

Влияние видоспецифичности аорты на эффективность децеллюляризации и сохранность эластиновых ламелл при температурной и щелочной обработках в процессе получения эластиновых скаффолдов

Научный руководитель – Минайчев Владислав Валентинович

Петрова Софья Аркадьевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биотехнологический факультет, Москва, Россия

E-mail: sofya.petrova.2004@bk.ru

В регенеративной медицине децеллюляризованные ксеногенные ткани рассматриваются как перспективные скаффолды: удаление клеточных компонентов снижает риск иммунного ответа, а сохранение архитектоники внеклеточного матрикса (ВКМ) обеспечивает условия для последующей клеточной адгезии и ремоделирования. Для аортальных скаффолдов ключевым является эластиновый матрикс, определяющий ламеллярную организацию и механические свойства формируемого биоматериала. Помимо этого, эластин ВКМ оказывает ангиогенное действие, что было выявлено в нашей лаборатории в экспериментах *in vivo* [1]. При изготовлении подобного скаффолда коллаген рассматривается как нецелевой компонент: его избыток и неоднородное распределение могут повышать вариабельность морфологических характеристик и осложнять стандартизацию протокола получаемого материала. Вместе с тем эффективность удаления клеток и коллагеновых структур зависит как от параметров протокола обработки, так и от донорного вида, что делает необходимым сопоставление исходной гистоархитектоники аорты и результатов децеллюляризации для разных источников ткани.

В работе сравнивались аорты быка и свиньи в нативном состоянии и после температурной и щелочной обработки с последующей морфогистохимической и количественной оценкой эффективности. Для бычьей аорты использовали участок в области бифуркации; свиную аорту отбирали под дугой аорты. Температурная обработка выполнялась автоклавированием при 100 °С в течение 8 часов. Щелочная обработка: 0,1 М NaOH, 100 °С в течение 1 часа. Морфогистохимическое исследование проводили на гистологических срезах, окрашенных гематоксилином-эозином, трихромом по Лилли и методом Вейергофф-ван-Гизона. Количественную оценку остаточной донорской ДНК в образцах проводили с использованием спектрофотометра NanoVue.

Морфогистохимический анализ нативных материалов выявил видовые особенности состава ВКМ. В свиной нативной аорте наблюдалось значительное преобладание эластических волокон по отношению к коллагеновым и мышечным; волокна характеризовались большей толщиной по сравнению с таковыми в бычьих образцах. В бычьей аорте количественно выражено более равномерное распределение волокон: в средней оболочке между эластическими ламеллами располагались ряды гладких миоцитов, а у зоны адвентиции выделялся слой коллагеновых волокон. Исходя из наблюдаемой морфогистохимической картины, структура бычьей аорты в большей степени гетерогенна по сравнению со свиной. Применение щелочной обработки обеспечило очищение структур от всех типов клеток и коллагена, однако произошло повреждение ВКМ: наблюдались фрагментация и выпрямление эластиновых волокон. После температурной обработки целостность эластических ламелл была выше, чем после щелочной; сохранялся волнообразный ход. В матриксах был обнаружен остаточный клеточный детрит и разрушенные гладкие миоциты. Оценка остаточной донорской ДНК показала достоверное снижение количества ДНК во всех исследуемых материалах после обработки в сравнении с нативными аортами.

Выводы:

1. Аорты быка и свиньи демонстрируют видоспецифичные особенности, заключающиеся в разном соотношении коллагена, гладких миоцитов и эластина, а также в различной степени сохранности эластических ламелл;
2. Щелочная обработка обеспечивает эффективное удаление клеток, коллагена и мышечной ткани, но повреждает архитектуру эластинового ВКМ;
3. Температурная обработка сохраняет архитектуру эластинового ВКМ, но не обеспечивает полное удаление мышечных клеток.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00224-26-00.

Источники и литература

- 1) Zvyagina A. et al. Elastin barrier membranes for guided tissue regeneration technologies // BIO Web of Conferences. – EDP Sciences, 2023. – Т. 57. – С. 04002.