таранной кости (3 пациента) и головки бедренной кости (5 пациентов). Восстановление дефектов кости наблюдалось через 6 месяцев после операции и оценивалось с помощью рентгенологического исследования. Результаты лечения можно клинически рассматривать, как: хорошие — формирование костной ткани с восстановлением целостности костных сегментов конечности в течение 4–6 месяцев после операции; удовлетворительные — пациенты, у которых произошел частичный лизис эквивалента в зоне трансплантации, но костная ткань сформировалась; а также пациенты, у которых произошла задержка (более 6 месяцев) формирования костной ткани после операции; неудовлетворительные — пациенты, у которых произошел полный лизис 3D-ТИЭК. Гистологический анализ образцов с хорошими результатами лечения, полученных через 3 месяца после операции, выявил формирование незрелой костной ткани.

Разработанный нами биомедицинский клеточный продукт (3D-ТИЭК) показал высокую клиническую эффективность при восстановлении костных дефектов критического размера с высокоэнергетическим механизмом травмы и при лечении аваскулярных некрозов головки бедренной кости и таранной кости. Использование 3D-ТИЭК стимулирует репаративный остеогенез, позволяет восстановить целостность поврежденной кости, сформировать костную ткань в месте дефекта и значительно сократить период реабилитации пациента.

ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СФЕРОИДОВ ИЗ МЕЛАНОЦИТОВ В КАЧЕСТВЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ IN VITRO

Ирина Михайловна Зурина[1–3], Анастасия Алексеевна Горкун[1–3], Екатерина Витальевна Джуссоева[1], Настасья Владимировна Кошелева[1, 3, 4], Тамара Дмитриевна Колокольцова[1, 3], Ирина Николаевна Сабурина[1, 3]

[1] *ФГБНУ НИИ Общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия;*
[2] *Институт регенеративной медицины, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;*
[3] *ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;*
[4] *Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

izurina@gmail.com

Пигментация кожи является результатом синтеза меланина в меланоцитах. Нарушение регуляции этого процесса может привести к потере или усилению пигментации. Разработка и тестирование препаратов для контроля пигментации кожи требует использования простых моделей in vitro. В монослойных культурах длительное поддержание функциональной активности клеток затруднено. 3D культивирование клеток в виде сфероидов, напротив, позволяет сохранять их первоначальный фенотип и функциональность. Целью настоящего исследования стало получение и характеристика сфероидов из меланоцитов и сравнение их свойств как модели с коммерческим эквивалентом кожи.

Исследование проводили на культуре меланоцитов кожи человека (CELL Applications) и тканевых эквивалентах кожи Меланодерм (MatTek Corporation). Клетки культивировали в монослое до 4 пассажа, далее помещали в агарозные планшеты с микролунками (Microtissue, США). Меланодерм культивировали на специальных вставках в планшеты. Культивировали сфероиды и Меланодерм либо в ростовой среде, либо в присутствии фукоксантина (осветляющий агент в косметологии) в течение 7 сут., затем анализировали методами фотометрии, иммуноцитохимии и ПЦР в реальном времени.

В 2D культуре клетки синтезировали меланин, его количество снижалось к 4 пассажу. В 3D условиях меланоциты формировали компактные структуры — сфероиды, в которых количество меланина увеличивалось в течение 7 суток. Экспрессия транскрипционных факторов, регулирующих меланогенез, gp100 и MITF в клетках сфероидов увеличивалась, достигая максимума к 7 суткам. Экспрессия Sox10 увеличивалась незначительно. Кроме того, была выявлена экспрессия генов фермента меланогенеза тирозиназы (TYR) и рецептора, регулирующего синтез меланина, MCR1, которая сохранялась на протяжении 7 суток культивирования. Таким образом, в сфероидах поддерживалась функциональная активность меланоцитов, сравнимая по выраженнсти с многослойным эквивалентом кожи.

Культивирование сфероидов из меланоцитов и эквивалентов в присутствии фукоксантина приводило к снижению уровня меланина, уменьшению экспрессии gp100, MITF и TYR, ингибируя созревание меланосом и синтез меланина.

Полученные данные свидетельствуют о том, что 3D система культивирования способна в течение длительного времени поддерживать функциональную активность меланоцитов. Сфероиды могут быть использованы в качестве удобной и доступной тест-системы для исследования эффективности лекарственных препаратов, а также как клеточные модули для тканевой инженерии эквивалентов кожи.

ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ СЕНСИТИЗАЦИЯ АЛЬФА1А-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СЕРОТОНИНА В МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

Анастасия Михайловна Иванова, Вадим Игоревич Чечехин, Петр Алексеевич Тюрин-Кузьмин, Наталья Игоревна Калинина

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

ivanovanastasia14@gmail.com

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) входят в состав соединительной ткани и играют ключевую роль в процессах ее репарации, регенерации и поддержании гомеостаза. Данные клетки, секретируя множество паракринных факторов, регулируют множество функций ткани, а также способны дифференцироваться в остеобласты, хондробласты, адипоциты и миоциты. Ключевыми регуляторами функциональной активности МСК являются серотонин и норадреналин. Ранее мы показали, что норадреналин регулирует функциональную активность МСК, изменяя их чувствительность к норадреналину при помощи феномена гетерологической сенситизации α*1A*-адренорецепторов. При стимуляции сигнального пути β-адренорецепторы/*Gs*-белок/аденилатциклаза/*cAMP*происходит транзиторное повышение уровня экспрессии α*1A*-адренергических рецепторов и их сопряжение с кальций-зависимой внутриклеточной сигнализацией. Как следствие, через 6 часов после стимуляции МСК норадреналином наблюдается повышение чувствительности клеток к этому гормону.

В данной работе мы изучали, как влияют такие нейромедиаторы, как серотонин и норадреналин, на функциональную активность МСК. На первом этапе выяснили, какие изоформы рецепторов норадреналина и серотонина, сопряженные с *Gs*-белком и синтезом цАМФ, экспрессируются в МСК. Методом ПЦР мы установили, что в МСК экспрессируются мРНК рецепторов серотонина (*HTR6*, *HTR7*), и на уровне белка β1-, β2- и β3-адренорецепторы. Для выяснения потенциала регуляции гормональной чувствительности клеток мы стимулировали МСК серотонином или норадреналином и через 6 часов анализировали их чувствительность к норадреналину. Мы установили, что серотонин подобно норадреналину транзиторно повышает число клеток, отвечающих на норадреналин. Путем вестерн-блоттинга мы установили, что через 6 часов после стимуляции серотонином в МСК повышается уровень экспрессии *α1A*-адренорецепторов. Также мы показали с помощью ингибиторного анализа и ИФА, что серотонин и норадреналин имеют различные сигнальные механизмы гетерологической сенситизации. В случае норадреналина повышение экспрессии *α1A*-адренорецепторов не связано с активацией *CREB* и *EPAC*.

Таким образом, сопряжение адренергических рецепторов с кальциевой сигнализацией за счет повышения уровня экспрессии *α1A*-адренорецепторов в МСК при действии серотонина регулируется путем *HTR6/Gs*-белок/аденилатциклаза/*cAMP/PKA/CREB* и *EPAC*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00421 (ингибиторный анализ и кальциевая сигнализация).

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ И СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЕ ПАЦИЕНТОВ С ХСН ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ

Оксана Алексеевна Иванова[1,2], Елена Владимировна Игнатьева[1], Татьяна Александровна Лелявина[1], Виктория Леонидовна Галенко[1], Маргарита Юрьевна Комарова[1,3], Мария Юрьевна Ситникова[1], Анна Александровна Костарева[1], Алексей Александрович Сергушичев[2], Рената Игоревна Дмитриева[1]

[1] *ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;*

[2] *Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия;*

[3] *Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия*

astroksana@gmail.com

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является одним из самых распространённых заболеваний в мире. Одним из следствий ХСН является потеря функциональности мышечной ткани, характеризующееся атрофией, изменением типа миофибрилл, нарушением метаболизма. С другой стороны, физические упражнения являются эффективным методом лечения больных ХСН и повышения толерантности к физической нагрузке. Однако, молекулярные механизмы, ответственные за восстановление скелетной мускулатуры при физических упражнениях остаются неизвестными. Цель работы — исследовать дифференциальную экспрессию генов и сигнальные пути в мышечной ткани пациентов с ХСН, прошедших физическую реабилитацию.

Методы. Биопсии скелетной мускулатуры трех пациентов были собраны до и после 12 недельного периода упражнений (6 шт.). Из образцов была выделена РНК и секвенирована на Illumina MiSeq. Полученные данные были обработаны в R Studio с использованием пакетов DESeq2 для анализа дифференциальной экспрессии генов (ДЕГ) до и после физических упражнений и fgsea для анализа сигнальных путей; контроль частоты ложных открытий (FDR) был 0.1. В качестве клеточной модели регенерации скелетной мускулатуры была выбрана линия миобластов C2C12; мышечная дифференцировка запускалась средой с 2% лошадиной сывороткой; РНК была выделена на д0 и д4 и секвенирована. ДЕГ, найденные в мышечной ткани пациентов с ХСН и клеточной модели сравнивались между собой.

Результаты. Физические тренировки пациентов с ХСН привели к повышению толерантности к физической нагрузке. РНК-секвенирование биопсий выявило 26 сигнальных путей, активированных после физических упражнений. Обнаруженные ДЕГ и пути отвечают за активацию регенерации мышечной ткани, дифференцировку стволовых клеток (MEF2, MyoD, HSP90, IER5), сокращение и релаксацию мышц (MYH7, ACTA1, TNNT1, MYOM1), структуру миофибрилл (ACTB, ACTG1, GSC, FLNC, PLEC, KLHL40), механотрансдукцию (CYR61), функции митохондрий (SLC25A4, NDUFS3, LYRM7, ND6). Клеточная модель для исследования регенерации скелетной мускулатуры C2C12 показала активацию таких же сигнальных путей при запуске дифференцировки; экспрессия ДЕГ, найденных в мышцах пациентов, была также повышена в дифференцированных миобластах C2C12. Данная работа описывает дифференциальную экспрессию генов и сигнальные пути в скелетной мускулатуре пациентов с ХСН, прошедших физическую реабилитацию.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 16-15-10178-П.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ СИНАПТИЧЕСКИЕ БЕЛКИ В СПИННОМ МОЗГЕ, В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПОГРАВИТАЦИИ НА ЗЕМЛЕ

Андрей Александрович Измайлов, Максим Сергеевич Кузнецов, Артур Николаевич Лисюков, Ильнара Альбертовна Бикмуллина, Константин Дмитриевич Волков, Филип Олегович Фадеев, Рустем Робертович Исламов

Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

gostev.andrei@mail.ru

В недавних исследованиях выявлены значимые морфологические и функциональные изменения в спинном мозге, развивающихся в условиях гипогравитации во время космического полета. Наиболее широко используемой моделью для изучения влияния эффектов невесомости на Земле является модель антиортостатического вывешивания, которая воспроизводит эффекты безопорности для заднего пояса конечностей грызунов.

В настоящем исследовании была изучена экспрессия генов, кодирующих синаптические белки возбуждающих (холинергической [Chat, Chrm1], глутаматергической [Slc17a7, Grin2a]) и тормозных (глицинергической [Glra1, Glyt2] и ГАМКергической [Gad67, Gabra2]) нейромедиаторных систем в шейном и поясничном отделах спинного