

Изучение влияния богатой тромбоцитами плазмы на клетки эндометрия крысы

Научный руководитель – Вишнякова Полина Александровна

Артемова Дарья Артемовна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия

E-mail: artiomova.darya@yandex.ru

Богатая тромбоцитами плазма (PRP) - это плазма с концентрацией тромбоцитов выше среднего количества в норме, т.е. выше 200000/ μ l. PRP обладает способностью ускорять регенерацию тканей. Одним из применений PRP в клинической практике является введения PRP в эндометрий для повышения его рецептивности при лечении бесплодия [1]. Несмотря на подобное применения PRP, молекулярные механизмы ее действия на клетки эндометрия до конца не выяснены. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) - это мультипотентные клетки, обнаруженные во многих тканях организма. Эндометрий, является одним из источников МСК.

Создание модели на основе МСК эндометрия крысы и исследование механизмов действия аутологичной PRP на полученной культуре являлось целью нашей работы.

После выделения первичной культуры МСК эндометрия крысы мы проводили описание ее фенотипа методом проточной цитофлуориметрии (FACS). Анализ показал, что полученная культура соответствует фенотипу МСК: CD90+CD105+Vimentin+CD34-CD45-

Далее мы индуцировали дифференцировку клеток по трем направлениям: адипогенном, остеогенном, хондрогенном. Мы показали, что полученная культура способна к мультидифференцировке, следовательно, правомерно может быть отнесена к культуре МСК.

Для оценки действия PRP было проведен комплексный анализ маркеров пролиферации, уровня апоптоза и аутофагии. Иммуноцитохимическое окрашивание на маркер пролиферации клеток Ki-67 показало, что процент Ki-67+ ядер был выше в культуре клеток после 24 часов инкубации с PRP по сравнению с культурами клеток, инкубируемых с обычной плазмой (ОП) и в полной питательной среде (ППС). С помощью МТТ-теста мы выяснили, что ОП способствует лучшей выживаемости клеток, по сравнению с PRP, которая способствует выживаемости на уровне ППС.

Вестерн-блот анализ показал, что маркер стволовых клеток c-kit экспрессируется только в клетках, инкубируемых в ППС, а клетки, инкубируемые с PRP и с ОП, не экспрессируют c-kit. Мы предположили, что под действием PRP клетки теряют способность к мультипотентности и вступают на следующий этап дифференцировки.

При инкубации с ОП уровень стресс-индуцируемого белка p53 повышался, а при инкубации с PRP оставался на уровне контроля. Продукция антиапоптотического белка Bcl-2 во всех исследуемых группах не изменялась. После инкубации с PRP и ОП значительно увеличилась экспрессия белка LC3B - маркера аутофагии, а также экспрессия матричной металлопротеиназы 9 (MMP9) - белка, участвующего в ремоделинге внеклеточного матрикса.

Таким образом, мы делаем вывод, что действие PRP направлено на стимулирование клеточного самообновления путем усиления пролиферации МСК эндометрия крысы, сопровождаемое усилением аутофагии и повышением экспрессии фактора ремоделирования внеклеточного матрикса без влияния на апоптоз-индуцибельные маркеры.

Источники и литература

- 1) Zadehmodarres, S. et al. (2017) 'Treatment of thin endometrium with autologous platelet-rich plasma: A pilot study', *Jornal Brasileiro de Reproducao Assistida*, 21(1), pp. 54–56. doi: 10.5935/1518-0557.20170013.