

Сравнение режимов пробоподготовки децеллюлированного матрикса мозга мышцы на сохранность клеточного материала

Научный руководитель – Мухина Ирина Васильевна

Вертьянова Анастасия Николаевна

Студент (специалист)

Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия

E-mail: avherbary@gmail.com

Тяжелые повреждения головного и спинного мозга приводят к необратимым изменениям в нервной ткани, лишая ее возможности реализовать присущую ей способность к восстановлению и регенерации. [1] В качестве решения данной проблемы перспективным является внедрение технологий использования бесклеточных скаффолдов и гидрогелей, способных нормализовать микросреду ткани. В связи с тем, что они являются дериватами живых тканей, возникает необходимость поиска такого протокола децеллюляризации, который позволил бы эффективно удалять клетки и генетический материал во избежание иммунного ответа, и, что не менее важно, сохранять структуру внеклеточного матрикса мозга.[1,2]

Целью данной работы является разработка эффективного протокола децеллюляризации различных отделов мозга мышцы для создания экспериментального бесклеточного матрикса мозга, обладающего низкой цитотоксичностью, структурностью нативного матрикса и сохранностью факторов, необходимых для роста и дифференцировки клеток при нейротрансплантации.

Для проведения децеллюляризации использовался головной мозг аутобредных новорожденных мышат SHK, который разделялся на кору с полушариями, мозжечок и ствол. Предпринимались несколько подходов к децеллюляризации: (1) с применением 1% раствора детергента SDS; (2) с предварительным замораживанием мозговой ткани, смешанный подход с Triton X-100 и деоксихолатом натрия, а также (3) комбинированный подход с предварительной инкубацией частей мозга в деионизованной воде и финальной обработкой ДНКазой.

При выполнении протокола децеллюляризации с применением 1% SDS и комбинированного метода с Triton X-100 и деоксихолатом натрия было детектировано значительное количество ядер целостных клеток. При применении подхода с предварительным замораживанием отмечалось чрезмерное разрушение структуры матрикса мозга.

Высокую эффективность в удалении клеток и их ядерного материала показал протокол децеллюляризации мозга мышцы с применением предварительной выдержки в деионизованной воде и финальной обработкой ДНКазой. При маркировании парафиновых срезов ядерным красителем DAPI наблюдалось негативное окрашивание ядер клеток, была детектирована фоновая флуоресценция, в то время как в интактном мозге наблюдалась сохранность клеточных ядер. Данный протокол также сохраняет компонентный состав внеклеточного матрикса мозга. С помощью сравнительного окрашивания альциановым синим образцов интактного и децеллюлированного матрикса мозга было детектировано сохранение кислых гликозаминогликанов.

Полученный матрикс мозга имеет перспективы к применению в области фундаментальной медицины.

Источники и литература

- 1) George S. Hussey, Jenna L. Dziki, Stephen F. Badylak Extracellular matrix- based materials for regenerative medicine // Nature reviews materials. 2018. Vol. 3. P. 159-173
- 2) Michael J. Buckenmeyer, Tyler J. Meder, Travis A. Prest, Bryan N. Brown Decellularization techniques and their applications for the repair and regeneration of the nervous system // Methods. 2020. Vol. 171. P. 41-61