

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РОБОТИЗИРОВАННОЙ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ НАКОПЛЕНИЯ БИОМАССЫ ФИБРОБЛАСТОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ**

**Ф.А. Фадеев, О.В. Мадиярова, А.Д. Никанорова**

*ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия*

Дермальные фибробласты человека широко применяются в регенеративной медицине, в первую очередь, для ускорения заживления ран и предотвращения образования рубцов и контрактур, а также для коррекции возрастных изменений кожи [1]. Клинический эффект применения фибробластов обусловлен секрецией ими компонентов внеклеточного матрикса (коллаген, фибронектин, ламинин, эластин), а также цитокинов, влияющих на пролиферацию и миграцию собственных клеток кожи пациента (IL-6, bFGF, KGF, EGF и других) [2]. Основными проблемами получения фибробластов для клинического применения являются трудоемкость процесса культивирования, высокая зависимость объема и свойств получаемого клеточного материала от квалификации и индивидуальных особенностей работы сотрудников, высокий риск микробной контаминации.

Использование автоматизированных систем для культивирования клеток позволяет минимизировать эти проблемы. В настоящее время для высокопроизводительного культивирования адгезивных клеточных линий используются системы биореакторного типа и роботизированные системы, имитирующие работу человека с культуральными флаконами. Нами была оценена пригодность роботизированной системы Compact Select (Sartorius, Великобритания) для культивирования фибробластов кожи человека и было проведено сравнение скорости пролиферации и секреторной активности клеток при «ручном» и автоматизированном культивировании с использованием роботизированной станции.

В работе были использованы дермальные фибробласты, выделенные из донорской кожи после получения от доноров информированного согласия. Культивирование клеток вручную и на Compact Select осуществляли в течение 4 пассажей с использованием однотипных культуральных флаконов, ростовых сред и диссоциирующих растворов. Последовательность действий при ручном культивировании также максимально повторяла протокол операций, выполняемый Compact Select.

Клетки, получаемые автоматизированно, не имели морфологических отличий от выращиваемых вручную. В то же время, количество клеток во флаконах, культивируемых в Compact Select, на всех 4 пассажах было достоверно (в 1,3–1,5 раза) выше, чем во флаконах при ручном культивировании. При этом коэффициенты вариации по параметрам плотности клеточного монослоя и по размеру клеток были ниже при автоматизированном культивировании, что свидетельствует о большей стабильности условий автоматизированного культивирования и более высокой гомогенности получаемого клеточного материала.

В то же время, культивируемые на Compact Select фибробласты секретировали меньшие количества (в пересчете на 1 клетку) цитокинов (IL-6, CXCL8) и про-коллагена I. Причиной может являться негативное влияние более высокой плотности клеток при автоматизированном культивировании на их секреторную активность [3].

Таким образом, нами была продемонстрирована возможность длительного культивирования фибробластов с помощью автоматической роботизированной платформы. Полученные таким способом фибробласты сохраняют типичную морфологию, высокую пролиферативную и секреторную активность, что делает возможным их дальнейшее использование в различных сферах, в том числе для клеточной терапии.

### **Литература**

- Yeh, S. – W. and M. – Y. Huang (2013) Autologous fibroblast therapy of the scar: A preclinical report. *Dermatologica Sinica*. 31: 159–160.
- Wong T., J.A. McGrath, and H. Navsaria (2007) The role of fibroblasts in tissue engineering and regeneration. *Br. J. Dermatol*. 156: 1149–1155.
- Aumailley M., T. Krieg, G. Razaka, P.K. Müller, and H. Bricaud (1982) Influence of cell density on collagen biosynthesis in fibroblast cultures. *Biochem. J*. 206(3): 505–510.