

**Выяснение механизмов участия внеклеточных везикул мезенхимальных стромальных клеток в регуляции дифференцировки миофибробластов**

**Научный руководитель – Ефименко Анастасия Юрьевна**

*Толстолужинская Анастасия Евгеньевна*

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра эмбриологии, Москва, Россия

*E-mail: a.luzh@yandex.ru*

Мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (МСК) играют весомую роль в процессах регенерации тканей благодаря своей специфической паракринной функции. Основными эффекторами регенеративных процессов считаются внеклеточные везикулы МСК (ВВ-МСК), которые являются в том числе факторами регуляции дифференцировки клеток, включая трансдифференцировку миофибробластов при таком патологическом процессе, как фиброз ткани. Миофибробласты имеют важное значение в образовании единицы фиброза - фибротического фокуса, в котором происходит активное депонирование внеклеточного матрикса (ВКМ) [2]. Вероятно, что ВВ-МСК могут влиять на процессы фиброгенеза и даже приводить к реверсии фиброза через регуляцию трансдифференцировки миофибробластов [1]. Ключевую роль в этом процессе могут играть микроРНК в составе ВВ-МСК. Таким образом, нашей целью было изучить влияние микроРНК в составе ВВ-МСК на процессы фиброгенеза.

Для изучения процессов фиброгенеза *in vitro* мы использовали 2D-модель трансдифференцировки миофибробластов, индуцированную профибротическим трансформирующим фактором роста  $\beta$  TGF- $\beta$ , а также 3D-модель фибротического фокуса, созданной на основе децеллюляризованного сфероида, окруженного миофибробластами. С помощью ультрафильтрации кондиционированной среды МСК были получены ВВ-МСК, влияние которых затем исследовалось на описанных выше моделях. Влияние специфических микроРНК, связанных с фиброзом и переносимых в составе ВВ-МСК, было изучено с использованием трансфекции ВВ-МСК синтетическими ингибиторами микроРНК. Анализ проводили методами иммуцитохимического анализа, вестерн-блоттинга, дот-блоттинга, конфокальной микроскопии.

Исследование функции ВВ-МСК на 2D-модели показало снижение в культуре признаков миофибробластов и маркеров фибротического ВКМ, включая белки коллаген I типа и EDA-фибронектин. На 3D-модели, которая близка к реальной структуре фибротического фокуса *in vivo*, было показано, что добавление ВВ-МСК приводит также к уменьшению характерных черт миофибробластов и к разрушению ВКМ. Мы провели ингибиторный анализ действия микроРНК на трансдифференцировку клеток и обнаружили, что эффект снижения маркерных признаков фиброза, таких как экспрессия  $\alpha$ -актина и белков фибротического ВКМ, при добавлении ВВ-МСК к клеточным моделям преимущественно обусловлен переносом в ВВ-МСК микроРНК-129 и микроРНК-92а.

Таким образом, мы показали на 2D и 3D клеточных моделях вклад ВВ-МСК в процессы трансдифференцировки миофибробластов. Эти данные в дальнейшем могут быть использованы для рассмотрения ВВ-МСК и специфических антифибротических микроРНК в качестве перспективного кандидата для лечения фиброза. Исследование было поддержано грантом РФФИ № 20-315-90120.

**Источники и литература**

- 1) Basalova N., Sagaradze G., Efimenko A. et al. Secretome of Mesenchymal Stromal Cells Pre-vents Myofibroblast Differentiation by Transferring Fibrosis-Associated microRNAs within Extracellular Vesicles // *Cells*. 2020. V. 9. P. 1–22.
- 2) Herrera J., Forster C., Peng T. et al. Registration of the extracellular matrix components constituting the fibroblastic focus in idiopathic pulmonary fibrosis // *JCI Insight*. 2019. V. 4. P. 1–13.