

в аспириате) и высокая (диффузная ИНФ КМ, 6–82% ПК в аспириате). Определяли следующие параметры МСК: иммунофенотип, пролиферативную активность, способность к остеогенной дифференцировке, наличие признаков опухоли-ассоциированного фенотипа (синтез гладкомышечного актина ( $\alpha$ -ГМА),  $\beta$ -галактозидазы ( $\beta$ -gal)). Для оценки влияния клеток миеломы на свойства МСК проводили бесконтактное сокультивирование с клетками линии RPMI-8226, после чего определяли концентрацию цитокинов (IL-10, IL-6, VEGF) в культуральной среде.

Иммунофенотип МСК КМ пациентов с ММ не отличался от иммунофенотипа МСК КМ ЗД, однако показано снижение пролиферативного потенциала (в среднем в 2,4 раза). Отмечалось снижение остеогенного потенциала МСК КМ пациентов с ММ по сравнению с МСК ЗД. Прослеживалась корреляция с типом ИНФ КМ: культуры МСК КМ пациентов с ММ с низкой степенью ИНФ сохраняли способность к остеогенной дифференцировке, культуры МСК КМ пациентов с высокой степенью ИНФ КМ показали снижение по этому параметру.

По сравнению с ЗД при ММ происходит увеличение уровня синтеза  $\alpha$ -ГМА, причём при низкой степени ИНФ КМ количество положительных культур составляет 25%, а при высокой — 75%. Цитокиновый профиль МСК КМ после сокультивирования с миеломными клетками различался в зависимости от тяжести заболевания.

У больших ММ нарушения структурной организации гемопозитической ниши и функциональных свойств МСК могут быть ключевыми факторами неопластической трансформации лимфоидных предшественников.

*Работа поддержана Грантом Президента РФ № МК-6706.2018.7, РФФ 15-15-20026.*

### **3D-ЭКСПЛАНТНАЯ КУЛЬТУРА СПИНАЛЬНОГО ГАНГЛИЯ МЫШИ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ НЕЙРОТРОФИНОВ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ**

**Екатерина Владимировна Семина<sup>1</sup>, Полина Сергеевна Климович<sup>1</sup>, Ксения Андреевна Рубина<sup>2</sup>, Всеволод Арсеньевич Ткачук<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

lex2050@mail.ru

Нейротрофины играют ключевую роль в развитии, дифференцировке, выживаемости нейронов и регенерации нервов. В настоящем исследовании, используя 3D модель эксплантной культуры спинальных ганглиев (СГ) мышей GFP-nestin в Матригеле, мы сравнили влияние нейротрофинов NGF, BDNF и GDNF на рост аксонов и миграцию GFP-nestin клеток из СГ. Мыши GFP-nestin, у которых нейральные предшественники экспрессируют nestin и зеленый флуоресцентный белок GFP под одним промотером, были любезно предоставлены нам Г. Ениколоповым (Grigori N. Enikolopov, Renaissance School of Medicine, Stony Brook University, NY). Разработанный нами метод является удобной моделью для оценки влияния растворимых факторов и терапевтических агентов на рост и регенерацию нервов в R&D исследованиях. Анализируя экспланты в течение 21 дня, можно оценить скорость роста и миграцию клеток из эксплантов в Матригель. Спинальные ганглии GFP-nestin мышей высаживали в каплю Матригеля, в который дополнительно добавляли нейротрофины,

и культивировали 14 дней. Используя иммунофлуоресцентное окрашивание эксплантов (whole 3D mount assay) и конфокальную микроскопию (Leica SP) для трехмерной визуализации, оценивали количество аксонов и число мигрировавших GFP-nestin клеток. Аксоны красили антителами к NF200, ядра клеток докрашивали DAPI.

Было обнаружено, что GDNF достоверно стимулирует рост аксонов (в 2 раза,  $p < 0,05$ ) из СГ, но не BDNF и NGF, по сравнению с контролем. Известно, что регенерация аксонов стимулируется также за счёт активных глиальных клеток, которые выполняют трофическую функцию для регенерирующих нервов, поэтому далее мы анализировали число GFP-nestin клеток, мигрировавших из СГ в Матригель. Обнаружено, что NGF и GDNF, но не BDNF, значительно стимулируют миграцию GFP-nestin клеток по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Результаты позволяют сделать вывод о том, что наибольшей способностью стимулировать регенерацию аксонов обладает GDNF, так как именно он стимулирует не только рост аксонов, но и миграцию глиальных клеток. Эффект NGF хоть и выражен в стимуляции миграции глиальных клеток, тем не менее, оказывается недостаточным на регенерации аксонов.

*Исследование выполнено за счет гранта РФФ (проект № 19-75-30007).*

### **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ УРОКИНАЗНОЙ СИСТЕМЫ В НАПРАВЛЕННОМ РОСТЕ АКСОНОВ, ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ И ВЫЖИВАЕМОСТИ НЕЙРОНОВ И РЕГЕНЕРАЦИИ НЕРВОВ**

**Екатерина Владимировна Семина<sup>1</sup>, Ксения Андреевна Рубина<sup>2</sup>, Карина Дмитриевна Рысенкова<sup>1</sup>, Полина Сергеевна Климович<sup>1</sup>, Максим Николаевич Карагаур<sup>3</sup>, Всеволод Арсеньевич Ткачук<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

e-semina@yandex.ru

Полноценная регенерация повреждённых органов и тканей зависит не только от скорости восстановления сосудистой сети, но и от своевременной реиннервации. Урокиназная система, в которую входит протеаза урокиназа uPA и ее рецептор, uPAR, стимулирует ангиогенез, восстанавливая кровоток в ишемизированной области. Активная урокиназа запускает внеклеточный протеолиз и деградацию матрикса, облегчая, таким образом, направленную миграцию сосудистых и гладкомышечных клеток, а также активирует проангиогенные факторы роста и цитокины, задепонированные в матриксе, которые способствуют привлечению стволовых клеток и клеток-предшественников сосудов. Кроме того, связываясь на поверхности клеток со своим рецептором uPAR, урокиназа стимулирует внутриклеточную сигнализацию, ответственную за пролиферацию, миграцию и дифференцировку клеток. Все эти процессы в целом способствуют своевременному восстановлению утраченного кровотока в области травмы. Однако восстановление сосудов в повреждённой ткани