

**Роль урокиназной системы в составе внеклеточных везикул в ранних этапах ангиогенеза**

**Научный руководитель – Климович Полина Сергеевна**

***Ивлева Марианна Игоревна***

*Студент (специалист)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

*E-mail: marianna.ivleva@yandex.ru*

Ангиогенез во взрослом организме активируется для регенерации поврежденных тканей. Регуляция ангиогенеза за счет урокиназной системы, в частности урокиназы (uPA) и ее рецептора (uPAR), происходит путем активации плазмينا и перицеллюлярного протеолиза [1]. Помимо этого uPA стимулирует пролиферацию гладкомышечных клеток (ГМК) путем активации ERK1/2 и p38 MAPK сигнальных путей [2]. Однако пути доставки uPA и/или uPAR к тканям до конца не изучены. В литературе известны механизмы межклеточной коммуникации с участием внеклеточных везикул (ВВ), которые секретируются мезенхимальными стромальными клетками (МСК). Наша гипотеза заключается в том, что урокиназная система может входить в состав ВВ МСК и способствовать образованию новых сосудов во взрослом организме.

В работе использовали модель *ex vivo* сосудистого колечка в Матригеле, на которую наносили внеклеточные везикулы. ВВ выделяли из среды культивирования МСК жировой ткани мышей дикого типа (WT) и нокаутных по гену урокиназного рецептора (uPAR<sup>-/-</sup>). В качестве контроля использовали среду культивирования без ВВ. Анализ миграции клеток и формирование капилляро-подобных структур проводили методом фазово-контрастной микроскопии. Для дифференцирования эффектов, оказываемых на эндотелиальные и гладкомышечные клетки, проводили иммунофлуоресцентное окрашивание на маркер эндотелия CD31 и маркер ГМК  $\alpha$ SMA для последующего изучения с помощью конфокальной микроскопии.

При анализе на 7 день культивирования, как и предполагалось, общая миграция сосудистых клеток увеличилась во всех 3 группах, при этом наибольшая площадь миграции наблюдалась в группе с ВВ uPAR<sup>-/-</sup>. В то же время оказалось, что миграцию эндотелиальных клеток в большей степени стимулируют ВВ WT (съёмку проводили на 3 день культивирования), тогда как миграция гладкомышечных клеток в большей степени увеличилась под действием ВВ uPAR<sup>-/-</sup> (результаты после 7 дней культивирования). Мы предположили, что это может быть благодаря разному содержанию uPA в везикулах. Результаты вестерн-блоттинга на uPA показали, что в клетках МСК uPAR<sup>-/-</sup> содержание урокиназы (uPA) было выше в ВВ, в то время как общее содержание uPA в клетках было выше в МСК дикого типа (WT). Таким образом, оказалось, что ГМК более чувствительны к uPA, а эндотелиальные клетки обладают большей чувствительностью к рецептору урокиназы (uPAR).

Работа поддержана гос. заданием Минздрава России №124020200013-3 «Некодирующие РНК как перспективное направление в регуляции обновления и репарации сердечно-сосудистой системы».

**Источники и литература**

- 1) Gårdsvoll H, Jacobsen B, Kriegbaum MC, Behrendt N, Engelholm L, Østergaard S, Ploug M. Conformational regulation of urokinase receptor function: impact of receptor occupancy and epitope-mapped monoclonal antibodies on lamellipodia induction. *J Biol Chem*. 2011 Sep 23;286(38):33544-56. doi: 10.1074/jbc.M111.220087. Epub 2011 Jul 28. PMID: 21799009; PMCID: PMC3190949.
- 2) Nicholl SM, Roztocil E, Davies MG. Urokinase-induced smooth muscle cell responses require distinct signaling pathways: a role for the epidermal growth factor receptor. *J Vasc Surg*. 2005;41(4):672-681. doi:10.1016/j.jvs.2005.01.007