

РАЗРАБОТКА ФИБРИЛЛЯРНОГО ГИДРОГЕЛЯ, ИНДУЦИРУЮЩЕГО КЛЕТОЧНУЮ МЕХАНОТРАНСДУКЦИЮ

Лаврентьева М.П. (Университет ИТМО), Егорова В.В. (Университет ИТМО),
Ушакова А.А. (Университет ИТМО), Петрова Е.А. (Университет ИТМО),
Научный руководитель – д.х.н. Кривошапкина Е.Ф. (Университет ИТМО)

Введение. Скелетные мышцы составляют 45% массы тела и выполняют функцию передвижения и других важных физиологических процессов. Они имеют хорошо организованную структуру, основанную на миофибриллах и миоволокнах. Мышцы обладают способностью к самовосстановлению, но не могут восстановить значительные повреждения, возникшие в результате травматических повреждений, агрессивного удаления злокачественных опухолей, денервации или дегенеративных заболеваний скелетных мышц. Как правило, на месте глубоких мышечных повреждений формируется грубоволокнистый рубец, что приводит к нарушению нормального функционирования органа. Текущим стандартным методом восстановления мышц является использование аутологичных тканей, однако этот подход включает в себя несколько ограничений, таких как нехватка донорской ткани и риск утраты функциональности. Альтернативным методом является технология создания биоматериалов для регенерации мышц. Гидрогели на основе природных полимеров считаются перспективным вариантом для создания подобных конструкций. Они обладают биомиметичностью и могут быть легко обработаны в различных конфигурациях. Фибриллярные гидрогели представляют собой оптимальную платформу для одновременного обеспечения микроокружения с высокой биосовместимостью и структурированной направленности на правильное развитие мышечной ткани [1]. Использование механотрансдукции, транслирующей механические стимулы в биохимические сигналы, может способствовать формированию мышечных трубочек. Таким образом одноосное растяжение клеточных волокон содействует выравниванию миобластов и формированию микрофибрилл [2]. Целью данного исследования стала разработка фибриллярного гидрогеля, индуцирующего клеточную механотрансдукцию с перспективой дальнейшего применения в регенерации мышечной ткани.

Основная часть. В ходе данного исследования была разработана серия фибриллярных гидрогелевых композиций способных индуцировать клеточную механотрансдукцию. В качестве основного компонента выступал желатин, для образования дополнительных связей и модуляции механических характеристик был синтезирован окисленный альгинат натрия. Кроме этого, был добавлен коллаген I типа в различной концентрации для придания гелю фибриллярной структуры, что способствовало проявлению механотрансдукции. Была вычислена степень окисления сшивающего агента и проведена оптимизация синтеза с точки зрения получения максимального содержания функциональных групп. По результатам проведённой серии флип тестов были составлены диаграммы фазового золь-гель перехода в различных температурных интервалах. Реологические исследования показали, что характеристика компрессионного модуля Юнга (0.125...1.614 Па) модулируется в зависимости от соотношения компонентов и степени сшивки желатина и окисленного альгината натрия. Полученные гидрогели демонстрируют тиксотропные свойства, являясь псевдопластичными жидкостями с ярко выраженным пределом текучести (2,24...4,65 Па). Такое поведение обеспечивает возможность включения в гидрогель линии клеток, которые в процессе 3D гель-экструзионной печати сохраняют жизнеспособность. Были проведены исследования цитотоксичности с линией клеток мышечных миобластов C2C12 серии гидрогелей на основе желатина и окисленного альгината натрия. Более чем у половины гидрогелей выживаемость миобластов после 7 суток культивирования превышала 75%. На основе реологических данных и результатов исследования цитотоксичности был выбран

перспективный гель для проведения дальнейших исследований с коллагеном 1 типа. Были повторно проведены реологические исследования для выбора оптимального количества добавляемого коллагена. С выбранной гидрогелевой композицией осуществлялось создание клеточно-инженерных конструкций путём 3D биопечати и формирования. Морфология и жизнеспособность клеток оценивалась с помощью окраски флуоресцентными красителями. Механотрансдукция обеспечивалась не только фибриллярной структурой, но и физическим растяжением гидрогелевых конструкции с включением миобластов.

Выводы. Полученные фибриллярные гидрогели являются перспективными для использования в регенерации мышечной ткани. Результаты исследований подтверждают, что данные гели пригодны для 3D биопечати и способны индуцировать клеточную механотрансдукцию.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования России (проект №075-15-2019-1896), а также при поддержке призового фонда конкурса “Биофабрикация, биопринтинг и проектная деятельность” Фонда поддержки инноваций и молодежных инициатив Санкт-Петербурга. Коллаген 1 типа был предоставлен группой тканевой инженерии центра клеточной технологии Института Цитологии Российской академии наук.

Список использованных источников:

1. Volpi, M., Paradiso, A., Costantini, M. & Świączkowski, W. Hydrogel-Based Fiber Biofabrication Techniques for Skeletal Muscle Tissue Engineering. *ACS Biomaterials Science and Engineering* 8, 379–405 (2022).
2. Chen, Xiaoxiao et al. Uniaxial Stretching of Cell-Laden Microfibers for Promoting C2C12 Myoblasts Alignment and Myofibers Formation. *ACS applied materials & interfaces* vol. 12,2 (2020).

Лаврентьева М.П. (автор)

Подпись

Кривошапкина Е.Ф. (научный руководитель)

Подпись