

дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с ГКМП и здорового донора были получены кардиомиоциты. На 40 день дифференцировки кардиомиоциты с мутациями p.M659I в гене *MYH7* и p.R326Q в гене *MYBPC3* демонстрировали первые изменения в динамике потоков ионов кальция по сравнению с контрольными кардиомиоцитами. На 74 день дифференцировки в кардиомиоцитах с мутацией p.R326Q в гене *MYBPC3* было нарушено регулярное чередование процессов выброса и обратного захвата ионов кальция, увеличено время обратного захвата ионов кальция саркоплазматическим ретикуломом и повышена внутриклеточная концентрация ионов кальция в состоянии покоя. Выявленные нарушения динамики потоков ионов кальция в кардиомиоцитах с мутациями p.M659I в гене *MYH7* и p.R326Q в гене *MYBPC3* позволяют использовать полученные клетки для исследования молекулярных механизмов ГКМП.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-75-10039.

УРОКИНАЗНЫЙ РЕЦЕПТОР УЧАСТВУЕТ В АДГЕЗИИ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК СЕРДЦА К ВИТРОНЕКТИНУ

**Константин Владимирович Дергилев,
Зоя Ивановна Цоколаева, Ирина Борисовна
Белоглазова, Екатерина Сергеевна
Зубкова, Елизавета Израилевна Ратнер,
Елена Викторовна Парфенова**

*ФГБУ «НМИЦ Кардиологии» Минздрава России,
Москва, Россия*

doctorkote@gmail.com

Витронектин (Vn) является белком внеклеточного матрикса, который играет важную роль в эмбриональном развитии, а также репарации органов и тканей. Уникальной особенностью Vn является его способность специфически связывать различные биологические молекулы, включая урокиназный рецептор (uPAR), компоненты внеклеточного матрикса, рецепторы адгезии, ростовые факторы, и др., обеспечивая модуляцию поведения клеток.

Цель исследования: оценить экспрессию Vn в поврежденном сердце и исследовать его влияния на адгезионные свойства прогениторных клеток сердца (ПКС).

Методы. В работе использованы ПКС, полученные из миокарда мышей линий WT C57Bl6/129 и uPAR^{-/-} C57Bl6/129. Исследование экспрессии Vn в миокарде оценивали с помощью ПЦР РВ и иммуногистохимии. ПКС идентифицировали в миокарда с помощью метода иммунофлуоресцентного окрашивания с последующим количественным подсчетом в программе Image J. Ингибирование uPAR в ПКС из миокарда мышей дикого типа проводили с помощью антител ("R&D"). Уровень адгезии клеток исследовали с помощью Adhesion assay.

Результаты. Показано, что в острую стадию инфаркта миокарда происходит накопление Vn, который преимущественно локализуется в зоне повреждения и фактически отсутствует в неповрежденном миокарде. Начиная с 7 дня его распределение в сердце уменьшается и практически полностью исчезает через 2 недели, когда завершается формирование постинфарктного рубца. Первая неделя после острого ишемического повреждения наряду с накоплением Vn характеризуется аккумуляцией ПКС, которые преимущественно локализируются именно в области накопления витронектина. Учитывая эти данные, а также то, что Vn является одним

из лигандов uPAR, были проведены исследования влияния адгезии ПКС на Vn в зависимости от наличия или отсутствия uPAR. Установлено, что WT клетки проявляли более выраженную способность к адгезии на Vn, чем ПКС из миокарда мышей, нокаутированных по гену uPAR. Кроме того, ингибирование uPAR специфическими антителами на поверхности WT ПКС приводило к снижению их способности к адгезии и расщеплению на витронектиновом матриксе.

Полученные данные свидетельствуют о том, что экспрессия uPAR на поверхности ПКС может выступать в качестве регулятора их адгезионных свойств. Взаимодействие uPAR и Vn может быть как независимым от интегринов, так и являться следствием активации различных интегринов, тем самым модулируя выбор матрикса для взаимодействия, что может влиять на накопление ПКС в зоне повреждения после инфаркта.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-15-01368.

УРОКИНАЗНЫЙ РЕЦЕПТОР МОДУЛИРУЕТ ПОВЕДЕНИЕ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК СЕРДЦА И ОПРЕДЕЛЯЕТ ИХ РЕПАРАТИВНЫЕ СВОЙСТВА ПОСЛЕ ИНФАРКТА

**Константин Владимирович Дергилев,
Зоя Ивановна Цоколаева, Ирина Борисовна
Белоглазова, Екатерина Сергеевна
Зубкова, Елизавета Израилевна Ратнер,
Елена Викторовна Парфенова**

*ФГБУ «НМИЦ Кардиологии» Минздрава России,
Москва, Россия*

doctorkote@gmail.com

Прогениторные клетки сердца (ПКС) являются важным регулятором клеточного гомеостаза и участником репаративных процессов в сердце. Несмотря на многообещающие результаты доклинических и клинических исследований по трансплантации ПКС при инфаркте и хронической сердечной недостаточности механизмы регуляции функций этого типа клеток малоизучены. Известно, что урокиназный рецептор (uPAR), присутствующий на поверхности многих типов клеток, участвует в регуляции множества клеточных функций. Однако, его роль в регуляции репаративных функций ПКС не установлена.

Цель исследования: изучить влияние uPAR на устойчивость к апоптозу, пролиферативные свойства ПКС и их участие в репарации после инфаркта.

Методы. В работе использованы ПКС, полученные из миокарда мышей линии C57Bl6 с помощью метода эксплантаной культуры и последующей иммуномагнитной селекции. Оценку иммунофенотипа проводили с помощью проточной цитофлуориметрии. Подавление экспрессии uPAR выполняли с использованием shRNA лентивирусных частиц ("Santa Cruz") и последующей селекции на пуromицине. Оценка выживаемости клеток выполнялась MTT тестом, апоптоза — Caspase-Glo® 3/7 Assay System. Оценка репаративных свойств ПКС проводилась на модели инфаркта миокарда с последующей оценкой функции сердца с помощью эхокардиографии.

Результаты. Показано, что uPAR присутствует на поверхности большинства ПКС и его взаимодействие с лигандом (витронектином) увеличивает пролиферативный потенциал этих клеток. Подавление uPAR приводило к подавлению клонообразования и способности к делению как в присутствии витронектина, так и без него.