

**Роль паракринного влияния классически и альтернативно активированных макрофагов на процесс эндотелиально-мезенхимного перехода**

**Научный руководитель – Григорьева Ольга Александровна**

*Дьячкова У.Д.<sup>1</sup>, Efimenko A.Y.<sup>2</sup>, Виговский М.А.<sup>3</sup>, Александрушкина Н.А.<sup>4</sup>, Басалова Н.А.<sup>5</sup>, Григорьева О.А.<sup>6</sup>, Зайцев И.Л.<sup>7</sup>*

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: dyachkovauliana@gmail.com*; 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: vigovskiy\_m.a@mail.ru*; 4 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: n.alexandrushkina@gmail.com*; 5 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: natalia\_ba@mail.ru*; 6 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: go.grigorievaolga@gmail.com*; 7 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: ivan230896@mail.ru*

Воспалительный компонент играет важную роль в развитии многих заболеваний, так как оказывает влияние на процесс фиброобразования [2]. Известно, что основным и эффекторными клетками при развитии легочного фиброза являются миофибробласты, пул которых пополняется за счет дифференцировки фибробластов, эпителиально - мезенхимного перехода (ЭМТ), а также эндотелиально-мезенхимного перехода (эндоМТ) [1]. Однако остается открытым вопрос о триггерах и механизмах этих процессов. Есть данные, что воспаление может оказывать влияние на эндотелий, способствуя его активации и приобретению им мезенхимного фенотипа. Этот процесс осуществляется в том числе за счет активации иммунных клеток, таких как моноциты и макрофаги, которые присутствуют как в здоровых легких, так и в легких с острым и хроническим повреждением [3]. В нашей работе мы получали классически поляризованные (M1) или альтернативно поляризованные (M2) макрофаги и изучали их паракринное влияние на процесс эндоМТ.

Для этого мы выделяли моноциты из периферической крови путем центрифугирования цельной крови на градиенте плотности и последующего прешлейтинга, запускали их дифференцировку путем добавления гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Затем проводили их поляризацию с помощью TNF-а или IL-4 в M1- и M2-тип соответственно. Дифференцировку подтверждали методом иммуноцитохимии с использованием специфических антител к белкам-маркерам макрофагов (CD68, CD163, CD206). После этого мы осуществляли бесконтактное сокультивирование эндотелия (первичные линии эндотелия пуповинной вены человека, HUVEC) с полученными макрофагами в системе трансвел либо путем добавления кондиционированной макрофагами среды. Иммуноцитохимический анализ показал, что эндотелиоциты, сокультивированные с макрофагами, сохраняли межклеточные контакты, а также эндотелиальный маркер CD31, но при этом частично меняли морфологию.

С помощью иммуноблоттинга мы показали, что уровень коллагена I и сплайс-формы фибронектина с внеклеточным доменом А (EDA-фибронектина) снижается в эндотелии при сокультивировании с М2-типом макрофагов, по сравнению с сокультивированием с М1-типом.

То есть, провоспалительные М1-макрофаги, могут приводить к повышению уровня EDA-фибронектина и коллагена I в клетках эндотелия, что может говорить об активации эндоМТ. Это, в свою очередь, может являться причиной прогрессии фиброза, тогда как противовоспалительные компоненты секрета М2-макрофагов снижают активацию эндотелиоцитов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-29-04172.

### Источники и литература

- 1) Hashimoto N. et al., Endothelial–Mesenchymal Transition in Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis // Am J Respir Cell Mol Biol., 2010 Aug, №43(2), стр. 161-172
- 2) Heukels P. et al., Inflammation and immunity in IPF pathogenesis and treatment // Respiratory medicine, 2019 Feb, №147, стр. 79-91
- 3) Hou J. et al, M2 macrophages promote myofibroblast differentiation of LR-MSCs and are associated with pulmonary fibrogenesis // Cell Commun Signal, 2018, №16, стр. 89.