

С точки зрения манипулятивных свойств УФ-отверждаемые биоразлагаемые гидрогели наилучшим образом подходят для подобных задач. Поэтому был синтезирован маленированный хитозан и разработана методика получения УФ-отверждаемого гидрогеля на основе модифицированного хитозана и полиэтиленгликоль диакрилата. В качестве фотоинициатора использовали Irgacure 2959. Полученный таким образом гидрогель показал прочность свыше 200 кПа, а деформацию разрушения около 16%.

Полученные материалы были исследованы на *in vitro* и *in vivo* биосовместимость.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФ № 16-15-00298-П.

### КОРРЕКЦИЯ ОПОРНОЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ДЕФЕКТА КОСТНОЙ ТКАНИ ОСТЕОТРАНСПЛАНТАТОМ

Алла Михайловна Зайдман<sup>1</sup>, Александр Игоревич Шевченко<sup>2</sup>, Елена Леонидовна Строкова<sup>1</sup>, Аркадий Федорович Гусев<sup>1</sup>, Ирина Анатольевна Кирилова<sup>1</sup>, Владимир Михайлович Субботин<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна, Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup> Arrowhead Pharmaceuticals, Madison WI, and University of Pittsburgh, Pittsburgh PA, USA

AZaydman@niito.ru

Костная ткань в течении всего онтогенеза постоянно обновляющаяся система, которая обеспечивает образование опорной и гемопозитической ткани в необходимом количестве. В связи с этим восстановление структурной и функциональной целостности костной ткани является одним из приоритетных направлений регенераторной медицины.

Впервые путем остеогенной дифференцировки хондротрансплантата (патент № 2574942) создан предкостный трансплантат, который в культуральной среде проходит первичные стадии остеогенеза и минерализации (синтез остеоида и формирование матричных пузырьков).

В остеотрансплантате формируются сосудистые полости с эндотелиальной выстилкой, экспрессирующие фактор Виллебранда и изолектин В4. В матрике детектируются антиген CD 44, коллаген I типа, фибронектин, остеоонектин и остеоопонтин. В клетках экспрессируются гены: *Alp*, *On*, *Bsp*, *Runk*.

Канальцевая система метаболизма хондротрансплантата сменяется на оксигенетическую (сосудистую). Структурная композиция трансплантата подобна эмбриональной предкостной ткани на ранних стадиях остеогенеза.

Дальнейшие этапы дифференцировки остеогенный трансплантат проходит в реципиентном ложе под влиянием локальных и дистантных регуляторов, которые поступают через сформированные сосуды трансплантата. В трансплантате наблюдается пролиферация остеобластов, интенсивный ангиогенный остеогенез, на основе которого формируется органоспецифическая костная ткань, содержащая в межтрабекулярных промежутках миелоидный костный мозг. Этот факт свидетельствует о полной интеграции остеотрансплантата с организмом реципиента.

**Заключение.** Пластическое замещение дефекта костной ткани остеотрансплантатом приводит к коррекции как опорной, так и метаболической функции бывшего дефекта.

### РАЗРАБОТКА КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ СОСУДОВ

Ирина Сергеевна Захарова<sup>1-3</sup>, Мария Константиновна Живень<sup>1-3</sup>, Елена Сергеевна Ступникова<sup>4</sup>, Александр Игоревич Шевченко<sup>1-4</sup>, Сурен Минасович Закиян<sup>1-4</sup>

<sup>1</sup> Лаборатория эпигенетики развития, ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup> Лаборатория молекулярной и клеточной медицины, НМИЦ им. Е.Н. Мешалкина Минздрава России, Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup> Лаборатория стволовой клетки, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия;

<sup>4</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

zakharova.is@gmail.com

Сердечно-сосудистые заболевания продолжают оставаться лидирующей причиной смертности и инвалидизации людей во всем мире. В данном исследовании в рамках разработки клеточных технологий для регенерации сосудов реализуются два направления: разработка подхода преодоления потенциальной туморогенности делящихся клеток при использовании в заместительной клеточной терапии и получение генетически модифицированных эндотелиальных производных с повышенным ангиогенным потенциалом.

В рамках первого направления разработан способ инактивации митотического деления эндотелиальных и гладкомышечных клеток, в результате которого они сохраняют свои морфо-функциональные свойства и ангиогенный потенциал *in vitro* и *in vivo*. При этом исследование туморогенного потенциала митотически инактивированных клеток на модели иммунодефицитных мышей SCID на протяжении 90 дней не выявило признаков образования опухолей.

В рамках второго направления получены линии плюрипотентных стволовых клеток (ПСК) человека, в которых с помощью метода CRISPR/Cas9 внесена делеция участка гена *INT6* — ингибитора фактора, индуцируемого гипоксией, HIF2a. В результате удалось получить ПСК с повышенной экспрессией *HIF2a* в нормоксических условиях. Полученные генетически модифицированные линии ПСК дифференцировали в эндотелиальном направлении. Делеция *INT6* и опосредованное отсутствием ингибитора повышение и стабилизация в нормоксических условиях HIF2a в ПСК человека привело к повышению эффективности мезодермальной и впоследствии эндотелиальной дифференцировки. В эндотелиальных производных генетически модифицированных ПСК выявлено повышение уровня экспрессии ряда ангиогенных факторов. Оценка ангиогенного потенциала показала, что количество сосудоподобных структур в генетически модифицированных субклонах более, чем в 3 раза превышает значения для контрольных линий. Таким образом, впервые показано, что генетически модифицированные ПСК человека с повышенной экспрессией *HIF2a* более эффективно дают эндотелиальные производные, обладающие повышенным ангиогенным потенциалом.

Оба направления исследований могут стать основой для разработки способов повышения ангиогенного потенциала васкулярных клеток и получения биомедицинских клеточных продуктов, применяемых для регенерации сосудов.

*Работа по разработке способа митотической инактивации клеток поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН, работа по направленной эндотелиальной дифференцировке ПСК поддержана грантом РФ № 17-75-10047.*

### **ИССЛЕДОВАНИЕ БИОИНТЕГРАЦИИ ПЕРИКАРДИАЛЬНЫХ БАРЬЕРНЫХ МЕМБРАН ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ**

**Алена Игоревна Звягина<sup>1</sup>, Ирина Сергеевна Фадеева<sup>1</sup>, Владислав Валентинович Минайчев<sup>1</sup>, Полина Олеговна Теплова<sup>1,2</sup>, Анатолий Сергеевич Сенотов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;

<sup>2</sup> ФГБУН Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

alennazvyagina@gmail.com

Изготовленные из перикарда барьерные мембраны (БМ) являются востребованным материалом в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Однако, результаты клинического применения этих материалов зачастую демонстрируют отсутствие желаемого эффекта и развитие связанных с БМ осложнений, причины которых до сих пор не изучены. Одновременно с этим, данные последних исследований указывают, что способность биоматериалов к интеграции с тканями реципиента является одним из основных факторов успешного восстановления дефектов.

Целью данной работы являлась оценка влияния основных компонентов и архитектоники внеклеточного матрикса (ВКМ) на биоинтеграцию перикардиальных БМ в модели гетеротопической имплантации крысам в динамике. По результатам эксперимента была выявлена специфика биоинтеграции экспериментальных коллагеновых и эластиновых БМ, изготовленных по разработанным авторами матрикс-сберегающим протоколам децеллюляризации (РФ № 2678966). В качестве контроля сравнения использовали коммерческие мембраны BioGide (Geistlich Biomaterials, Швейцария) и перикардиальные БМ ЦИТО им. Н.Н. Приорова (РФ № 2360690).

Группа экспериментальных образцов показала зависимость основных процессов биоинтеграции (степень репопуляции, неоваскуляризации и ремоделирования) от состава и архитектоники ВКМ БМ. Было показано, что эластиновый ВКМ способствует значительно более быстрой интеграции БМ с окружающими тканями реципиента, а также индуцирует интенсивную неоваскуляризацию в области имплантации. Коллагеновые БМ показали высокую степень сохранности структуры ВКМ даже на поздних сроках имплантации. При этом локализация процессов биоинтеграции зависела от специфической архитектоники полярных поверхностей материала. В контрольной группе индуцирующего эффекта на окружающие ткани обнаружено не было. Кроме того, на более поздних сроках имплантации наблюдалось развитие выраженной реакции организма на поврежденный ВКМ (признаки интенсивной утилизационной резорбции для материалов BioGide и развитие асептического кальциноза для материалов ЦИТО).

Таким образом, можно сделать вывод, что основной причиной развития негативных эффектов в организме является поврежденный в ходе предимплантационных работ ВКМ БМ. Кроме того, при условии сохранения

ВКМ, БМ могут оказывать индуцирующий эффект на процессы регенерации, обусловленный составом и спецификой архитектоники ВКМ БМ.

*Работа выполнена с использованием приборной базы ЦКП ИТЭБ РАН при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям.*

### **РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНОЙ XENO-FREE СИСТЕМЫ ДЛЯ ЭКСПАНСИИ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА**

**Алёна Васильевна Злацкая<sup>1</sup>, Наталья Михайловна Тодосенко<sup>2</sup>, Анжела Евгеньевна Родниченко<sup>1</sup>, Инна Михайловна Гордиенко<sup>3</sup>, Ольга Сергеевна Губарь<sup>4</sup>, Дмитрий Александрович Зубов<sup>1</sup>, Светлана Николаевна Новикова<sup>1</sup>, Лариса Сергеевна Литвинова<sup>2</sup>, Роман Геннадиевич Васильев<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Институт генетической и регенеративной медицины НАМН Украины, Киев, Украина

<sup>2</sup> Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

<sup>3</sup> Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина

<sup>4</sup> Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина

alenzlacka@gmail.com

Эндометрий человека является структурой, обладающей способностью к многократной полной регенерации и реорганизации за период репродуктивного возраста женщины (более 400 циклов). Даная способность обусловлена наличием в эндометрии пула стволовых/прогениторных клеток (эпителиальных, мезенхимальных, эндотелиальных и т. д.). Высокий пролиферативный и мультилинейный дифференцировочный потенциал, а также иммуномодулирующие свойства и стабильность генотипа при экспансии, делают эндометриальные мультипотентные мезенхимальные стволовые (стромальные) клетки (эММСК) перспективным объектом для использования в регенеративной медицине. Согласно текущим регуляторным требованиям, клиническое использование биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) на основе эММСК требует их производства в xeno-free условиях. Таким образом, разработка xeno-free протоколов культивирования является актуальной задачей на пути разработки и трансляции в клиническую практику БМКП на основе эММСК.

Образцы эндометрия (n = 10) были получены путем биопсии в пролиферативной фазе менструального цикла у женщин с гипоплазией эндометрия. Во всех случаях было подписано добровольное информированное согласие. Возраст пациентов составил 34±3,3 года. Фрагменты эндометрия были диссоциированы путем ферментативной обработки. Для изучения иммунофенотипа, времени удвоения клеточной популяции (PDT), спектра продуцируемых цитокинов, хемокинов, факторов роста и уровня экспрессии генов использовали клеточные культуры 3 пассажа. В эксперименте сравнивали морфофункциональные показатели культур эММСК in vitro, культивированных на общепринятой для ММСК ростовой среде на основе эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (контроль), а также на средах с 2% и 5%