

## Влияние просенесцентного микроокружения на маркеры клеточного старения

**Научный руководитель – Ефименко Анастасия Юрьевна**

*Федотов Д.А.<sup>1</sup>, Ефименко А.Ю.<sup>2</sup>, Новоселецкая Е.С.<sup>3</sup>, Александрюшкина Н.А.<sup>4</sup>,  
Григорьева О.А.<sup>5</sup>, Басалова Н.А.<sup>6</sup>*

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: feddan505@mail.ru*; 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, Москва, Россия, *E-mail: kuznesova2793@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, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия, *E-mail: go.grigorievaolga@gmail.com*; 6 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: natalia\_ba@mail.ru*

Федотов Д.А.<sup>1</sup>, Новоселецкая Е.С.<sup>1,2</sup>, Сагарадзе Г.Д.<sup>2</sup>, Басалова Н.А.<sup>1,2</sup>, Григорьева О.А.<sup>2</sup>, Александрюшкина Н.А.<sup>1,2</sup>, Ефименко А.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Факультет фундаментальной медицины, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Микроокружение определяет судьбу каждой клетки в организме, оказывая влияние на процессы деления, дифференцировки, старения и гибели. В поддержании гомеостаза микроокружения важную роль играют паракринные факторы и внеклеточный матрикс (ВКМ). Активное участие в регуляции такого специфического микроокружения, как ниша стволовой клетки, принимают мезенхимные стромальные клетки (МСК), которые за счет компонентов своего секрета опосредуют поддержание пула стволовых клеток и постоянство обновления дочерних специализированных клеток внутри ткани или органа. Известно, что при старении эти процессы могут существенно меняться, оказывая влияние на состав и структуру ниши. Однако в настоящее время вклад просенесцентного окружения в регуляцию старения клеток остается малоизученным. Целью данного исследования было изучение влияния секрета МСК жировой ткани доноров разных возрастных групп на клеточное старение.

Для исследования были взяты первично выделенные из жировой ткани МСК доноров двух возрастных групп: I группа - до 50 лет, II группа - старше 70 лет. Для оценки накопления в популяции сенесцентных клеток было проведено определение маркеров клеточного старения: окрашивание на бета-галактозидазу и ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) для оценки уровня экспрессии генов p16 и p21. Были изучены просенесцентные эффекты секрета отобранных МСК в виде кондиционированной среды, содержащей продукты секреции клеток, и ВКМ, полученного с помощью децеллюляризации клеточных пластов из МСК (дВКМ). Структура и состав дВКМ были оценены с помощью иммуногистохимического анализа основных компонентов ВКМ (коллаген I и III типов, фибронектин, ламинин) и Рамановской спектроскопии. Оценка эффективности децеллюляризации матрикса была проведена с помощью количественного анализа на

ДНК, а также с окрашиванием DAPI. Жёсткость матрикса определяли методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). Было изучено моделируемого с помощью компонентов секрета МСК микроокружения на уровень экспрессии вышеперечисленных маркеров клеточного старения, а также изменение секреторного фенотипа, ассоциированного со старением (SASP), с помощью иммуноферментного анализа.

По результатам исследования была показана возможность получения компонентов секрета МСК доноров разных возрастных групп, отобранных по выраженности маркеров клеточного старения. Исследование полученных образцов дВКМ свидетельствует о том, что при использовании отработанного нами протокола децеллюляризации основные компоненты ВКМ сохраняются в той же компарментализации и не происходит изменения конформации белков, согласно данным Рамановской спектроскопии. Жесткость дВКМ была сопоставима с жесткостью клеток, продуцирующих его. Полученные компоненты секрета МСК доноров разных возрастных групп оказывали значимое влияние на экспрессию маркеров клеточного старения в МСК, культивированных в их присутствии, в частности, вызывали изменение соотношения окрашенных на бета-галактозидазу клеток.

Таким образом, компоненты секрета МСК, продуцируемые клетками доноров разных возрастных групп, оказывают влияние на маркеры клеточного старения и могут быть использованы для моделирования просенесцентного микроокружения. Однако, необходимы дальнейшие исследования для изучения механизмов регуляции этих процессов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант №19-29-04172).