

с контролем и добавлением того же количества рекомбинантных факторов в отдельности. Для выяснения механизма усиления отрастания нейритов было проведено исследование влияния факторов на фосфорилирование рецептора HGF c-met и активацию ERK1/2 киназ в клетках нейробластомы Neuro2A методом иммуноблоттинга. В результате, предполагаемым механизмом синергичного действия HGF и GDNF является усиление активации митогенного сигнального каскада, опосредуемого протеинкиназами ERK1/2, в результате трансактивации рецептора c-met в присутствии комбинации факторов.

Использование комбинации HGF и GDNF может лечь в основу разработки эффективных методов восстановления функции периферического нерва, нарушенной в результате травматического и ишемического повреждения.

Работа поддержана грантом грант РФФИ № 18-015-00430.

РАЗРАБОТКА ЭЛАСТИНОВЫХ БАРЬЕРНЫХ МЕМБРАН ДЛЯ НАПРАВЛЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ. ОЦЕНКА СТЕПЕНИ БИОСОВМЕСТИМОСТИ IN VITRO

Анастасия Дмитриевна Монакова^{1,2}, Анастасия Евгеньевна Бодягина³, Аида Фазилевна Муляр³, Алена Игоревна Звягина¹

¹ ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;

² ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³ ФГБОУ ВО Тульский государственный университет, Тула, Россия

monakova_ad@mail.ru

Использование барьерных мембран (БМ) для направленной регенерации тканей в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии является доминирующим. Однако данный тип материалов до сих пор не способен обеспечить все необходимые условия для полноценного восстановления дефектов, в связи с чем некоторые процедуры, такие как, например, аугментация десневого лоскута, до сих пор трудноосуществимы. Одним из возможных вариантов решения данной проблемы может стать разработка биоактивных БМ на основе эластинового внеклеточного матрикса.

Целью данной работы стало исследование и сравнение эффективности двух различных методов выделения эластина из ксеногенной аорты с целью их дальнейшей оптимизации для изготовления эластиновых БМ. Для этого были отобраны методы, которые позволяют выделить эластиновый компонент внеклеточного матрикса, при условии максимального сохранения структуры эластиновых фибрилл. На основе полученных материалов были сформированы 2 экспериментальные группы: материалы, обработанные цианогенбромидом (Lu Q. et al, Biomaterials. 2004), далее группа ЦГБр; и с помощью автоклавирования — группа АВТ (Lillie M.A. et al, Connect Tissue Res. 1998). Для определения эффективности отобранных методов было проведено *in vitro* исследование цитотоксичности, а также измерение остаточного ДНК донора в полученных материалах.

Анализ эффективности удаления ДНК показал, что обработка автоклавированием приводит к удалению 69±11% ДНК донора. Однако среднее значение ДНК в данных материалах все еще превышало максимально допустимое значение в 50 нг/мг ткани. Обработка цианогенбромидом

показала большую эффективность: количество ДНК донора в ткани после обработки составляло 10,6±2,2 нг/мг ткани. Однако *in vitro* исследование цитотоксичности показало, что материалы группы ЦГБр токсичны для клеток, так как процент погибших клеток на четвертые сутки инкубации составил 74±6% относительно контроля. В то время как в группе АВТ цитотоксический эффект не наблюдался: выживаемость клеток составила 87±4%.

Полученные результаты говорят о том, что обработка цианогенбромидом не подходит для получения эластиновых БМ, поскольку оказывает цитотоксический эффект на клетки. Обработка автоклавированием является более оптимальной, однако требует дополнительной модификации, поскольку недостаточно хорошо удаляет ДНК из донорской ткани.

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

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРЕКСИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА КРЫСЫ ПОСЛЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ

Ирина Юрьевна Морина, Елена Викторовна Михайлова, Ирина Владимировна Романова

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

irinamorina@mail.ru

Орексины (А и В) или гипокритины — пептиды, которые образуются в нейронах периферической области гипоталамуса в результате ферментативного расщепления молекулы-предшественника — препро-орексина (Sakurai, 1998; de Lecea, et al., 1998). Первоначально функциональное значение орексинов связывали с регуляцией пищевого поведения и энергетического баланса, бодрствования и пробуждения. В настоящее время показано участие этих пептидов в контроле и других функций мозга, а также широко обсуждается роль орексинов в эмбриогенезе как факторов морфогенеза (Ito et al., 2008; Bjornstrom, et al., 2014; Bakos, et al., 2016).

Цель исследования: оценить иммунореактивность орексина в гипоталамической области рядом с зоной ишемического поражения, которая была определена с помощью МРТ, на третьи сутки после 45 мин. окклюзии сонной артерии у крыс линии Вистар (Shevtsov M.A. et al., 2014; n=5) и после ишемии-реперфузии (n=4).

Использованы методы иммуногистохимии (методика с использованием биотин-стрептавидин-диаминобензидина). На фронтальных срезах мозга крысы, изготовленных с помощью криостата, проведено иммуногистохимическое исследование с помощью антител мыши против орексина-А (R&Dsystems) и вторичных антител козы против мыши, конъюгированных с биотином (VectorLabs.). На микрофотографиях, полученных с помощью микроскопа Carl Zeiss, проведен количественный анализ иммунопозитивного орексина-А в нейронах и в отростках. После фокальной ишемии рядом с областью поражения выявлено увеличение уровня орексина-А в нейронах (в 2 раза, p<0,05), а также в отростках, локализованных в преоптической области со стороны поражения, непосредственно вокруг пораженного участка коры больших полушарий, а также в области гиппокампа по сравнению с ложнопериоперированными крысами. После ишемии-реперфузии также отмечено