

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

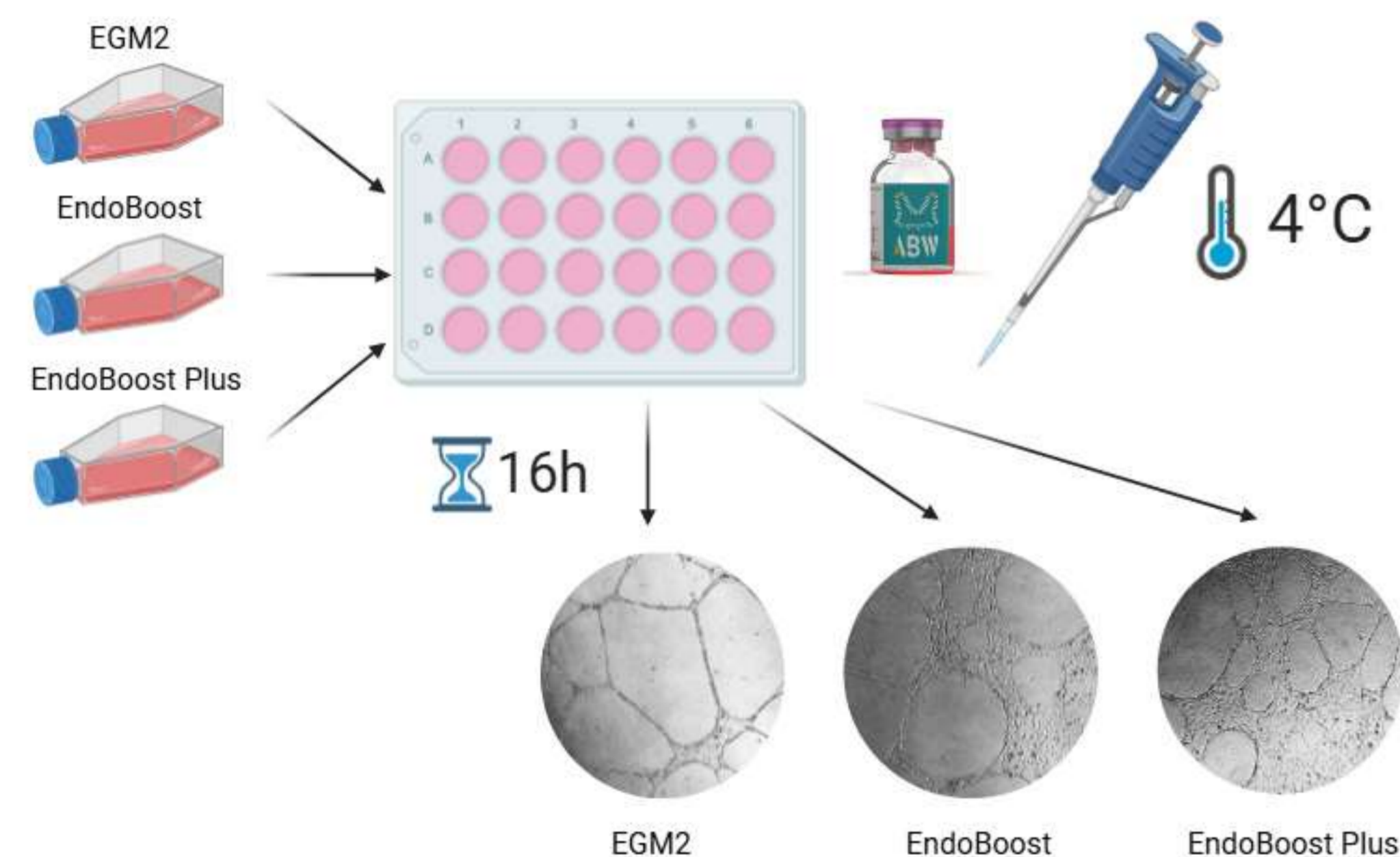
Источник финансирования: ФНИ № 0419-2022-0001 «Молекулярные, клеточные и биомеханические механизмы патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний в разработке новых методов лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы на основе персонализированной фармакотерапии, внедрения малоинвазивных медицинских изделий, биоматериалов и тканеинженерных имплантатов»

Цель - определить эффективную культуральную среду, способствующую устойчивой пролиферативной активности, высокому клеточному индексу и сохранению мощного ангиогенного потенциала КФЭК

Для изучения влияния сред на пролиферативную активность КФЭК проведено исследование на приборе xCelligence. Метод непрерывного мониторинга жизнедеятельности клеток за счет измерения их электрического сопротивления является одним из наиболее точных и воспроизводимых. После предварительной преинкубации КФЭК на различных средах (EGM2, EndoBoost, EndoBoost Plus) в течение 14 суток, клетки пересевали на лунки планшета в соответствующую среду и наблюдали за ростом популяции на приборе xCELLigence в реальном времени

Материалы и методы исследования

Исследование ангиогенной активности клеток in vitro



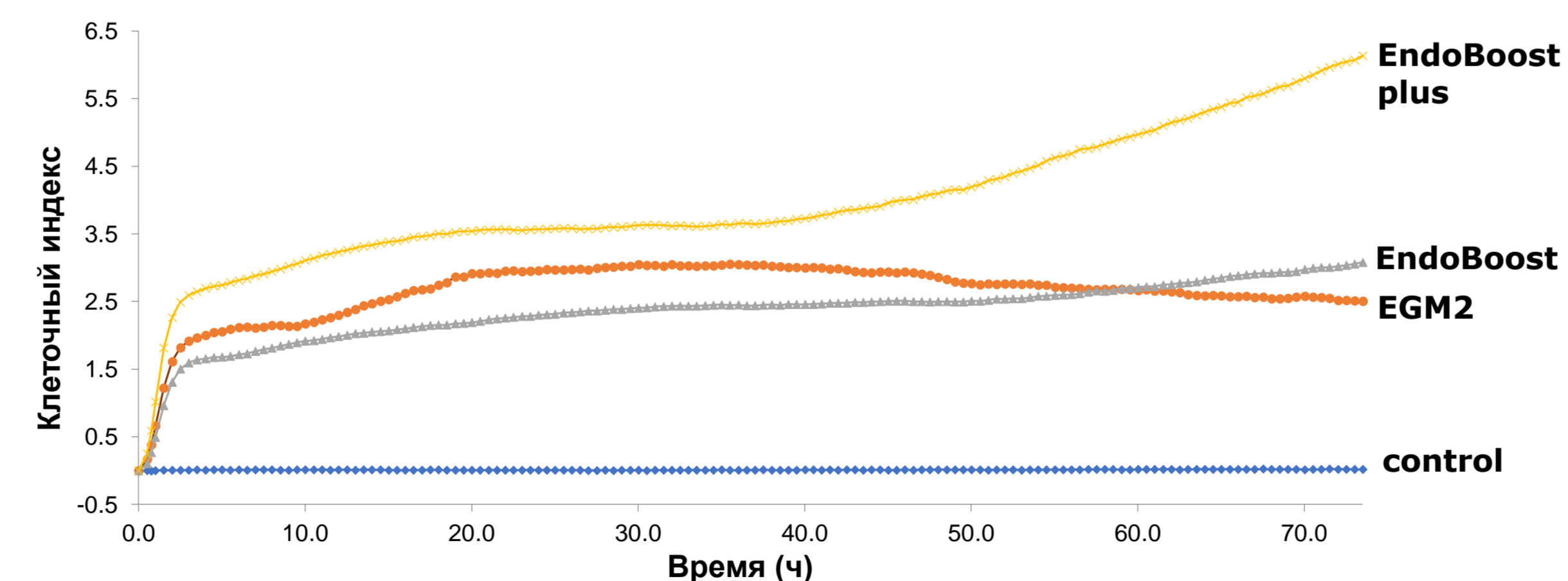
- В охлажденный планшет заливали слой матригеля, оставляли инкубироваться при 37 °С
- Снимали ECFC с культуральных планшетов, разводили с соответствующей питательной средой и помещали в лунки в количестве 1×10^5 клеток
- Образование капилляроподобных структур наблюдали через 16 часов

Оценка пролиферативной активности на различных средах

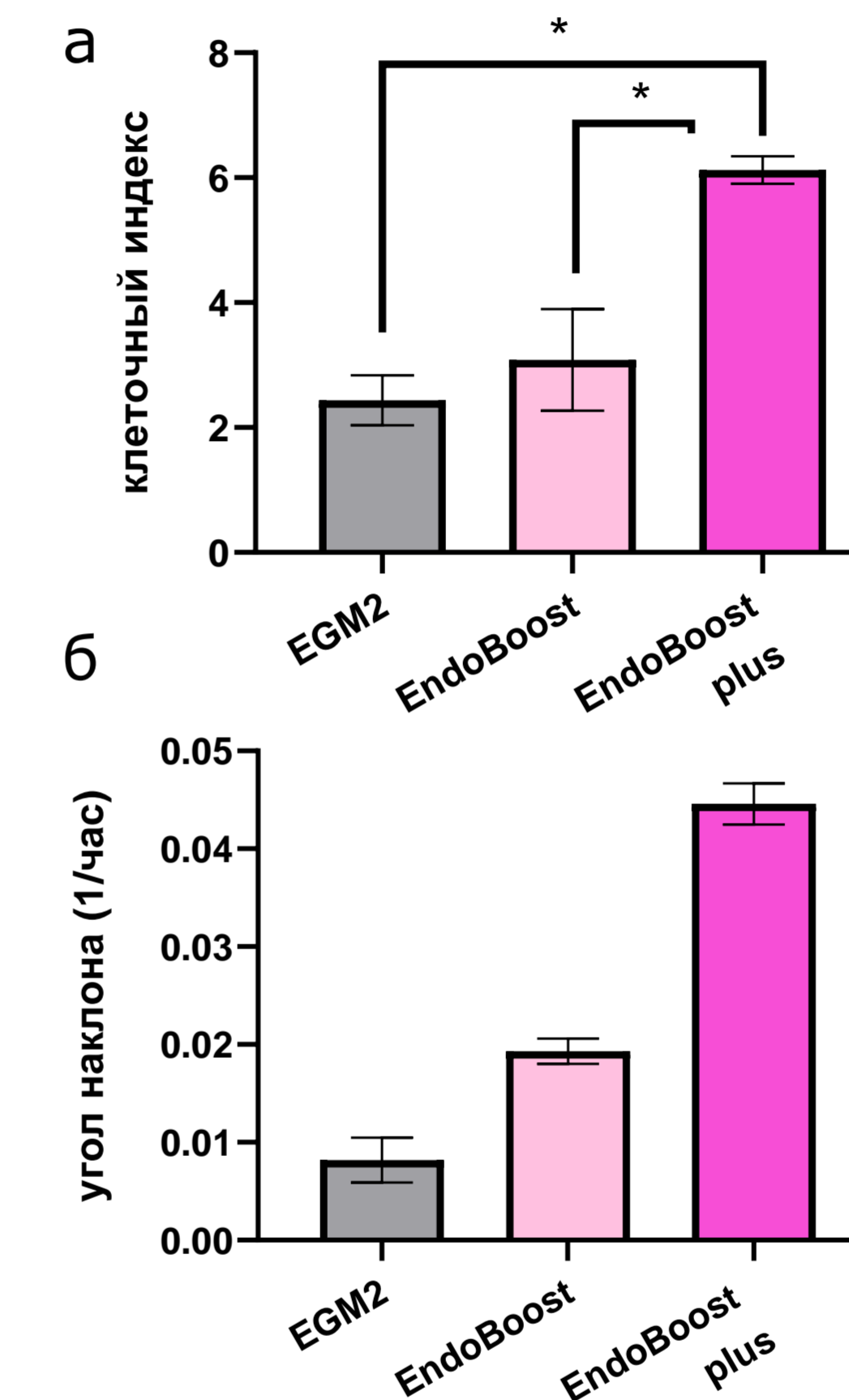


Полученные результаты

Кривая роста культуры КФЭК в течение 72 часов



Кривые роста демонстрируют адаптационное плато в диапазоне от 18 до 40 часов инкубации, после чего отмечается быстрое увеличение клеточного индекса (КИ) в среде EndoBoost Plus, более пологая кривая на EndoBoost Plus, и некоторое снижение КИ на EGM2



На рисунке а представлены значения КИ в конечной точке культивирования (72 часа). Максимальный КИ зарегистрирован для клеток в среде EndoBoost Plus, при этом он значительно превышал показатели в EGM2 и EndoBoost. Полная питательная среда EGM2 продемонстрировала самые низкие результаты из всех вариантов сред. Аналогичная зависимость отмечается на графике угла наклона (slope) (рис б), в которой максимальные показатели также соответствуют среде EndoBoost Plus, а минимальные EGM2

Выполнен функциональный тест на Matrigel. Через 18 часов после заселения на Matrigel клетки формировали полноценные капилляроподобные структуры, что подтверждает их ангиогенный потенциал

Выводы

Максимальный КИ зарегистрирован для клеток в среде EndoBoost Plus. Полная питательная среда EGM2 продемонстрировала самые низкие результаты из всех вариантов сред. Аналогичная зависимость отмечается на графике угла наклона (slope) в которой максимальные показатели также соответствуют среде EndoBoost Plus, а минимальные EGM2