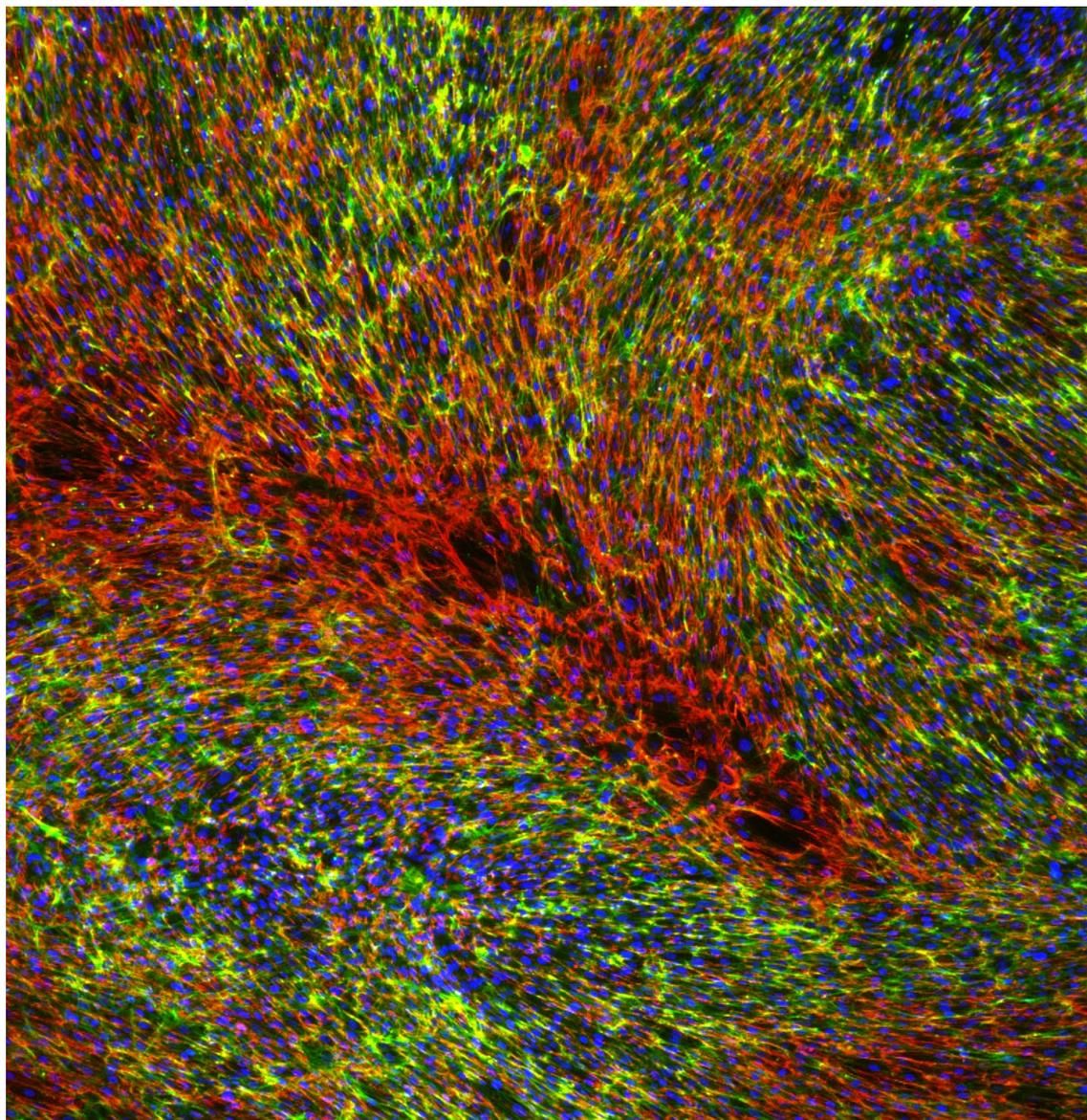


ISSN 2313-1829

Том XIV, Приложение, 2019

Гены & Клетки

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



**МАТЕРИАЛЫ IV НАЦИОНАЛЬНОГО КОНГРЕССА
ПО РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ**

Москва, 20–23 ноября 2019 года

www.genescells.ru

ИНСТИТУТ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

agile 12. Бактерии для синтеза ПОБ выращивали на жидкой среде Берка при минимальном уровне аэрации, для синтеза альгината — при максимальном. Выделение биополимеров из биомассы проводили после 48 ч культивирования.

Имплантируемая композитная конструкция состояла из пористой подложки на основе ПОБ в виде трубки длиной 2 см и диаметром 0,5 см, покрытой альгинатным гидрогелем. Конструкция была имплантирована крысам породы Вистар в область толстого кишечника. Через неделю было проведено вскрытие крыс и отбора биоматериала для метагеномного анализа.

Метагеномный анализ был проведен по гипервариабельному участку V4 гена 16S рРНК. ДНК амплифицировали праймерами F515 (GTGBCAGCMGCCGCGGTAA) и R806 (GGACTACHVGGGTWTCTAAT). Секвенирование было проведено на секвенаторе Illumina MiSeq. Обработка прочтений и анализ данных были проведены в программе QIIME. Анализ данных показал, что в дооперационных и послеоперационных образцах преобладали бактерии филума Firmicutes. Значимые количественные различия найдены на уровне рода — в опытных образцах проявляются вспышки 3 родов бактерий: *Ileibacterium*, *Lachnoclostridium*, *Faecalibaculum* и представителя *Christensenellaceae*; и наблюдается резкое уменьшение вплоть до исчезновения доли бактерий рода *Erysipelatoclostridium*.

Работа была поддержана Российским научным фондом, проект № 17-74-20104.

Литература:

1. Bonartsev A.P. et. al. Application of polyhydroxyalkanoates in medicine and the biological activity of natural poly(3-hydroxybutyrate). *Acta Naturae* 2019; 11(41): 4–16.

ОСОБЕННОСТИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ЛЕПТИНУ ЛОКАЛЬНЫХ ЖИРОВЫХ ДЕПО У ПАЦИЕНТОВ С ИБС И ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Юлия Александровна Дылева¹, Дарья Андреевна Бородкина^{1,3}, Ольга Викторовна Груздева^{1,2}, Екатерина Владимировна Белик¹

¹ Лаборатория исследования гомеостаза ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово, Россия;

² Кафедра медицинской биохимии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Кемерово, Россия;

³ Областной диабетологический центр Кемеровской области, «Кемеровская областная клиническая больница» им. С.В. Беляева, Кемерово, Россия

dyleva87@yandex.ru

Цель работы: определить особенности продукции лептина и его рецептора в подкожных, эпикардальных и периваскулярных адипоцитах у пациентов с ишемической болезнью сердца и пороками сердца.

Материалы и методы. В исследование включено 84 пациента с ишемической болезнью сердца и инфарктом миокарда в анамнезе и 50 пациентов с пороками сердца: 30 человек с врожденными пороками сердца (недостаточность аортального клапана) и 20 с приобретенными пороками сердца (на фоне ревматической болезни сердца, стеноз митрального клапана). Всем пациентам во время планового оперативного

вмешательства (аортокоронарного шунтирования или замены клапанов сердца), проводился забор адипоцитов эпикардальной (ЭЖТ) и подкожной жировой ткани (ПЖТ) и периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ) (в области маммакоронарного сосудистого пучка, который располагается в переднем средостении — восходящей частью аорты) с последующим культивированием и получением супернатанта. В супернатанте определения экспрессии генов лептина и его растворимого рецептора (SOB-R), а также содержания продуктов его экспрессии методом иммуноферментного анализа использовано тест-систем фирмы BioVendor (США). Расчет индекса свободного лептина (FLI) определяли по формуле: лептин/ SOB-R*100. Данные проанализированы с использованием пакета прикладных статистических программ Statistica 9.0.

Результаты. Установлено, что «метаболический» потенциал жировой ткани зависит от ее локализации. ЭЖТ характеризовалась более высокой экспрессией гена лептина по сравнению с ПЖТ. ЭЖТ независимо от нозологии заболевания характеризовались самой высокой концентрацией лептина в супернатанте. Адипоциты ПВЖТ, напротив, характеризовались наиболее низкой экспрессией гена лептина и содержанием его в супернатанте по сравнению с другими клеточными культурами. Так уровень мРНК гена лептина был в 2,1 раза выше в культуре эпикардальных адипоцитов по сравнению с подкожными. Несмотря на, это существенной разницы в концентрации самого лептина в супернатанте исследуемых культур найдено не было. Для ПВЖТ, было характерно самое высокое содержание мРНК и SOB-R, а также самый низкий FLI. Причем у пациентов с пороками сердца экспрессия мРНК SOB-R была в 1,58 раза интенсивнее, чем у пациентов с ИБС, хотя содержание самого рецептора в супернатанте достоверно не различалось.

Вывод. Таким образом, наличие ИБС формирование лептинорезистентности, особенно в ЭЖТ.

ГОМЕОБОКСНЫЙ ГЕМАТОПОЭТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ТРАНСКРИПЦИИ NHEX — НОВЫЙ РЕГУЛЯТОР АДИПОЦИТАРНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ.

Мария Николаевна Евсеева², Данияр Таалайбекович Дыйканов¹, Максим Николаевич Карагаур¹, Юрий Петрович Рубцов², Константин Юрьевич Кулебякин¹

¹ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия

mr.urfin-juice@yandex.ru

Ожирение является одной из наиболее распространенных проблем современной медицины и сопряжено с высоким риском развития сахарного диабета 2 типа и других патологий. В основе ожирения лежит нарушение процесса адипогенеза. К настоящему моменту молекулярные механизмы адипогенеза изучены недостаточно, а применение лекарственных препаратов (агонисты PPAR γ тиазолидиндионы), действующих на уже установленные регуляторы, сопряжено с возникновением множества побочных эффектов (*JAMA Intern. Med.* 2017 May 1;177(5)). Уточнение сигнальных каскадов и детальное изучение механизмов регуляции адипогенеза позволит создать препараты направленного действия с меньшим количеством побочных эффектов.

Недавно методом полногеномного исследования ассоциаций (GWAS) было обнаружено, что полиморфизмы в гене HHEX сопряжены с развитием диабета 2 типа и высоким индексом массы тела при рождении (World J. Diabetes. 2014 Apr 15; 5(2)). В данной работе исследована функция фактора транскрипции Hhex в регуляции адипогенеза в клеточной культуре мышинных преадипоцитов 3T3L1.

Результаты.

1. Нокдаун Hhex приводит к дозозависимому подавлению адипогенеза.

Для создания нокдауна клетки 3T3L1 трансфицировали siRNA к Hhex. Уменьшение количества белка оценивали с помощью иммуноблоттинга. siRNA, максимально подавляющие Hhex, были использованы для уменьшения количества Hhex в клетках 3T3L1 в процессе дифференцировки в адипоциты. В качестве контролей использовали клетки, трансфицированные олигонуклеотидом к мРНК люциферазы. Адипоцитарную дифференцировку индуцировали добавлением инсулина 1 мкг/мл, изобутилметилксантина 0,5 mM, дексаметазона 0,25 мкМ. Установили, что Hhex дозозависимо подавляет адипогенез в клетках 3T3L1.

2. Уровень белка и мРНК Hhex максимальны в первые 24 часа от начала адипоцитарной дифференцировки.

Для уточнения момента активации гена Hhex в ходе адипогенеза исследовали изменение уровня белка и мРНК Hhex через 24 ч, 30 ч, 36 ч, 48 ч, 72 ч с момента индукции адипогенеза. Достоверно показано, что уровни белка и мРНК Hhex максимальны через 24 часа с момента индукции адипогенеза.

Обсуждение. Мы показали, что Hhex дозозависимо подавляет адипогенез, действуя, по всей видимости, на ранних этапах дифференцировки, о чём свидетельствует кинетика уровней мРНК и белка. Возможно, Hhex участвует в индукции сигнальных каскадов, активных в момент наступления конfluентности клеток (первые 24–48 часов адипогенеза).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-015-00530.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ШИРОКОПОЛЬНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК С МАТРИЦАМИ-НОСИТЕЛЯМИ НА ЭТАПЕ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ IN VITRO

Марфа Николаевна Егорихина, Диана Яковлевна Алейник, Ирина Николаевна Чарыкова, Юлия Павловна Рубцова

ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

egorihina.marfa@yandex.ru

При разработке биомедицинских клеточных продуктов и тканеинженерных конструкций особое внимание уделяется оценке взаимодействия материала (матрицы-носителя, скаффолда и т.д.) с клетками. Не вызывает сомнения, что материалы играют ключевую роль, обеспечивая успешные клеточные события и интеграцию конструкции в организм пациента. Одним из наиболее остро стоящих вопросов на этапах разработки материала и доклинических исследований in vitro является оценка его взаимодействия с клетками. Большинство наиболее распространенных методик, используемых для

оценки цитотоксичности материала и функциональной активности клеток при взаимодействии с материалом, представлены косвенными методами, не позволяющими провести прямую комплексную оценку основных необходимых характеристик.

Цель. Оценить возможности использования широкопольной флуоресцентной микроскопии для характеристики взаимодействия поверхности зависимых клеток с матрицами-носителями на этапе доклинических исследований in vitro

Материалы и методы. Клеточный материал — мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани человека (3–4 пассаж; жизнеспособность 98–99%, иммунофенотип характерен для МСК). Для оценки взаимодействия клеток с образцами материала использовали методы широкопольной флуоресцентной микроскопии, реализуемые на имиджере Cytation 5 (BioTek, США), реализуемое на имиджере Cytation 5 (BioTek, США), Calcein AM (США), Lipophilic Tracers-DiO DiOC14(3) Hydroxyethanesulfonate (США), TO-PRO™3 Ready Flow™ Reagent (США).

Результаты. Комплексная оценка взаимодействия МСК с материалами, различающимися по составу и физико-химическим характеристикам (сплавы титана, синтетические полимерные материалы, биополимерные материалы, материалы на основе депротенизированной костной ткани), показала, что цитотоксичность материала и его адгезионные свойства в отношении поверхностно зависимых клеток, характеристика жизнеспособности, морфологии и пролиферативной активности клеток при взаимодействии с материалом могут быть оценены с помощью клеточного имиджинга, реализуемого методом широкопольной флуоресцентной микроскопии. Использование широкопольной флуоресцентной микроскопии при исследовании пористых полимерных матриц-носителей позволяет оценить распределение клеток относительно структуры материала и миграционную активность клеток. Разработан способ количественной оценки клеток, распределенных в структуре скаффолдов (Пат. РФ № 2675376...от 17.07.2017).

МОДИФИКАЦИЯ БРУШИТОВЫХ ЦЕМЕНТОВ МОЛОЧНОЙ И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТОЙ

Алексей Александрович Егоров, Александр Юрьевич Федотов, Владимир Сергеевич Комлев
ФГБУН Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Москва, Россия

alex1814@yandex.ru

Кальцийфосфатные цементы (КФЦ) нашли широкое практическое применение в костной хирургии и предназначены для заполнения дефектов костных тканей. Данные материалы должны обладать комплексом свойств, таких как биосовместимость, остеокондуктивность и скорость биодеградации, последняя согласована с процессами остеогенеза. К достоинствам этих материалов можно отнести: во-первых, их способность заполнять дефекты самой сложной конфигурации и объема; во-вторых, малую инвазивность вмешательств, т.е. возможность введения данных материалов в инъекционной форме непосредственно в зону дефекта под контролем УЗИ или рентгена, без обширных оперативных вмешательств и возможность 3D-фиксации. Основными недостатками КФЦ являются плохие механические свойства и поэтому может использоваться только в сочетании