

**Модуляция секретома мезенхимных стромальных клеток при  
культивировании на внеклеточном матриксе**

**Научный руководитель – Бурова Елена Борисовна**

***Ушаков Роман Евгеньевич***

*Аспирант*

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: uszakow@yandex.ru*

Мезенхимные стромальные/стволовые клетки (МСК) считаются перспективным средством для применения в медицине, т.к. МСК секретируют “коктейль” паракринных факторов, стимулирующих репаративные процессы. В настоящее время разрабатываются подходы к прекондиционированию МСК (культивирование в гипоксических условиях, обработка цитокинами или фармакологическими агентами и др.), направленные на улучшение секреторной активности МСК.

Известно, что децеллюляризованный внеклеточный матрикс (дВКМ) имитирует естественное клеточное микроокружение и обеспечивает клеткам более физиологичный субстрат по сравнению с культуральным пластиком. Тем не менее, вопрос о влиянии дВКМ на секреторную активность МСК остаётся практически неизученным.

Используя транскриптомные данные из открытых источников (GSE94667, Ragelle et al., 2017), мы обнаружили, что культивирование МСК на дВКМ приводит к значительному увеличению экспрессии целого ряда терапевтически значимых компонентов секретома МСК, таких как MMP-1, IL-8, CCL-2, GRO- $\alpha$ , CXCL-2, -3, -5, -6, HGF и PGF. Мы предположили, что дВКМ может оказывать модулирующее влияние на секретом МСК. Для проверки этой гипотезы мы получили дВКМ, депонированный МСК из вартонова студня пуповины человека при культивировании в течение 14 дней и децеллюляризованный с помощью детергента SNAPS + 20 мМ гидроксида аммония. Результаты иммуноцитохимии и иммуноблоттинга показали наличие основных белков ВКМ и выявили отсутствие клеточных компонентов; доказательством биологической активности полученного матрикса послужила существенная стимуляция пролиферации и миграции посеянных на него клеток, выявленная с помощью проточной цитометрии и цейтраферной съёмки. Затем дВКМ был засеян человеческими МСК различного происхождения - МСК эндометрия, фетальными МСК костного мозга и МСК вартонова студня. После культивирования в течение 48 часов была собрана кондиционная среда, использованная затем в тесте заживления раны *in vitro* на фибробластах ЗТЗ. Мы обнаружили, что кондиционная среда от МСК, культивировавшихся на дВКМ, существенно стимулировала заживление раны ( $p < 0.01$ ) по сравнению с кондиционной средой от МСК, культивировавшихся на пластике; предположительно, культивирование МСК на дВКМ привело к обогащению кондиционной среды биологически активными компонентами. С помощью ОТ-ПЦР-РВ было выявлено значительное увеличение экспрессии MMP-1 и цитокинов IL-8, GRO $\alpha$ , CXCL5 и -6. Эти результаты позволяют рассматривать культивирование на дВКМ как потенциальный подход к прекондиционированию МСК.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ #22-74-10126, внутреннего гранта Института цитологии РАН (конкурс 2023 года) и с использованием клеточных

линий Центра коллективного пользования “Коллекция культур клеток позвоночных”, поддержанного Минобрнауки РФ (Соглашение № 075-15-2021-683).

### **Источники и литература**

- 1) Ragelle H, Naba A, Larson BL, Zhou F et al. Comprehensive proteomic characterization of stem cell-derived extracellular matrices. *Biomaterials* 2017 Jun;128:147-159.