

УДК 57.086.83:591.412

Ю.В.Маленьких, Е.Г.Левина (4 курс, каф. ФХОМ), Е.Г.Семенова, к.б.н., с.н.с. ИЦ РАН

ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР КАРДИОМИОЦИТОВ И КЛЕТОК СТРОМЫ КОСТНОГО МОЗГА, ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В КАРДИОМИОЦИТЫ IN VITRO

По мнению большинства ученых, у взрослых млекопитающих отсутствует регенерационная способность миокарда: в основной массе поврежденной сердечной мышцы процесс альтерации необратим и завершается замещением некротизированного участка соединительной тканью. Возможно развитие компенсаторной гипертрофии, резервом которой служит полиплоидность кардиомиоцитов, но исход – уменьшение функциональной активности сердца – неизбежен, что в конечном итоге приводит к сердечной недостаточности. Установлено, что введение клеток стромы костного мозга (КСКМ) в зону повреждения сердечной мышцы (зону инфаркта) устраняет явления постинфарктной сердечной недостаточности у экспериментальных животных. Однако введение в сердечную мышцу недифференцированных стволовых клеток может вызывать осложнения (например, разрастание стенок кровеносных сосудов миокарда). Таким образом, становится очевидной необходимость поиска возможных способов предварительной дифференцировки КСКМ в кардиомиоциты (in vitro).

Задачей нашей работы является изучение влияния различных факторов на КСКМ и поиск возможностей дифференцировки их в кардиомиоциты.

В первой части нашей работы акцент делался на получение функционирующей первичной непереживаемой культуры кардиомиоцитов. В результате проведения многочисленных опытов нами была отработана методика получения кардиомиоцитов неонатальных крыс. Вторым этапом работы было получение культуры КСКМ. Опыты по выделению КСКМ проводились параллельно с получением кардиомиоцитов. Для качественной оценки полученной культуры (то есть для оценки способности клеток вступать в дифференцировку) производилось окрашивание на щелочную фосфатазу. Использовались краски: 86-R (Sigma) и BCIP-NBT (ICN 980871). На вторые сутки после посева КСКМ проводилось сокультивирование: стекла с кардиомиоцитами и КСКМ помещались в чашку Петри 50 мм, в среду для кардиомиоцитов (90% DME, 10% эмбриональной телячьей сыворотки, гентамицин). После двух суток сокультивирования клетки окрашивались на щелочную фосфатазу (BCIP-NBT). Параллельно с сокультивированием проводилось исследование влияния индуцирующей среды (на 10 мл: α MEM – 9 мл, β -глицерофосфат – 1мл, гексаметазол – 0,1 мл) на стволовые клетки крысы. После четырех суток культивирования в индуцирующей среде клетки окрашивались на щелочную фосфатазу. Живые культуры и окрашенные клеточные препараты изучали и фотографировали с помощью инвертированного микроскопа и фотокамеры, соединенной с компьютером.

В результате проведенной работы было установлено, что в присутствии кардиомиоцитов КСКМ способны вступать в дифференцировку даже при малой плотности посева (после сокультивирования окраска на щелочную фосфатазу дала положительный результат). Визуально наблюдалась миграция кардиомиоцитов (с фибробластами) в сторону КСКМ.

Проведенные опыты – лишь первый шаг к решению поставленной задачи. Необходимо провести серию повторных опытов по сокультивированию кардиомиоцитов и КСКМ. Планируется также проведение опытов с использованием кусочков сердца неонатальных крыс (то есть создание модели поведения стволовых клеток в условиях *in vivo*).