

Разработка модели кальцификации коллагенсодержащих структур на примере створок аортального клапана

Научный руководитель – Гафарова Эльвира Разитовна

Сиротенко Влада Владимировна

Студент (специалист)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: vlada.sirotenko@mail.ru

Прогрессирование кальцификации в сердечно-сосудистой системе приводит к функциональным и дегенеративным изменениям соединительнотканых структур, например к кальцинозу аортального клапана и его стенозу. [1] Патогенетически этот процесс является сложным и многостадийным, регулируемым как на клеточном, так и на молекулярном уровнях. [2] Данное исследование направлено на уточнение механизмов кальцификации коллагенсодержащих структур путем разработки и апробации модельной среды для створки аортального клапана.

Объектом исследования являлась кальцификация коллагенсодержащих структур. В качестве субстрата были выбраны нативная и децеллюляризированная створки аортального клапана овцы. Интенсивность и характер кальцификации оценивали с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Контролируемая модельная среда представляла собой емкость малого объема, содержащую насыщенный кальциевый раствор на базе смеси CaCl_2 и NaH_2PO_4 с постоянным соотношением $\text{Ca}/\text{P} = 1.67$. За основу был взят кальциевый раствор с составом: 3.87 мМ CaCl_2 и 2.32 мМ NaH_2PO_4 . [3] Для оценки осмотических свойств были приготовлены растворы с концентрациями в 2 раза больше и в 2 раза меньше относительно основного раствора. Для достижения должной рН среды варьировалось соотношение составных веществ трис-буфера. Инкубирование образцов проводили в термостатируемых условиях при $t = 37^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 7.4$, в течение двух недель.

Полученные данные свидетельствуют о том, что предложенный состав модельной среды (3.87 мМ CaCl_2 , 2.32 мМ NaH_2PO_4 , 36.4 мМ Tris-HCl, 13.7 мМ Tris) способствовал поддержанию рН, а также не оказывал гиперосмотического действия на субстрат. В ходе АСМ были визуализированы регулярные волокнистые структуры поверхности створки, а также осажденные кристаллы фосфатов кальция в виде структур полигональной формы разных размеров. После инкубирования наблюдали повышение жесткости экспериментальных образцов по сравнению с необработанными. С помощью СЭМ дополнительно была подтверждена атомарная характеристика предполагаемых осажденных на субстрат кристаллов.

Таким образом, была разработана модельная среда для кальцификации коллагенсодержащих структур в условиях *in vitro*. Показано, что кальциевый раствор не вызывает структурных изменений в створке клапана. Образующиеся кальцинаты имеют различные формы и размеры, что доступно оценке в ходе АСМ и СЭМ. Дальнейшие эксперименты будут направлены на характеризацию сформированных кальцинатов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ №22-75-10100.

Источники и литература

- 1) Andreas Weber, Melissa Pfaff, Friederike Schöttler, Vera Schmidt, Artur Lichtenberg, Payam Akhyari. Reproducible In Vitro Tissue Culture Model to Study Basic Mechanisms

of Calcific Aortic Valve Disease: Comparative Analysis to Valvular Interstitials Cells // Biomedicines. 2021. Vol. 9(5). No. 474.

- 2) Kostina D., Uspensky V..E., Semenova D.S., Kostina A. Role of calcification in aortic degeneration // Translational Medicine. Vol. 7(1). P. 6-21.
- 3) Bernacca G. M., Fisher A. C., Mackay T. G., Wheatley D. J. A dynamic in vitro method for studying bioprosthetic heart valve calcification // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 1992. Vol. 3. P. 293-298.