

**Децеллюляризованный матрикс мезенхимных стромальных клеток
эндометрия человека: оптимизация получения и характеристика**

Научный руководитель – Бурова Елена Борисовна

Ушаков Р.Е.¹, Ломерт Е.В.²

1 - Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: uszakow@yandex.ru*; 2 -
Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: e.lomert@gmail.com*

Последние несколько десятилетий отмечены бурным развитием биологии внеклеточного матрикса (ВКМ). ВКМ связывает клетки в единую ткань и всесторонне контролирует клеточные функции - от пролиферации и дифференцировки до миграции и апоптоза. Биоактивные свойства ВКМ открывают широкие перспективы его использования в биоинженерии и регенеративной медицине. В этом контексте, ключевой технологией получения ВКМ является децеллюляризация органов, тканей или клеточных культур.

Благодаря секреторному фенотипу, мультилинейному потенциалу дифференцировки и способности мигрировать в очаги воспалений, мезенхимные стромальные клетки (МСК) применяются в терапии различных заболеваний. Эндометриальные МСК (эМСК), получаемые из десквамированного эндометрия менструальной крови, выгодно отличаются неинвазивностью выделения.

Цель исследования - оптимизация получения децеллюляризованного внеклеточного матрикса (дВКМ) эМСК человека.

Задачи исследования - выделить дВКМ эМСК с помощью различных детергентов; оценить успешность децеллюляризации и охарактеризовать влияние дВКМ на пролиферацию и миграцию эМСК.

Для наработки ВКМ клетки культивировали 14 дней в ростовой среде с 10% FBS и 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты. Для децеллюляризации использовали распространённый протокол 0,5% Тритон X-100 + 20 мМ NH₄OH в течение 5 минут, а также 0,5% CNAPS + 20 мМ NH₄OH в течение 3 минут. С помощью иммуоцитохимии и иммуноблота в составе дВКМ показано отсутствие клеточных структур (ядер, актинового и тубулинового цитоскелета), а также наличие белков ВКМ (фибронектин, коллагены I, III и IV типа).

С помощью проточной цитофлуориметрии было проанализировано распределение по фазам клеточного цикла клеток, посеянных на культуральный пластик, и на бесклеточные матриксы, полученные с использованием Тритон X-100 или CNAPS (дВКМ-Тритон и дВКМ-CNAPS). Число клеток в S-фазе на дВКМ-CNAPS существенно выше, чем на пластике и на дВКМ-Тритон (в 1,5 и 1,3 раза; $p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно). Аналогично, прирост числа клеток за 4 дня на дВКМ-CNAPS значительно превосходит таковой на пластике и на дВКМ-Тритон (в 2 и 1,7 раз, $p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно). Примечательно, что различия в числе клеток в S-фазе на пластике и на дВКМ-Тритон не являются статистически значимыми. Таким образом, дВКМ-CNAPS стимулирует пролиферацию эМСК.

С помощью конфокальной системы Yokogawa CQ1 была осуществлена прижизненная цитраферная съёмка эМСК, посеянных на пластик и дВКМ-CNAPS. В программах ImageJ и Chemotaxis And Migration Tool были построены и проанализированы траектории движения эМСК: по сравнению с пластиком, эМСК на дВКМ-CNAPS имеют в 2 раза большую среднюю скорость ($p < 0,01$) и их траектории более прямолинейны.

Итак, применение детергента CNAPS позволяет сохранить биоактивные свойства дВКМ эМСК. ВКМ, полученный с помощью оптимизированного протокола, может использоваться как модель для изучения взаимодействий матрикс-клетка и как основа для разработки биосовместимых скаффолдов.

Исследование поддержано грантом РФФ №19-14-00108.