий. Выбор стратегии экспансии мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга, полученных от доноров с сердечной недостаточностью и коморбидностями. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2013. т.8. №1. с.36-42
3. Дмитриева Р.И., Клюкина М.А., Козлова С.Н., Зарицкий А.Ю. Роль гипоксии в поддержании пролиферативной активности мультипотентных мезенхимных стволовых клеток костного мозга, полученных от пациентов с сердечной недостаточностью и коморбидностями. *Бюллетень федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова*. 2013, №6, стр. 83-87.
4. Смолина Н.А., Давыдова А.Я., Щукина И.А., Карпушев А.В., Малашичева А.Б., Дмитриева Р.И., Костарева А.А. Сравнительная оценка методов получения функционально активных дифференцированных мышечных клеток. *Цитология*, 2014, Том 56, №4, с. 291-299
5. А.Я. Давыдова, Н.А. Смолина, А.А. Костарева, Р.И. Дмитриева. Разработка экспериментальных клеточных моделей исследования механизмов регенерации и дегенерации мышечной ткани *in vitro*. *Вестник Санкт Петербургского Университета*. 2014, Сер.3, выпуск 4, стр. 108-120.