В ходе культивирования HepaRG образуют смешанную популяцию биллиарных клеток и гепатоцитов. Отсутствие HELIS в исходной культуре HepaRG и ее аккумуляция при дифференцировке клеток позволяет предположить ее непосредственное участие в этом процессе и вероятное значение для регенерации печени.

Финансирование исследования: работа поддержана грантом РНФ № 18-74-00120.

ОСОБЕННОСТИ УЧАСТИЯ КМБ-2 В РЕГУЛЯЦИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО ОСТЕОПОРОЗА

Александра Юрьевна Бурматова

Кафедра биохимии, Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

alex.burmatova@mail.ru

Введение. Иммобилизационный остеопроз (ИОП) — снижение минеральной плотности костной ткани вследствие длительной иммобилизации. Актуальность изучения механизмов регуляции посстравматической регенерации костной ткани в условиях ИОП обусловлена тем, что на фоне ИОП увеличивается длительность сроков сращения, исходы лечения часто оказываются неудовлетворительными (В.С Оганов, 2009, С.В. Гюльназарова, 2014). Представляет интерес исследование костного морфогенетического белка 2 (КМБ-2), одного из основных регуляторов остеогенеза, в процессе репарации костной ткани в условиях ИОП.

Материал и методы. Путем ампутации кости голени правой задней конечности 10-ти крысам-самцам линии Вистар моделировали ИОП. На 90 сутки после ампутации (когда был сформирован ИОП) производили перелом большеберцовой кости левой задней конечности (малоберцовая кость при этом выступала в роли естественной шины). Группа сравнения — 10 здоровых крыс линии Вистар, которым также производили перелом большеберцовой кости. На 14 и 30 сутки после травмы животных выводили из эксперимента и в костных гомогенатах большеберцовых костей травмированной и интактной конечностей определяли концентрацию КМБ-2 в пересчете на грамм белка.

Результаты. На 14 сутки после перелома уровень КМБ-2 в травмированной конечности здоровых животных был значимо выше в 2,1 раза ($p \leq 0,01$), чем у животных с ИОП. При этом уровень КМБ-2 в травмированной конечности по сравнению с интактной в группе здоровых животных отличался в 3,7 раза, а в группе животных с ИОП в 1,45 раза ($p \leq 0,05$).

Уровень КМБ-2 на 30 сутки после перелома в травмированной конечности животных без ИОП был значимо выше в 2,36 раз, чем у животных с ИОП ($p \leq 0,01$). Концентрация КМБ-2 у здоровых животных была в 1,84 раза выше в травмированной конечности по сравнению с интактной ($p \leq 0,01$) (у животных с ИОП уровень КМБ-2 значимо не отличался).

Выводы. КМБ-2 на всех этапах репаративного остеогенеза является критически важным регулятором — стимулирует дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в остеогенном направлении, поддерживает активность остеобластов, контролирует минерализацию костного матрикса (R.N. Wang, 2014, J. Sun, 2015). Полученные данные свидетельствуют о значительном снижении участия КМБ-2 в процессе репаративного остеогенеза у животных с ИОП по сравнению со здоровыми животными как на стадии репарации, так и на стадии ремоделирования костной ткани, что во многом объясняет наблюдаемые в клинической практике случаи несращений переломов.

ФУНКЦИИ БЕЛКА IGFBP3 В КУЛЬТУРЕ СТАРЕЮЩИХ СТРОМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА: СЕКРЕЦИЯ, ИНТЕРНАЛИЗАЦИЯ, ПАРАКРИННАЯ ИНДУКЦИЯ СТАРЕНИЯ КЛЕТОК МИКРООКРУЖЕНИЯ

Елена Борисовна Бурова, Ирина Олеговна Васильева, Вера Владиславовна Кошеверова, Михаил Алексеевич Витте, Римма Сергеевна Каменцева, Алла Николаевна Шатрова

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

lenbur87@mail.ru

Преждевременное старение стволовых клеток, индуцированное в стрессовых условиях, в том числе при действии окислительного стресса, сопровождается появлением секреторного фенотипа, связанного со старением (senescence-associated secretory phenotype, SASP). Секретированные SASP факторы могут запустить программу старения в соседних нормальных клетках через паракринный механизм, способствуя распространению старения в популяции. В отношении стромальных стволовых клеток эндометрия человека (СКЭ), механизм регуляции секреции SASP факторов из старых клеток, а также их паракринная активность остаются недостаточно изученными. Ранее мы провели протеомный анализ секретома старых СКЭ и, прим.в методы биоинформатики, предположили роль одного из компонентов — белка IGFBP3 (Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 3) в индукции старения молодых клеток. В настоящей работе показано, что уровень секреции растворимого фактора IGFBP3 увеличивается в процессе H_2O_2-индуцированного старения СКЭ, зависит от исходной плотности культуры клеток, метода сбора кондиционированной среды (КС) и регулируется, в основном, активностью PI3K/Akt пути, в отличие от MAPK каскадов, вносящих минорный вклад. Для доказательства паракринного действия IGFBP3 применяли либо иммуноистощение КС по IGFBP3, либо добавление экзогенного белка. Среда старых клеток, истощённая специфическими антителами к IGFBP3, оказывала меньший эффект на старение молодых СКЭ, по сравнению с не модифицированной средой, и даже индуцировала их рост. Напротив, молодые клетки приобретали фенотип старения в ответ на пролонгированное действие экстраклеточного рекомбинантного IGFBP3, что было подтверждено увеличением доли SA-β-Gal позитивно окрашенных клеток и уменьшением экспрессии маркера CD146. Методом конфокальной микроскопии, используя маркеры ранних эндосом (EEA1) и поздних эндосом/лизосом (LAMP1), выявлена локализация экзогенного IGFBP3 в составе ранних эндосом, но не лизосом. Следовательно, интернализованный путём эндоцитоза IGFBP3 подвергается, скорее, рециклированию, чем деградации. Полученные результаты демонстрируют существенную роль IGFBP3 в паракринной индукции старения молодых клеток. Понимание молекулярных механизмов, регулирующих SASP-зависимое старение СКЭ, в перспективе должно способствовать более эффективному использованию этих клеток в качестве трансплантационного материала для регенерации повреждённых органов и тканей.

Поддержка: грант РФФИ № 19-04-00598.