

**Сравнение экспрессии эмбриональных маркеров Oct-4, SSEA-4 и
нейроэпителиального маркера Nestin в культурах клеток пульпы и
периодонтальной связки зуба**

Научный руководитель – Енукашвили Натэлла Иосифовна

Котова Анастасия Викторовна

Сотрудник

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: anastkotova@gmail.com

Актуальность. Стволовые клетки (СК) тканей зуба и ротовой полости - это мигрировавшие во время эмбрионального развития клетки нервного гребня. По своим основным характеристикам они схожи с мезенхимными стромальными клетками (МСК). Помимо стандартного для МСК набора маркеров, согласно многим исследованиям, в этих клетках экспрессируются эмбриональные маркеры, такие как Oct-4, Nanog, Klf-4 и другие, а также нейроэпителиальные маркеры (Nestin, Notch1, Vimentin и др.). Экспрессии эмбриональных маркеров в СК зуба часто приписывают роль в регуляции пролиферации, клеточного старения и в поддержании клеток в недифференцированном состоянии. Нейроэктодермальное происхождение СК зуба и доступность получения делает их привлекательными для использования в регенеративной медицине, особенно для восстановления нервных тканей.

Целью работы являлось сравнение экспрессии эмбриональных маркеров СК (Oct-4, SSEA-4), а также экспрессии нейроэпителиального маркера Nestin в первичных культурах СК пульпы (СКП) и периодонта (СКПд).

Материалы и методы. Все исследования проводили при наличии этических разрешений и информированных согласий доноров или их представителей. В работе попарно сравнили первичные культуры СКП и СКПд, полученные от одного и того же донора из дистопированных или ретенированных третьих моляров. Всего в исследовании использовали 5 таких пар. Полученные СКП и СКПд культивировали отдельно. Методом иммуноцитохимии выявили локализацию белков Oct-4 и SSEA-4. Уровень экспрессии Oct-4 и Nestin исследовали с помощью количественной ПЦР после выделения тотальной РНК и реакции обратной транскрипции. В качестве позитивного контроля экспрессии Oct-4 использовали кДНК бластоцисты человека.

Результаты. СКП и СКПд обладали фибробластоподобной морфологией и иммунофенотипом, типичным для МСК. Согласно результатам иммуноцитохимического исследования в 80% СКП в ядрах обнаруживался положительный сигнал по Oct-4 и отсутствовал сигнал от антител к SSEA-4. В свою очередь, в СКПд антитела к Oct-4 не выявили антиген, но 5% клеток оказались положительными по SSEA-4. Уровень экспрессии Oct-4, согласно результатам количественной ПЦР, среди пар СКП/СКПд различался и внутри пары, и между парами. В одной из пар уровень экспрессии Oct-4 в СКПд оказался в 5 раз выше, чем в СК пульпы, при этом на иммуноцитохимических препаратах сигнал обнаруживался только в ядрах СКП. Остальные пары показали одинаковый уровень экспрессии Oct-4 внутри пары СКП/СКПд, однако отличались между собой (экспрессия в одной из пар Oct-4 и в СКП, и в СКПд была в 4 раза выше чем в другой). Уровень экспрессии Nestin был в ряде случаев выше в СКП (в 16 раз и в 4 раза выше в двух парах культур), чем в СКПд. В остальных парах существенно не отличался.

Выводы. СКП и СКПд различаются по количеству и распределению исследованных белков, но не их мРНК.

Мы благодарим Покровский банк стволовых клеток и Северо-Западный государственный медицинский университет им И.И. Мечникова за предоставленные клеточные культуры.