

после имплантации отмечалось приживление ТИК, стенозирования стенки трахеи не наблюдалось, однако отмечалось незначительное сужение просвета в области имплантации. Через 6 мес. после имплантации биосовместимость тканеинженерной конструкции подтверждалась гистологическим методом. Показана эпителизация и васкуляризация стенки трахеи, отсутствие признаков гнойного воспаления и асептического некроза.

Заключение. Разработанная ТИК на основе ДТМ, двухслойно заселенного эпителиоцитами легкого и МСК КМ, была успешно применена для замещения непротяженных дефектов трахеи в эксперименте *in vivo*. Показана высокая степень биосовместимости материала ДТМ и физиологическая совместимость имплантата ТИК.

Настоящая работа выполнена при поддержке соглашения о субсидии Минобрнауки РФ № 14.614.21.0001 (RFMEFI61417X0001).

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ БИОПОЛИМЕРНОГО ГИДРОГЕЛЕВОГО И ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО МАТРИКСОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА

Наталья Владимировна Баранова, Людмила Анфилофьевна Кирсанова, Анна Сергеевна Пономарева, Евгений Абрамович Немец, Виктор Иванович Савастьянов

ФГБУ НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. В.И. Шумакова Минздрава России, Москва, Россия

BarnatS@yandex.ru

Созданию биоинженерной конструкции поджелудочной железы (ПЖ) препятствуют проблемы, связанные с поддержанием жизнеспособности функционально активных изолированных островков Лангерганса (ОЛ). Сохранению структуры и функции ОЛ в условиях *in vitro* и *in vivo* способствуют матриксы — биомиметики внеклеточного матрикса (ВКМ), обладающие свойствами, характерными для нативного микроокружения ПЖ. К таким биомиметикам ВКМ относятся биополимерный микроструктурированный коллагенсодержащий гидрогель (БМКГ матрикс) и тканеспецифический матрикс из децеллюляризованной ПЖ (ДПЖ матрикс).

Цель работы: провести сравнительный анализ влияния БМКГ матрикса и ДПЖ матрикса на секреторную функцию изолированных ОЛ крысы в процессе их культивирования.

Материалы и методы. ОЛ крысы изолировали, используя модификацию коллагеназной методики. ДПЖ матрикс получали в результате децеллюляризации фрагментов ПЖ в растворе додецилсульфата натрия в дистиллированной воде и фосфатном буфере с применением ротационной системы. Изолированные ОЛ культивировали в стандартных условиях в суспензионной культуре — контрольная группа, в присутствии БМКГ матрикса — опытная группа I и в присутствии ДПЖ матрикса — опытная группа II. Содержание базальной концентрации инсулина в культуральной среде определяли с помощью набора для иммуноферментного анализа и ридера для микропланшетов.

Результаты исследования. На первые сутки культивирования концентрация инсулина в опытных группах I и II была выше на 26,2% (258,6 $\mu\text{E/mL}$) и на 48,7%

(304,9 $\mu\text{E/mL}$) по сравнению с контрольной группой (205,1 $\mu\text{E/mL}$), на третьи сутки инкубации — на 62,1% (149,0 $\mu\text{E/mL}$) и 102,9% (186,5 $\mu\text{E/mL}$), соответственно, по сравнению с контрольной группой (91,9 $\mu\text{E/mL}$). На шестые сутки наблюдали еще большую разницу (249,6% и 373,6%) между концентрациями инсулина опытных групп I (102,1 $\mu\text{E/mL}$) и II (138,3 $\mu\text{E/mL}$) и контролем (29,2 $\mu\text{E/mL}$). На 8–10 сутки инкубации сохранившиеся ОЛ контрольной группы не были обнаружены и культуральную среду не исследовали. На этих сроках в опытных группах концентрация инсулина практически оставалась неизменной: группа I — 93,7 $\mu\text{E/mL}$, группа II — 126,9 $\mu\text{E/mL}$, при этом уровень секреции инсулина в группе II был на 35,5% выше, чем в группе I. **Вывод.** БМКГ матрикс и тканеспецифический ДПЖ матрикс способствуют не только сохранности изолированных ОЛ, но и пролонгированию их секреторной способности в течение 10 дней. Показано преимущество применения ДПЖ матрикса по сравнению с БМКГ матриксом при создании биоинженерной конструкции ПЖ.

СЕКРЕТИРУЕМЫЕ В СОСТАВЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ МИКРОРНК КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МЕДИАТОРЫ АНТИФИБРОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Наталья Андреевна Басалова^{1,2}, Георгий Дмитриевич Сагарадзе¹, Михаил Спартакович Арбатский², Ольга Александровна Григорьева¹, Иван Константинович Зайцев², Евгений Геннадьевич Евтушенко³, Наталья Игоревна Калинина², Анастасия Юрьевна Ефименко^{1,2}

¹ Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³ Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

natalia_ba@mail.ru

Фиброз — патологическое увеличение в тканях доли стромального компонента, возникающее в ходе репаративной регенерации после обширных повреждений или хронического воздействия повреждающих агентов. Для предотвращения потери функциональности ткани и восстановления ее нормальной архитектуры необходим поиск подходов к подавлению и реверсии фиброза.

Перспективным инструментом для решения этой задачи могут считаться мезенхимные стромальные клетки (МСК), способные подавлять фиброгенез за счет действия секретируемых растворимых факторов (РФ) и внеклеточных везикул (ВВ). Однако остаются почти не исследованными эффекты МСК в отношении реверсии фиброза. Поэтому мы изучили возможные механизмы влияния МСК на дедифференцировку миофибробластов, которые являются ключевыми участниками фиброгенного прогресса.

Ранее нами было показано, что как РФ, так и ВВ, секретируемые МСК жировой ткани человека, ингибируют TGF β -индуцированную дифференцировку фибробластов в миофибробласты *in vitro*. Однако только ВВ способствовали практически полной реверсии дифференцировки миофибробластов. Для того, чтобы установить потенциальные механизмы этого эффекта, состав ВВ оценили методом РНК-секвенирования.

Мы обнаружили, что ВВ содержат спектр регуляторных РНК, включая длинные некодирующие РНК (lncРНК) и микроРНК (миРНК). Из 270 выявленных миРНК 52 имели мишени, связанные с регуляцией фиброза.

Для выяснения роли отдельных миРНК, которые могут быть медиаторами влияния МСК на развитие фиброза, были выбраны потенциально профиброгенная миРНК-21 и антифиброгенные миРНК-29 и 129. Для данных миРНК моделировали гиперэкспрессию или подавление экспрессии методом трансфекции ВВ синтетическими нуклеотидными последовательностями. Подавление экспрессии миРНК-21 приводило к уменьшению доли клеток с морфотипом миофибробластов в культуре. При этом подавление экспрессии миРНК-29 или 129 увеличивало это число и активировало экспрессию профибротических генов, таких как α -гладкомышечный актин и EDA-фибронектин. Гиперэкспрессия исследуемых миРНК не вносила вклада в свойства ВВ.

Таким образом, можно предположить, что МСК через секретируемые ВВ способствуют дедифференцировке миофибробластов в фибробласты. Одним из механизмов этого явления и антифибротического эффекта МСК в целом может быть регуляция баланса между профиброгенными и антифиброгенными миРНК в составе секретируемых ВВ.

Исследование проводилось при поддержке РФФИ № 18-015-00525 с использованием биоматериалов проекта Московского университета «Ноев ковчег».

СОЗДАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ НА ОСНОВЕ МИКРОНИЗИРОВАННОГО ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННОГО МАТРИКСА СУСТАВНОГО ХРЯЩА СВИНЬИ

Юлия Борисовна Басок, Алексей Михайлович Григорьев, Людмила Анфилофьевна Кирсанова, Евгений Абрамович Немец, Александра Дмитриевна Кириллова, Виктор Иванович Севастьянов

Отдел биомедицинских технологий и тканевой инженерии, ФГБУ «НМИЦ трансплантологии и искусственных органов им. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Россия

bjb2005@mail.ru

Тканеинженерные конструкции (ТИК), предназначенные для лечения дефектов хряща, включают, как правило, аутологичные хондроциты или мезенхимальные стромальные клетки (МСК), культивированные на биосовместимых трехмерных матриксах. Наиболее перспективным матриксом представляется децеллюляризованная ткань, обладающая тканеспецифическими свойствами, т.е. способностью избирательно поддерживать адгезию и пролиферацию клеток конкретной ткани или органа. Отметим, что микронизированная форма носителя позволяет обеспечить наименее инвазивный инъекционный способ введения.

Целью работы было формирование *in vitro* и исследование ТИК хряща, включающей микронизированный тканеспецифический децеллюляризованный матрикс суставного хряща свиньи (МТДМ СХс) и МСК жировой ткани человека (ЖТч).

Материалы и методы. Микродисперсные частицы хряща (размер частиц 100–220 мкм) получали в криомельнице CryoMill (Retch GmbH, Германия). Для

децеллюляризации образцов использовали комбинацию 3 циклов замораживания/оттаивания (–196°C/37°C) и обработки поверхностно-активными веществами (додецилсульфатом натрия, Тритоном X-100) и ДНКазой. Каждая ТИК включала 10 мг МТДМ СХс и 2×10^6 МСК ЖТч. Первые 5 суток биоинженерные конструкции культивировали в ростовой культуральной среде, далее ее заменяли на дифференцировочную среду. Жизнеспособность клеток оценивали методом флуоресцентного окрашивания витальным красителем Live/Dead Assay. Морфологию ТИК оценивали с использованием гистологических методов окрашивания.

Результаты исследования. К 14 суткам культивирования ТИК в хондрогенной среде визуализировали активный рост клеток с образованием многослойных участков, сопровождающийся наработкой ими внеклеточного матрикса (ВКМ). ВКМ содержал специфичные для хрящевой ткани компоненты, гликозаминогликаны (ГАГ) и коллаген — образцы локально позитивно окрашивались альциановым синим и по методу Массона. В процессе культивирования клетки и синтезированный ими ВКМ образовывали с микрочастицами МТДМ СХс единый плотный конгломерат. На 26 сутки эксперимента в ВКМ наблюдали равномерное распределение коллагена и усиление интенсивности окрашивания на ГАГ. В образцах происходила клеточная резорбция МТДМ СХс.

Выводы. Показанная способность полученного по разработанному протоколу МТДМ СХс поддерживать адгезию, пролиферацию и хондрогенную дифференцировку МСК ЖТч свидетельствует о его потенциале для использования в регенеративной медицине хряща.

Работа выполнялась при частичном финансировании гранта РФФИ № 16-29-07322.

ВЗАИМОВЛИЯНИЕ NOTCH-VEGFR-ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКС В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ КАПИЛЛЯРОПОДОБНЫХ СТРУКТУР В 2Д МОДЕЛИ СОКУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ И МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Ирина Борисовна Белоглазова¹, Екатерина Сергеевна Зубкова¹, Константин Владимирович Дергилев¹, Елизавета Израилевна Ратнер¹, Евгений Константинович Шевченко¹, Елена Викторовна Парфенова^{1,2}

¹ ФГБУ НМИЦ кардиологии Минздрава России, Москва, Россия;

² МГУ им. М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

irene.beloglazova@gmail.com

Ангиогенез является сложным многоэтапным процессом, включающим в себя ряд скоординированных событий, таких как миграция эндотелиальных клеток (ЭК), ремоделирование внеклеточного матрикса (ВМ) и взаимодействие ЭК с муральными клетками, стабилизирующими сосуд, сформированный *de novo*. Данное взаимодействие включает в себя как взаимное паракринное воздействие, так и прямые межклеточные контакты.

В данной работе мы использовали 2Д модель сокультивирования ЭК пупочной вены человека и мезенхимальных клеток жировой ткани человека (МСК ЖТ). Мы обнаружили, что сокультивирование в плотности $63 \text{ тыс. клеток на см}^2$ и соотношении 1:3 (ЭК:МСК ЖТ) приводило к формированию капилляр-подобных структур (КПС) эндотелиальными клетками. При этом происходило