

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-260

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГЛИКИРОВАНИЯ МИКРООКРУЖЕНИЯ НА ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МАТРИСОМА ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO*****EVALUATION OF THE EFFECT OF MICROENVIRONMENT GLYCATION ON THE MATRISOME GENE EXPRESSION OF HUMAN DERMAL FIBROBLASTS *IN VITRO***Э. Р. Кудашева<sup>1</sup>, А. А. Москалев<sup>1</sup>, З. Г. Гуватова<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Российский научный центр хирургии им. акад. Б. В. Петровского, Москва<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, МоскваE. R. Kudasheva<sup>1</sup>, A. A. Moskaev<sup>1</sup>, Z. G. Guvatova<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Petrovsky National Research Center of Surgery, Moscow<sup>2</sup>Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow

✉ evelinn\_a@mail.ru

**Аннотация**

Изучено влияние гликирования коллагенового матрикса на профиль экспрессии генов дермальных фибробластов человека. С использованием курируемых баз данных MatrisomeDB и GenAge получен список генов матрисома, изменение экспрессии которых ассоциировано со старением.

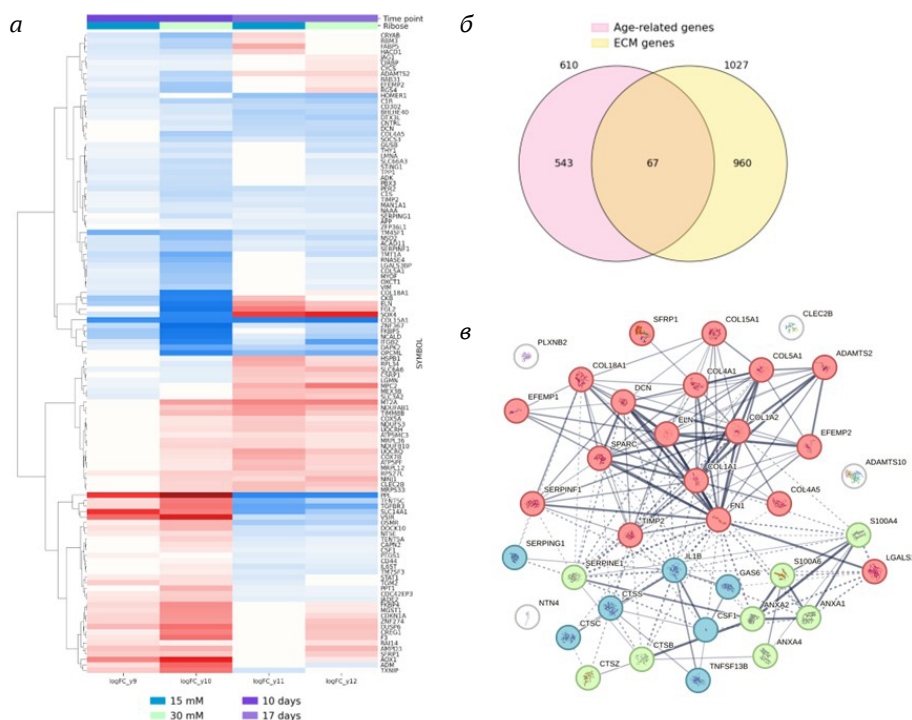
**Abstract**

The effect of glycation of the collagen matrix on the gene expression profile of human dermal fibroblasts has been studied. Using MatrisomeDB and GenAge curated databases, a list of matrisome genes whose expression changes is associated with aging was obtained.

Накопление повреждений в долгоживущих макромолекулах, в том числе в белках внеклеточного матрикса (ВКМ), таких как коллаген и эластин, является одним из молекулярных признаков старения. Гликирование и накопление конечных продуктов гликирования (КПГ) сказывается на функционировании многих тканей и способствует развитию различных патологических состояний. Изменения состава и структуры ВКМ, включая возрастное накопление КПГ и увеличение жесткости матрикса, воздействуют на клетки через различные сигнальные каскады, приводя к изменению экспрессии генов [1].

В этом исследовании мы провели анализ транскриптома (RNA-seq) нормальных диплоидных фибробластов человека HdFb (d75), культивируемых в искусственно «состаренном» посредством неферментативного гликозилирования коллагеновом матриксе. 3D-гидрогели были подготовлены из раствора концентрированного коллагена I типа Viscoll (ООО «Имтек», Россия). В качестве гликирующего агента была использована D-рибоза (Sigma-Aldrich, США) в различных концентрациях (0; 15; 30; 200 mM), которая добавлялась в питательную среду после полимеризации геля с последующей инкубацией в течение 5 дней для обеспечения перекрестных сшивок. Проведенный на 10-й день культивирования анализ автофлуоресценции подтвердил дозозависимое накопление КПГ в исследуемых образцах. Наибольший уровень автофлуоресценции (что указывает на более высокие уровни КПГ) был зафиксирован в гидрогелях, обработанных 200 mM рибозой. Оценка биомеханических показателей гликированных 3D-гелей с клетками и без (контроль) с помощью реологического анализа показала, что с увеличением концентрации рибозы и временем культивирования жесткость гидрогелей также увеличивается. Однако анализ жизнеспособности клеток выявил, что концентрации рибозы свыше 20 mM приводят к дозозависимому снижению жизнеспособности клеток. Наши данные согласуются с результатами Ванесы Висенс-Зигмунт с соавторами, которые показали, что высокие концентрации рибозы (240 mM) приводят к клеточной смерти, тогда как низкие дозы способны сшивать коллаген и повышают жесткость матрикса, при этом сохраняя жизнеспособность клеток и обеспечивая их рост [2].

Известно, что стареющие клетки выделяют факторы роста, хемокины, протеазы, интерлейкины, которые образуют секреторный фенотип, ассоциированный со старением (SASP). Согласно полученным RNA-seq данным, гликирование микроокружения повлияло на экспрессию многих SASP-генов: *MMP3*(↑), *DKK1*(↓), *EDN*(↓), *CXCL8*(↑), *CXCL1*(↑) и т. д. Интересно, что при длительном культивировании клеток в гликированных матриксах



Дифференциально экспрессирующиеся гены: а — изменение экспрессии генов SASP в клетках HdFb (d75) в условиях гликирования; б — диаграмма Венна, иллюстрирующая пересечение генов из баз данных MatrisomeDB и GenAge; в — дифференциально экспрессирующиеся в условиях гликирования гены матрисома, ассоциированные со старением

экспрессия генов SASP была менее выраженной, что может быть связано с временной регуляцией SASP (см. рисунок, а) [3].

Мы также сравнили полученные списки дифференциально экспрессирующихся генов со списком генов матрисома человека, полученного из базы данных MatrisomeDB (<https://matrisomedb.org>). В базе данных MatrisomeDB насчитывается 274 гена, кодирующие коровые белки матрисома, и 753 гена матрисом-ассоциированных белков. Коровый матрисом включает 3 категории: гликопротеины, коллагены и протеогликаны. К белкам, ассоциированным с матрисомой, относятся ВКМ-аффилированные белки, регуляторы ВКМ и секретируемые факторы. Мы составили топ-10 ДЭ генов для каждой категории. Показано, что гликирование микроокружения ведет к снижению экспрессии генов, кодирующих коллагены (*COL21A1*, *COL12A1*, *COL4A1*), увеличению экспрессии генов, кодирующих металлопротеиназы (*MMP3*, *MMP11*, *MMP12*), ADAM-протеазы (*ADAM33*, *ADAM23*, *ADAMTS3*, *ADAMTS7*) и катепсины (*CTSL*, *CTSS*, *CTSB*). Кроме того, мы обнаружили, что гликирование приводит к изменениям в экспрессии многих генов, ассоциированных со старением и долголетием (согласно базе данных GenAge <https://genomics.senescence.info/genes/index.html>). В результате сравнения генов из баз данных MatrisomeDB и GenAge было получено 67 генов матрисома, изменение экспрессии которых ассоциировано со старением (см. рисунок, б). Из них 37 генов дифференциально экспрессировались в фибробластах, культивируемых в 3D-условиях с добавлением рибозы (см. рисунок, в). Известно, что стохастические неферментативные модификации ВКМ, включая гликирование, тесно связаны с признаками старения [4]. Таким образом, оценка изменений матрисома при гликировании и выявление его роли в старении является необходимым шагом для понимания биологии старения, а также для разработки релевантных антивозрастных подходов.

### Литература

1. Vidovic T., Ewald C.E. Longevity-Promoting Pathways and Transcription Factors Respond to and Control Extracellular Matrix Dynamics During Aging and Disease // *Front Aging*. 2022. Vol. 3. P. 935220.
2. Vicens-Zygmunt V., Estany S., Colom A. Fibroblast viability and phenotypic changes within glycated stiffened three-dimensional collagen matrices // *Respir. Res.* 2015. Vol. 16. P. 82.
3. Giroud J., Bouriez I. Exploring the Communication of the SASP: Dynamic, Interactive, and Adaptive Effects on the Micro-environment // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24 (13). P. 10788.
4. Fedintsev A., Moskalev A. Stochastic non-enzymatic modification of long-lived macromolecules: a missing hallmark of ageing // *Ageing Res Rev.* 2020. Vol. 62. P. 101097.