

УДК 576.53

Морфометрический анализ структур внеклеточного матрикса культивируемых мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при моделировании эффектов микрогравитации

Мелик-Пашаев Алексей Эрнестович

amelikpashaev@yandex.ru

Андрианова Ирина Вячеславовна

irandrianova@yandex.ru

ГНЦ РФ — ИМБП РАН, Москва, Россия

Аннотация. Описаны изменения фибриллярных структур внеклеточного матрикса (ВКМ) культивируемых мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками (МСК) при моделировании эффектов микрогравитации. Количественную оценку параметров волокон проводили с помощью специализированных компьютерных программ анализа изображения. После моделирования микрогравитации (ММГ) была достоверно больше средняя длина волокна, а также увеличена анизотропность и когерентность структур ВКМ по сравнению со статическим контролем, что указывает на изменение архитектоники ВКМ в условиях депривации гравитационного сигнала.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, внеклеточный матрикс, моделируемая микрогравитация, анализ изображений

Введение. Депривация гравитационного стимула является одним из основных факторов риска в космических полетах. Медико-биологические исследования показывают, что наиболее чувствительны к депривации гравитационного сигнала системы организма с хорошо развитым ВКМ. В комплексном механизме реагирования на гравитационные изменения, ВКМ, как основной механосенсор, играет ключевую роль. Матрикс продуцируется клетками стромального дифферона, общими предшественниками которых являются МСК. В настоящей работе количественно охарактеризованы особенности фибриллярных структур, продуцируемых МСК при моделировании эффектов микрогравитации.

Методы и материалы; результаты. Монослой МСК из ткани пупочного канатика человека [1] 10 суток экспонировали на устройстве моделирования микрогравитации (ММГ) Gravite® (Space Bio-Laboratories Co., Ltd., Япония), а также в термостате (статический контроль, СтК). Затем удаляли клетки смесью Тритон X100/ NH_4OH , в части образцов мочевиной растворяли аморфный компонент ВКМ. Проводили фазово-контрастную микроскопию фибриллярных структур ВКМ (Nikon Eclipse TiU) с количественной оценкой длины и ширины волокон, а также параметров, характеризующих сложность организации фибриллярного каркаса: количество волокон, число точек их пересечения, сонаправленность волокон, неравномерность заполнения пространства (лакунарность) и неоднородность структуры каркаса (анизотропность) с помощью программ анализа изображения Matlab (плагин CT-Fire V3.0 Beta [2])

и ImageJ (плагины Orientation J [3] и TWOMBLI_v1 [4]). Статистическую обработку результатов проводили в GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, США).

После десяти суток экспозиции в ММГ была достоверно больше средняя длина фазово-контрастных структур, увеличена анизотропность и когерентность ВКМ по сравнению со СтК. После удаления растворимой части ВКМ мочевиной в СтК не обнаружено изменений параметров фибрилл, тогда как после ММГ были меньше средняя и общая длина и площадь, но увеличена ширина фибрилл. В параметрах сложности структуры были увеличены лакунарность и количество волокон, уменьшено число пересечений, когерентность и анизотропность. Различия между фибриллярным каркасом ВКМ в условиях ММГ и СтК были более выражены, чем до экстракции растворимого ВКМ: в образцах ММГ была меньше средняя и общая длина и площадь, но увеличена ширина волокна ВКМ. В параметрах сложности структуры увеличивается лакунарность и количество волокон, уменьшается число пересечений, когерентность и анизотропность.

Заключение. Отмена гравитационного стимула при длительном культивировании МСК приводит к изменениям фибриллярных компонентов ВКМ, вовлеченных в ответ на механические стимулы.

*Работа выполнена при поддержке государственного задания,
тема № FMFR 2024 0032.*

Список источников

- [1] Романов Ю.А., Балашова Е. Е., Волгина Н.Е., Кабаева Н.В., Дугина Т.Н., Сухих Г.Т. Оптимизированный протокол выделения мультипотентных мезенхимных стромальных клеток пупочного канатика человека. *Клеточные технологии в биологии и медицине*, 2015, № 3, с. 174–180.
- [2] Bredfeldt J.S. Computational segmentation of collagen fibers from second-harmonic generation images of breast cancer. *J. Biomed. Opt.*, 2014, vol. 19. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.1.016007>
- [3] Rezakhaniha R. Experimental investigation of collagen waviness and orientation in the arterial adventitia using confocal laser scanning microscopy. *Biomech. Model. Mechanobiol.*, 2012, vol. 11, pp. 461–473.
- [4] Wershof E.A. FIJI macro for quantifying pattern in extracellular matrix. *Life Sci. Alliance*, 2021, vol. 4. <https://doi.org/10.26508/lsa.202000880>