РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СТВОЛОВЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ВОЛОСЯНОГО ФОЛЛИКУЛА

Квачева З.Б. 1 , Василевич И.Б. 1 , Полешко А.Г. 1 , Пинчук С.В. 1 , Музыченко А.П. 2 , Кумова И.В. 2

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь ²УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

irina-vasilevich@yandex.ru

Создание технологии наращивания клеток волосяного фолликула (ВФ) в культуре имеет большие перспективы в регенеративной медицине для лечения алопеций, проведения фундаментальных и других исследований. Основными клеточными популяциями ВФ являются мезенхимальные стволовые клетки (МСК) дермальной папиллы (ДП) и эпителиальные стволовые клетки (ЭСК) области бугорка (bulge) и межфолликулярного эпителия. В норме их пролиферация и дифференцировка обеспечивают формирование всех типов клеток ВФ. Причем МСК ДП играют ведущую роль в регуляции морфогенеза волос. Рядом авторов установлено, что трансплантация клеток ДП в комбинации с ЭСК создает предпосылки для реконструкции ВФ во взрослом организме [1, 2].

В связи с этим целью настоящего исследования явилась оптимизация условий выделения и приготовления in vitro культур стволовых и прогениторных клеток ВФ для дальнейших исследований их применения в регенеративной медицине. Забор волосяных графтов проводили в асептических условиях в операционной. Образцы помещали в герметичные емкости со стерильной средой с антибиотиками и транспортировали в лабораторию. Первичные монослойные культуры клеток ВФ получали методом эксплантов, а именно – адгезии графтов на поверхности культурального флакона с последующей миграцией клеток и их пролиферацией. Для миграции из графта и пролиферации определенного фенотипа клеток использовали разные по составу ростовые среды. Для выделения МСК ДП использовали ростовую среду ДМЕМ с 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и раствора антибиотиков, а для ЭСК применяли среду следующего состава: питательная среда DMEM/F12, с добавлением 5% ЭТС, 1% ITS-А (инсулин, трансфферин, селенит), эпидермального фактора роста – 10 нг/мл, раствора антибиотиков. Первичные монослойные культуры формировались в течение 12-14 дней. Принадлежность культивируемых клеток дермальной папиллы к мезенхимальным стволовым и прогениторным клеткам была подтверждена выявлением поверхностных СDрецепторов - CD133 и белка промежуточных филаментов виментина. Принадлежность клеток к эпителиальным стволовым была выявлена по экспрессии маркеров: CD271, CD200, CD34, и по наличию белков промежуточных филаментов - нестина, цитокератина 19. Полученные нами данные показали, что подобранные условия выделения и культивирования стволовых клеток ВФ обеспечивают их пролиферативную активность и прогениторный статус, с сохранением фенотипических характеристик, присущим им в норме, что явится основой производственного наращивания клеток ВФ и приготовления биомедицинских клеточных продуктов для лечения алопеций.

Литература

- 1. Чермных Э. С. и др. Культивированные клетки волосяного фолликула человека способны встраиваться в структуру кожи in vivo //Цитология. -2010. T. 52. N. 3. C. 219-224.
- 2. Owczarczyk-Saczonek A. et al. Therapeutic potential of stem cells in follicle regeneration //Stem cells international. 2018. T. 2018.





НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ НАН БЕЛАРУСИ

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ, ИММУНОЛОГИИ И АЛЛЕРГОЛОГИИ

Тезисы докладов международной научной конференции, посвященной 50-летию института

(Республика Беларусь, Минск, 26-27 октября 2023 г.)

Научное электронное издание

Минск «Колорград» 2023