

в аспирате) и высокая (диффузная ИНФ КМ, 6–82% ПК в аспирате). 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

не является единственным условием для её регенерации, и для полноты этого процесса также необходимо восстановление иннервации повреждённого участка.

Недавно нами и другими авторами было показано, что экспрессия и активность урокиназы и её рецептора является важным условием для роста и регенерации нервов, и одновременно с классическими нейротрофными факторами и навигационными молекулами, эти белки стимулируют восстановление поврежденных нервов в области травмы. Мы показали, что введение гена uPA в область травмы стимулирует рост аксонов и способствует сохранению нервного волокна, а отсутствие гена uPAR нарушает траекторию роста аксонов и существенно препятствует регенерации нерва. Более того, блокирование uPAR нарушает нормальную траекторию роста аксонов и стимулирует их ветвление. Эти данные о роли рецептора урокиназы в регуляции траектории роста нервов впервые свидетельствуют о возможных навигационных свойствах урокиназной системы.

Активность и экспрессия урокиназной системы при восстановлении сосудов и нервов на сегодняшний день рассматривается как одно из главных звеньев при репарации органов и тканей. Развитие регенеративной медицины и трансплантологии делает актуальными исследования урокиназы и её рецептора в качестве новых подходов для стимуляции эндогенной регенерации органов и тканей, а также в качестве потенциальных терапевтических мишеней при лечении ишемических и неврологических расстройств.

*Исследование выполнено за счет гранта РФФИ (проект № 17-04-00386).*

### **МСК СПОСОБСТВУЮТ ПРОФИБРОТИЧЕСКИМ ИЗМЕНЕНИЯМ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПРИ ЛЛПМД**

**Олеся Олеговна Сербина<sup>1,2</sup>, Екатерина Владимировна Киселева<sup>2</sup>, Егор Сергеевич Васецкий<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> *Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;*

<sup>2</sup> *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;*

<sup>3</sup> *Institut de Cancérologie Gustave-Roussy, Villejuif, France*

olatyeva94@gmail.com

Лице-лопаточно-плечевая мышечная дистрофия (ЛЛПМД) является аутосомно-доминантным заболеванием, характеризующимся прогрессирующим ослаблением мышц и замещением мышечной ткани соединительной и жировой тканью (фиброзом). Основная форма ЛЛПМД ассоциирована с aberrантной экспрессией гена *DUX4*, обусловленной делецией в массиве повторов *D4Z4* на хромосоме 4q35. Ранее мы показали, что МСК активно мигрировали в направлении миобластов со сверхэкспрессией *DUX4* по сравнению с контрольной группой. Мы предполагаем, что в очаге поражения МСК могут мешать регенерации мышечной ткани и способствовать фибротическим изменениям.

В данной работе исследовали взаимодействие миобластов и МСК в *in vitro* модели ЛЛПМД.

Использовали культуры МСК жировой ткани, первичных (ПМ) и иммортализованных (ИМ) миобластов от здоровых и больных ЛЛПМД доноров (Институт митологии, Париж).

Мы показали, что факторы миобластов от пациентов с ЛЛПМД индуцируют миграцию МСК, по-видимому через *CXCL12-CXCR4* ось и стимулируют их пролиферацию. Так же миобласты от больных ЛЛПМД доноров стимулируют образование фиброзных узелков в культуре МСК. В условиях воспаления ЛЛПМД-миобласты стимулируют увеличение уровня синтеза и секреции коллагена МСК (в 1,3 и 2,1 раза соответственно).

МСК препятствуют дифференцировке миобластов, оказывая наибольшее влияние на ЛЛПМД миобласты в условиях прямого сокультивирования. Иммуноферментным методом показано, что секреторные МСК факторы увеличивают уровень синтеза и секреции VEGF в ИМ от здоровых доноров (в 5 и 14 раз соответственно) и не влияют на эти показатели в ИМ от больных доноров.

Таким образом, под влиянием миобластов МСК, мигрировавшие в очаг повреждения, пролиферируют и увеличивают продукцию коллагена. Кроме того, МСК ингибируют миогенную дифференцировку и влияют на экспрессию факторов, связанных с ангиогенезом. Такое взаимное влияние, вероятно, может быть одной из причин фиброза.

*Работа проводится в рамках темы Государственного задания ИБР РАН и Программы президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий»*

### **ДОЗАЗАВИСИМОЕ ВЛИЯНИЕ НЕЙРОВосПАЛЕНИЯ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ И МИГРАЦИОННУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК СУБВЕНТРИКУЛЯРНОЙ ЗОНЫ МОЗГА КРЫС**

**Валерий Георгиевич Сергеев, Виктор Михайлович Чучков, Татьяна Николаевна Сергеева**

*ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», Ижевск, Россия;*

cellbio@ya.ru

Факторы секретируемые в ходе нейровоспаления (цитокины, хемокины, трофические факторы, свободно-радикальные производные) оказывают существенное влияние на пролиферацию, выживание, дифференцировку и миграцию нейральных стволовых клеток (НСК). Ключевую роль в механизмах нейровоспаления играют микро- и астроглиальные клетки, которые, в зависимости от степени своей активации, могут секретировать противо- или провоспалительные факторы, оказывающие, как мы предполагаем, противоположный эффект на судьбу НСК. Для проверки этой гипотезы нами проведено исследование эффектов внутрижелудочкового введения разных доз бактериального липополисахарида (ЛПС) на экспрессию в латеральной субвентрикулярной зоне маркеров пролиферации и дифференцировки НСК (нестина, нейрон-специфической енолазы). Эксперимент проводили на 15 самцах линии Вистар, весом 280–320 г., содержащихся в стандартных условиях. Крысам экспериментальных групп при помощи стереотаксической установки вводили в правый латеральный желудочек 10 мкл физиологического раствора, содержащего ЛПС (*Escherichia coli*) в концентрациях 0,001 мкг/мл («малая доза») и 0,1 мкг/мл («большая доза»). Животным контрольной группы вводили аналогичный объем стерильного физиологического раствора. Через 5 дней животных декапитировали, мозг фиксировали в 4% растворе