

### **ДОСТАВКА СПЕЦИФИЧНЫХ МЕМБРАННЫХ РЕЦЕПТОРОВ В КЛЕТКИ-МИШЕНИ С ПОМОЩЬЮ ИСКУССТВЕННЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ**

**Сирина Василевна Курангалеева, Ольга Андреевна Неустроева, Альберт Анатольевич Ризванов, Марина Олеговна Гомзикова**

*Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия*

kurbangaleeva\_s@mail.ru

Клеточная терапия на основе мезенхимных стволовых клеток (МСК) несет большие риски. Однако везикулы, высвобождаемые МСК, имеют на поверхности те же рецепторы, что и родительские клетки и обладают тем же терапевтическим эффектом. Более того, они несут рисков онкотрансформации и являются безопасным терапевтическим инструментом. Метод, разработанный Pick *et al.*, позволяет получить индуцированные микровезикулы (МВ) с помощью цитохалазина В (ЦВ) в большом количестве, за счет блокировки полимеризации актиновых микрофиламентов цитоскелета. МВ-ЦВ являются перспективным вектором для доставки различных лекарственных веществ и наночастиц. Наличие клеточных мембран, которым окружены МВ-ЦВ, обеспечивают более естественный подход к задачам инкапсуляции и доставки *in vivo*.

Естественные микровезикулы могут переносить растворимые факторы, а также поверхностные рецепторы путем слияния цитоплазматических мембран. Однако способны ли искусственные микровезикулы, полученные с помощью цитохалазина В, к доставке специфичных мембранных рецепторов в клетки-мишени исследовано до настоящего времени не было. Поэтому мы оценили перенос поверхностного рецептора, специфичного для МСК, к клеткам-реципиентам HEK293FT, у которых отсутствует экспрессия выбранного рецептора, с помощью искусственных микровезикул.

МВ-ЦВ были получены из МСК, выделенных из жировой ткани человека. Морфологию и размер МВ-ЦВ МСК человека анализировали с помощью сканирующей электронной микроскопии. МВ-ЦВ МСК имели сферическую структуру и размеры от 100 до 2600 нм. Однако основная часть (89,36%) входила в диапазон от 100 до 1200 нм.

Клетки HEK293FT предварительно окрашивали флуоресцентным мембранным красителем DiO и культивировали в течение 24 часов с DiD-мечеными МВ-ЦВ МСК. Экспрессия CD90 (Thy-1) была выбрана для демонстрации переноса рецептора, поскольку она специфична для МВ-ЦВ МСК и отсутствует на клетках HEK293FT. Экспрессию CD90 анализировали с использованием лазерного сканирующего конфокального микроскопа Zeiss LSM 780 и проточной цитофлуориметрии BD FACS Aria III. Мы обнаружили, что мембраны МВ-ЦВ МСК и HEK293FT слились, и поверхностный рецептор CD90 был перенесен на клетки HEK293FT. Мы определили, что 99,14% клеток-реципиентов HEK293FT приобрели CD90<sup>+</sup> иммунофенотип.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что МВ-ЦВ МСК переносят поверхностные рецепторы к клеткам-реципиентам HEK293FT.

*Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда № 18-75-00090.*

### **СТРУКТУРНЫЕ И МЕХАНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, БИОСОВМЕСТИМОСТЬ, БИОДЕГРАДАЦИЯ И ТКАНЕВАЯ РЕАКЦИЯ НА ИМПЛАНТАЦИЮ КОЛЛАГЕНОВЫХ СКАФФОЛДОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

**Александр Витальевич Курков<sup>1</sup>, Анна Евгеньевна Гуллер<sup>1,2</sup>, Леонид Прокофьевич Истранов<sup>1</sup>, Елена Викторовна Истранова<sup>1</sup>, Семен Николаевич Чурбанов<sup>1</sup>, Петр Сергеевич Тимашев<sup>1</sup>, Денис Викторович Бутнару<sup>3</sup>, Анатолий Борисович Шехтер<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Институт регенеративной медицины, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия;*

<sup>2</sup> *Высшая школа биомедицинской инженерии, Университет Нового Южного Уэльса, Сидней, Австралия;*

<sup>3</sup> *Научно-Технологический Парк Биомедицины, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия*

a.shehter@yandex.ru

**Введение.** На сегодняшний день в медицине остро стоит вопрос о разработке адекватных тканеинженерных конструкций. Использование скаффолдов на основе коллагена является перспективным направлением регенеративной медицины. Мы проводили изучение структуры и механических свойств, биосовместимости, биодеградации и тканевой реакции при имплантации *in vivo* 14 оригинальных скаффолдов на основе коллагена для тканевой инженерии.

**Методы.** Изучены пористые материалы, реструктурированные из растворов коллагена, гибридные скаффолды из коллагена и викариловой сетки, подслизистая основа тонкой кишки (SIS) свиней, а также — дерма кожи коров и лошадей, перикард, стенки артерии и вены, мочевого пузыря, мочеоточника и уретры, децеллюляризованные с помощью фермента «Терролитина» и лиофилизированные. Из гибридного скаффолда и стенок артерий формировали протезы, которые имплантировали в дефекты уретры у 10 кроликов. Остальные скаффолды имплантировали подкожно и на раневую поверхность 245 крысам. Животных выводили из эксперимента на сроки от 5 до 90 суток. Образцы нативных и имплантированных скаффолдов с окружающими тканями изучали с помощью гистологических методов, нелинейно-оптической, сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии. Кроме того, исследовали механические свойства скаффолдов до имплантации.

**Результаты.** Все изученные нами скаффолды показали хорошую биосовместимость и отсутствие реакции отторжения. Биодеградация коллагена в их составе сопровождалась его макрофагальной и гигантоклеточной резорбцией с замещением материала сначала грануляционной, а затем — зрелой соединительной тканью. Сроки биодеградации скаффолдов различались (от 10 суток до 3 месяцев), что было связано с особенностями молекулярной и надмолекулярной структуры коллагена и коррелировало с их биомеханической прочностью.

**Обсуждение.** Полученные результаты указывают на то, что децеллюляризованные ткани и гибридный скаффолд полностью соответствуют требованиям тканевой инженерии в разных сферах регенеративной медицины, в том числе — для протезирования трубчатых органов. Пористые коллагеновые скаффолды с клетками и без клеток оптимальны для раневых покрытий, тампонад, пластики мягких тканей и в тех случаях, когда не требуется механическая прочность и длительное время резорбции.