

CXCL11, а также генерировали активные формы кислорода, с преобладанием фенотипа, имеющего дендритоподобную форму. В макрофагах M2 выявлена достоверно более высокая, чем в M1, экспрессия факторов IGF1, ALOX15, а также маннозного рецептора CD206. Активаторы сиртуинов ресвератрол и DCHC (3-(2,4-дихлорофенил)-7-гидрокси-4-хромен-4-он) и активатор PPAR γ розиглитазон вызывали снижение экспрессии воспалительных маркеров TNF α , CXCL9 и повышали экспрессию IGF1 и ALOX15. Ингибиторы SIRT1 сиртуинов и Ex527 не оказывали достоверных эффектов на экспрессию маркеров в M1 и M2 макрофагах. Ингибитор SIRT1, соединение Ex527 (6-хлоро-2,3,4,9-тетрагидро-1Н-карбазол-1-карбоксамид) повышало долю дендритоподобных клеток в M0, M1 и M2-популяциях макрофагов. Кратковременное воздействие инсулина на адипоциты, полученные из мышечных фибробластов 3T3L1 по методу Zebisch et.al. 2012, вызывало усиление фосфорилирования киназы Akt по Thr308 и Ser473. Кондиционированная среда M1-клеток вызывала снижение уровня pAktThr308 и повышала уровень pAktSer473 в 3T3L1 адипоцитах. Эти эффекты не выявлялись в присутствии кондиционированных сред M2-макрофагов, а также макрофагов M1, культивированных в присутствии активатора SIRT1, DCHC, и розиглитазона. Напротив, кондиционированная среда M2 макрофагов, а также среда M1 макрофагов, обработанных DCHC, индуцировала повышение уровня фосфорилирования сайта AktThr308 и снижала уровень pAktSer473. Полученные данные свидетельствуют о том, что использование SIRT1 и рецепторов PPAR в качестве терапевтических мишеней для оптимизации регенеративных процессов и смягчения процессов латентного воспаления представляет интерес в сочетании с изучением внутриклеточных сигнальных процессов.

Финансирование исследования: *Грант РФФИ № 15-04-07840.*

Мионов А.В.¹, Бозо И.Я.², Деев Р.В.², Комлев В.С.³, Миронова О.А.¹, Попов В.К.¹, Смирнов И.В.³, Федотов А.Ю.³

¹ *Институт фотонных технологий РАН, ФНИЦ «Кристаллография и Фотоника» РАН,*

² *Институт стволовых клеток человека*

³ *Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН scftlab@gmail.com*

АДДИТИВНОЕ ПРОИЗВОДСТВО МАТРИКСОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Основной целью применения аддитивных технологий в области регенеративной медицины, является создание тканеинженерных конструкций, содержащих помимо искусственного каркаса живые клетки. В силу определенных требований, предъявляемых к материалам, контактирующим с живой тканью, их выбор не слишком широк и сводится в основном к ряду синтетических и натуральных полимеров, и кальций фосфатным соединениям. В докладе представлены результаты работы по созданию искусственных имплантируемых клеточных матрикс, с применением трёх различных методов трёхмерной печати: из расплава, из растворов и струйной печати порошковых материалов. Для экспериментальной работы авторским коллективом были разработаны и созданы специализированные установки. Соот-

ветствие методов трёхмерной печати поставленным задачам было показано на модельных соединениях и композициях: триблоксополимере поликапролактона с полиэтиленгликолем для печати из расплава; мелкодисперсными фракциями трикальцийфосфата для струйной печати; водоотверждаемых растворах полиэфиров в тетрагликоле и композициях на основе альгината для печати из растворов.

Финансирование исследования: *Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 16-29-11722 офи_м) и Российского Научного Фонда (грант № 15-13-00108).*

Бурнышева К.М.¹, Абрамов А.А.², Кечко О.И.¹, Полуэктов Ю.М.¹, Петрушанко И.Ю.¹, Митькевич В.А.¹, Лакомкин В.Л.², Макаров А.А.¹

¹ *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН*

² *Институт экспериментальной кардиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России mitkevich@gmail.com*

НОРМАЛИЗАЦИЯ УРОВНЯ РНК В КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ МИОКАРДА С ПОМОЩЬЮ РИБОНУКЛЕАЗЫ БИНАЗЫ

При ишемии/реперфузии происходит выброс РНК из поврежденных клеток миокарда в кровеносное русло. Такие внеклеточные РНК (внРНК) индуцируют выброс целого ряда провоспалительных цитокинов, что приводит к миграции лейкоцитов в зону поражения, развитию отека тканей в результате увеличения проницаемости сосудов и тромбообразованию, поскольку РНК выступает в роли прокоагулянта. Показано, что использование рибонуклеаз млекопитающих семейства РНКазы А, разрушающих внРНК, ускоряет в животных восстановление функции сердца и снижает воспаление ткани миокарда и сосудов после операций на сердце и инфаркта миокарда. Мы предположили, что РНКазы биназы из *Bacillus pumilis* будет эффективным инструментом для восстановления функции сердца. Мы показали, что в отличие от РНКазы А и ее гомологов биназа не ингибируется ингибитором РНКаз млекопитающих и ее активность не меняется в присутствии восстановительных агентов. Это показывает, что биназа не чувствительна к изменению редокс условий, по-видимому, из-за отсутствия остатков цистеина и метионина, что показывает ее перспективность для сочетанной терапии с восстановительными агентами при ишемии/реперфузии. Внутривентрикулярное введение биназы мышам в дозе до 5 мг/кг не вызывает выраженного иммунного ответа и токсического действия. В качестве модели повреждения миокарда для исследования кардиопротекторного действия биназы использовалось двукратное введение синтетического катехоламина-изопротеренола бодрствующим крысам. В этой модели часть кардиомиоцитов гибнет и в течение 3–4-х нед. замещается соединительной тканью, что характерно для хронической ишемии миокарда. Было определено изменение уровня РНК в крови животных на протяжении 7 дней после первого введения катехоламина-изопротеренола. Биназу начинали применять одновременно со вторым введением катехоламина-изопротеренола, которое вызы-

вает развитие повреждения ткани миокарда. Биназу вводили животным каждые 24 ч. в концентрации 50 мкг/кг. Уровень биназы в крови животных оценивали по ее специфической РНКазной активности. Применение биназы достоверно снижало уровень РНК в крови животных с повреждением миокарда, что должно способствовать повышению его регенеративного потенциала. В дальнейшем, для доказательства протекторного действия биназы, будет оценено ее влияние на размер зоны повреждения миокарда, уровень противовоспалительных цитокинов и различных биомаркеров инфаркта миокарда в крови животных. Препарат на основе биназы, в случае доказательства его эффективности для восстановления функции сердца, может быть использован для предотвращения развития патологических процессов и осложнений во время операций на сердце, сопровождающихся ишемией/реперфузией, что приводит к значительным повреждениям кардиомиоцитов, а также при инфаркте миокарда и кардиоваскулярных тромбообразованиях.

Финансирование исследования: *Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, проект № 17-34-80086 (Эврика!Идея).*

Михайлов В.М., Соколова А.В., Каминская Е.В.

ФГБУН «Институт цитологии РАН»
vmikhailov@incras.ru

ЗАМЕНА КОСТНОГО МОЗГА КАК СПОСОБ ТЕРАПИИ МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В настоящее время накапливаются данные, что помощь больным моногенными заболеваниями, такими как миопатия Дюшенна, серповидная клеточная анемия или дисферлиновая миопатия, может быть достигнута при трансплантации реципиентам клеточных популяций дикого типа, содержащих стволовые клетки (СК), способные к самообновлению из-за использования асимметричного митоза. Среди тканей организма мезодермального происхождения самообновляющимися популяциями СК являются стволовые клетки костного мозга (СККМ), миобласты поперечно-полосатых мышц (МПМ) и половые клетки. Для приживания трансплантированных СККМ в костном мозге реципиентов необходимо освободиться от собственных СККМ, что достигается при помощи рентгеновского облучения (РО) реципиентов. Трансплантация СККМ после мизлоаблативного РО в дозе 5 Гр и выше небезопасна, так как способна вызвать у реципиентов реакцию трансплантат против хозяина (РТПХ) и ряд осложнений вплоть до гибели организмов. Трансплантация СККМ после немизлоаблативного РО в дозах 2–3 Гр избавляет реципиентов от РТПХ и превращает их в иммунологические химеры. У химер-людей больных серповидноклеточной анемией выживаемость реципиентов после замены костного мозга достигает 80–90% (Vermylen, 2013). У взрослых больных излечение возможно только после немизлоаблативной трансплантации СККМ. На мышцах mdx мы использовали дозу РО 3Гр (Соколова, и др., 2010, 2016). В течение годового эксперимента иммуноморфологически было установлено, что у химер mdx синтез дистрофина возрастает от $1.1 \pm 0.4\%$ поперечно-полосатых мышечных волокон (ППМВ) до $28.7 \pm 7\%$ ППМВ на 6 мес. после трансплантации СККМ. К 12 мес. доля дистрофин(+) ППМВ уменьшается до $5 \pm 0.1\%$. Ди-

намика синтеза дистрофина в ППМВ диафрагмы аналогична, что подтверждает общий терапевтический эффект замены мутантных СККМ на СККМ дикого типа. Для оценки эффективности усиления синтеза дистрофина мы использовали анализ структуры синапсов. На 4-ом месяце после РО у реципиентов восстанавливается структура синапсов. При этом величина среднего местного электрического потенциала покоя возрастает до уровня мышц контрольных животных (Кравцова и др., 2011). Результаты впервые указывают на возможность восстановления синтеза дистрофина у мутантных мышцей mdx после немизлоаблативной замены мутантных СККМ на СККМ костного мозга дикого типа. Представляет интерес углубление полученных результатов на модели миодистрофии у собак, наиболее сходной с болезнью Дюшенна у человека.

Финансирование исследования: *гранты РФФИ, Грант РФФИ № 14-50-00068.*

Гайдаш А.А.¹, Чекан Н.М.², Крутько В.К.³, Сердобинцев М.С.⁴, Михайлова Н.А.¹, Блинова М.И.¹, Мусская О.Н.³, Александрова С.А.¹, Копелев П.Н.¹, Казбанов В.В.⁴, Скроцкая К.В.⁵

¹ ФГБУН «Институт цитологии РАН»

² ГНУ «Физико-технический институт НАН Беларуси»

³ ГНУ «Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси»

⁴ ФГБУ Санкт-Петербургский

НИИ фтизиопульмонологии Минздрава России

⁵ Белорусский государственный университет, Институт физико-химических проблем, Минск, Беларусь
natmik@mail.ru

ОСТЕОГЕНЕЗ НА ТИТАНОВЫХ НАНОТРУБКАХ, ДОПИРОВАННЫХ АМОРФИЗИРОВАННЫМ ГИДРОКСИАПАТИТОМ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Одним из модуляторов остеогенеза являются аморфизированные кальций фосфаты, состав и структура которых сходны с биоапатитом. Цель исследования — изучить цитосовместимость и особенности остеогенеза на титановых матрицах с нанотрубками, допированными аморфизированным гидроксипатитом. Мезенхимные стволовые клетки костного мозга новорожденного кролика культивировали 14 сут. в ростовой и дифференцировочной средах с добавлением коллагена I типа в условиях *in vitro* на титановых матрицах (ТТ), электрохимически покрытых нанотрубками (TiO₂) и допированных методом иммерсионного наполнения аморфизированным карбонатгидроксипатитом [Ca₁₀(PO₄)₃(CO₃)₃(OH)₂]. По данным сканирующей электронной микроскопии нанотрубки представлены полыми структурами диаметром до 50 нм, в которых выявляются частицы кальций фосфатов, в виде ветвящихся нанокристаллитов. Основная часть клеток проявляет морфологические признаки жизнеспособности и дифференцировки в остеогенном направлении. Характерными органотипическими структурами являются костные пластинки и трабекулоподобные образования. Пластинки представляют собой компактизированные коллагеновые фибриллы, склеенные в плоские ламеллы, которые расположены на верхнебоковых поверхностях клеток, имеют отверстия в центре и окружены матричными пузырьками. Морфологиче-