

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-298

**РОЛЬ МАТРИКЛЕТОЧНОГО БЕЛКА ПЕРИОСТИНА  
НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ****THE ROLE OF THE MATRICELLULAR PROTEIN PERIOSTIN  
ON THE EFFICIENCY OF CULTURING MAMMALIAN CELLS**

А. С. Асякина, К. И. Мелконян

*Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар*

A. S. Asyakina, K. I. Melkonyan

*Kuban State Medical University, Krasnodar*✉ [cnil.ksma@yandex.ru](mailto:cnil.ksma@yandex.ru)**Аннотация**

В работе представлено влияние белка периостина на пролиферативную активность клеточной культуры фибробластов. Увеличение количества клеток при взаимодействии с периостином говорит о том, что этот белок может активировать специфические сигнальные пути, которые способствуют делению клеток и увеличивают их жизнеспособность. Повышение эффективности культивирования клеток открывает новые перспективы для их применения в регенеративной медицине.

**Abstract**

The work presents the effect of the periostin protein on the proliferative activity of a fibroblast cell culture. The increase in cell number upon interaction with periostin suggests that the protein activates specific signaling pathways that promote cell division and increase cell viability. This is important in cell therapy, where it is necessary to obtain sufficient numbers of cells for use. Increasing the efficiency of culturing autologous cells using periostin opens up new perspective for their use in regenerative medicine.

В современной клинической практике наиболее перспективным и успешным опытом лечения глубоких ожогов является использование методов клеточной терапии. По данным литературных источников, известно, что фибробласты при нанесении на поврежденные участки кожи оказывают непосредственное влияние на эпителизацию ран [1, 2]. В клинической практике чаще всего используют клетки аутологичного происхождения. Сравнительно с аллогенными клетками, которые взяты от донора другого человека, аутологичные клетки имеют меньше рисков, связанных с реакцией отторжения и инфекционными осложнениями контаминирующих агентов. Однако, несмотря на эти преимущества, всегда существует вероятность различных проблем, таких как формирование опухолей, или другие нежелательные реакции, даже при использовании аутологичных клеток [3]. Таким образом, при выборе между аутологичными и аллогенными клетками важно учитывать как преимущества, так и потенциальные риски. Важно отметить, что широкое применение клеточной терапии ограничивается длительным сроком получения достаточного количества биомассы — культивирование клеток до оптимального количества занимает не менее трех недель, что увеличивает риск развития инфекционных осложнений и удлиняет время пребывания пациентов в стационаре. Для оптимизации данного процесса требуется подбор условий, при выполнении которых станет возможным сократить срок наращивания необходимого количества клеток для проведения клеточной терапии [4]. Матрикеточный белок периостин (POSTN) способен прямо или косвенно влиять на клеточную морфологию, регулировать некоторые клеточные процессы, такие как пролиферация, дифференцировка, миграция, апоптоз, а также вызывать ремоделирование тканей [5].

**Цель работы** — изучить роль матрикеточного белка периостина на пролиферативную активность клеток.

Влияние POSTN на пролиферативную активность клеток оценивали при использовании дермальных фибробластов, полученных из Российской коллекции клеточных культур позвоночных Института цитологии РАН (линия DF-1). Для этого клетки засеивали на 12-луночный планшет в количестве 10 000 клеток на лунку и культивировали в модифицированной среде Игла Дульбекко (ДМЕМ «Биолот», Россия), которая является широко используемой для поддержки роста многих клеток млекопитающих с добавлением 10%-й фетальной сыворотки крупного рогатого скота («Биолот», Россия) и инкубацией в стандартных условиях (+37 °C, CO<sub>2</sub>). Рекомбинантный белок POSTN (Cloud-clone Corp., США) добавляли в следующих концентрациях: 10 нг/мл, 50 нг/мл, 100 нг/мл. В качестве положительного контроля выступал FGF (фактор роста фибробластов) (Cloud-clone Corp., США) в концентрации 50 нг/мл, в качестве отрицательного контроля — клетки, культивирующиеся только в пи-

тательной среде. Пролиферативную активность клеток оценивали, измеряя концентрацию клеток в камере Горяева в трех итерациях для каждого образца. Концентрацию коллагена I типа в супернатанте определяли с помощью тест-системы для ИФА (Cloud-clone Corp., США) согласно инструкции фирмы-производителя.

Проведен сравнительный анализ изменения количества клеток в лунках с различными концентрациями POSTN и контролем. Полученные данные представлены в таблице. При культивировании клеток с POSTN в течение 48 часов было выявлено его выраженное стимулирующее действие на пролиферативную активность DF-1, которая была выше на 32 % по сравнению с отрицательным контролем. При этом максимальные значения были получены в лунках с добавлением POSTN в концентрации 10 нг/мл, что повлияло на функциональную активность клеток и проявлялось активным синтезом коллагена I типа.

#### Оценка пролиферативной и функциональной активности клеток

Исследуемый образец	Средняя концентрация клеток	Коллаген I, нг/мл
Отрицательный контроль	61 250 ± 7500	9,12 ± 0,16
Положительный контроль	45 625 ± 4941	16,26 ± 0,54
POSTN 10 нг/мл	84 375 ± 6325	9,3 ± 0,1
POSTN 50 нг/мл	63 125 ± 2057	10,34 ± 0,16
POSTN 100 нг/мл	51 250 ± 4242	12,04 ± 0,23

Клеточная терапия является одним из перспективных методов лечения в медицине, который позволит восстанавливать поврежденные органы и ткани, активизируя регенеративные и адаптивные процессы в организме человека с использованием клеток, выращенных в условиях *in vitro*. Таким образом, применение матриклеточного белка периостина приводит к сокращению общего времени культивирования, что является важным шагом при подготовке клеток, так как позволяет в короткие сроки увеличить клеточную массу, необходимую для эффективного заживления ран.

#### Литература

1. Маркова А. Н., Лизунов А. В., Хамидулин Т. Э. Использование фибробластов в комбустиологии // Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области. 2016. Т. 3(14). С. 86–88.
2. Гилевич И. В., Федоренко Т. В., Коломийцева Е. А. и др. Достижения клеточной терапии в комбустиологии // Инновационная медицина Кубани. 2017. Т. 6(2). С. 6–14.
3. Туманов В. П., Жакота Д. А., Корчагина Н. С. 30-летний опыт разработки и применения клеточных технологий в клинической практике // Пластическая хирургия и косметология. 2012. № 3. С. 433–449.
4. Игнатенко С. И., Космачева С. М., Петевка Н. В. и др. Применение АВ (1γ)-сыворотки для наращивания мультипотентных мезенхимных стромальных клеток человека // Гены и клетки. 2010. Т. 5(3). С. 30–31.
5. Wu Z., Dai W., Wang P. et al. Periostin promotes migration, proliferation, and differentiation of human periodontal ligament mesenchymal stem cells // Connective tissue research. 2018. Vol. 59(2). P. 108–119.