

Участие внеклеточного матрикса в эндотелиально-мезенхимном переходе

Научный руководитель – Ефименко Анастасия Юрьевна

*Виговский М.А.¹, Ефименко А.У.², Александрушкина Н.А.³, Григорьева О.А.⁴,
Кулебякина М.А.⁵, Басалова Н.А.⁶*

1 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: vigovskiy_m.a@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: efimenkoan@gmail.com*; 3 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: n.alexandrushkina@gmail.com*; 4 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия, *E-mail: go.grigorievaolga@gmail.com*; 5 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, *E-mail: coolebyakina@gmail.com*; 6 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: natalia_ba@mail.ru*

Восстановление тканей, особенно после длительных или объемных повреждений, зачастую приводит к заживлению с избыточным накоплением внеклеточного матрикса (ВКМ), или фиброзу. Основными эффекторными клетками фиброза являются миофибробласты, которые откладывают большое количество ВКМ, что приводит к патологическим изменениям ткани и, в конечном итоге, дисфункции органа. Существенная часть миофибробластов, находящихся в зоне фиброза и ответственных за ремоделирование ВКМ, происходит из числа клеток эндотелия сосудистого русла в процессе эндотелиально-мезенхимного перехода (эндоМТ). Несмотря на доказанную роль эндоМТ в развитии фиброза, механизмы этого процесса и факторы, оказывающие на него влияние, изучены недостаточно. Целью нашей работы было оценить участие внеклеточного матрикса в развитии эндоМТ.

Для моделирования эндоМТ были использованы клетки эндотелия пупочной вены человека (HUVES). Методами иммуноцитохимии и иммуноблоттинга было показано, что культивирование HUVES на одном из ключевых компонентов ВКМ - фибронектине приводит к значительному повышению уровня основного маркера миофибробластов - альфа-гладкомышечного актина (α SMA). Для создания приближенного к нативному микроокружения из ВКМ мы проводили децеллюляризацию целого легкого мыши и полученный бесклеточный матрикс (дВКМ) использовали как субстрат для культивирования HUVES. По данным ОТ-ПЦР в HUVES, культивированных на дВКМ легкого, была ниже экспрессия генов - маркеров эндоМТ (внеклеточный домен А фибронектина (EDA-FN), α SMA, белок активации фибробластов (FAP), коллаген 3), при этом сохранялась экспрессия генов, отвечающих за эндотелиальный фенотип (кадгерина 5 типа 2), по сравнению с клетками, культивированными на желатине.

Для того чтобы оценить влияние формирующегося при фиброзе ВКМ на эндоМТ, мы выделяли фибробласты из легких здоровых мышей и мышей с легочным фиброзом, индуцированным блеомицином, культивировали их в составе клеточных пластов для стимуляции отложения ВКМ, проводили децеллюляризацию получившихся многослойных клеточных конструкций и полученный дВКМ использовали для культивирования HUVES. Активность пролиферации и жизнеспособность HUVES, культивированных на дВКМ от легочных фибробластов, не изменялись по сравнению с клетками, культивированными в стандартных условиях на культуральном пластике, покрытом желатином. Однако, при

анализе с помощью иммуноблоттинга мы обнаружили, что культивирование на дВКМ, наработанном фибробластами легких мышей с фиброзом, приводит к росту в HUVEC уровня сплайс-формы EDA-фибронектина, характерной для фиброза.

Таким образом, различный по составу и архитектуре ВКМ может оказывать существенное влияние на развитие и выраженность эндоМТ. Выяснение вклада отдельных компонентов ВКМ в этот процесс является задачей дальнейших исследований. Отдельно стоит отметить, что дВКМ может служить удобным инструментом для моделирования профиброзного окружения и изучения влияния ВКМ на развитие фиброза и, в частности, на эндоМТ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-015-00437.