

## ПРОЛИФЕРАЦИЯ КЛЕТОК МОЗГОВЫХ ОРГАНОИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ КЛЕТОК С ИНДУЦИРОВАННОЙ ПЛЮРИПОТЕНТНОСТЬЮ

**Емелин А.М.<sup>1</sup>, Еремеев А.В.<sup>2</sup>, Шувалова Л.Д.<sup>2</sup>, Козырева Е.Б.<sup>3</sup>, Лебедева О.С.<sup>2</sup>, Чернова О.Н.<sup>1,4</sup>, Мавликеев М.О.<sup>1</sup>,  
Лагарькова М.А.<sup>2</sup>, Деев Р.В.<sup>1</sup>**

Контакты: [Eamar40rn@gmail.com](mailto:Eamar40rn@gmail.com) +7-915-595-43-91

1 - Северо-западный Государственный Медицинский Университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

2 - Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины, лаборатория клеточной биологии, Москва, Россия

3 - ГБУ РО Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Рязань, Россия.



**Введение.** Модели *in vitro* активно применяются для изучения патоморфогенеза заболеваний. Современным перспективным вариантом такой модели являются органоиды (кластеры клеток с высоким содержанием дефинитивных клеточных форм и органоподобной структурой), полученные в результате 3D культивирования индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Использование технологии индуцированной плюрипотентности и метода 3D культивирования даёт возможность избежать инвазивных, травматичных биопсий для получения клеток нужного типа и воспроизводить элементы гистогенеза в объёме, способствуя формированию органоспецифической цитоархитектоники, что особенно актуально для изучения изменений митотической активности клеток при развитии ненаследственных нейродегенеративных заболеваний. Данные заболевания сопровождаются изменением митотической активности клеток при развитии нервной ткани и требуют изучения в модельных условиях искусственного нейрогенеза.

**Цель исследования.** Определить паттерны пролиферативной активности клеток мозговых органоидов, полученных из клеток пациентов с нейродегенеративными заболеваниями.

**Материалы и методы.** Выделенные от доноров с нейродегенеративными заболеваниями (болезнь Хантингтона – клеточная линия HD76; спиноцереbellарная атаксия – клеточная линия SCA17/9) и от здоровых доноров-добровольцев (клеточная линия Huv4s) индуцированные плюрипотентные стволовые клетки культивировали в течение полутора месяцев по протоколу (А.В. Еремеев и др., 2019) на базе лаборатории клеточной биологии Федерального научно-клинического центра физико-химической медицины (Москва, зав. М.А. Лагарькова) с получением мозговых органоидов. Органоиды подвергали морфологическому исследованию с применением окраски гематоксилином и эозином (Рис. 1А, 2А), а также использовали иммуногистохимическую реакцию с использованием антител к Ki-67 (Рис. 1Б, 2Б) для подсчёта индекса пролиферативной активности.

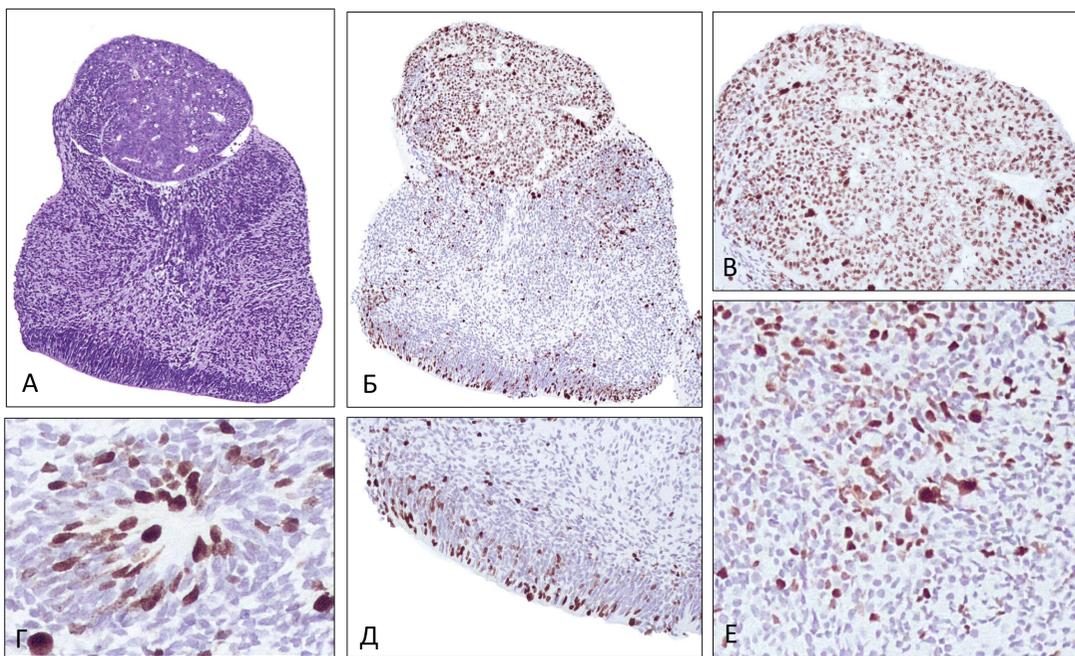


Рис. 1. Мозговые органоиды пациентов со спиноцереbellарной атаксией

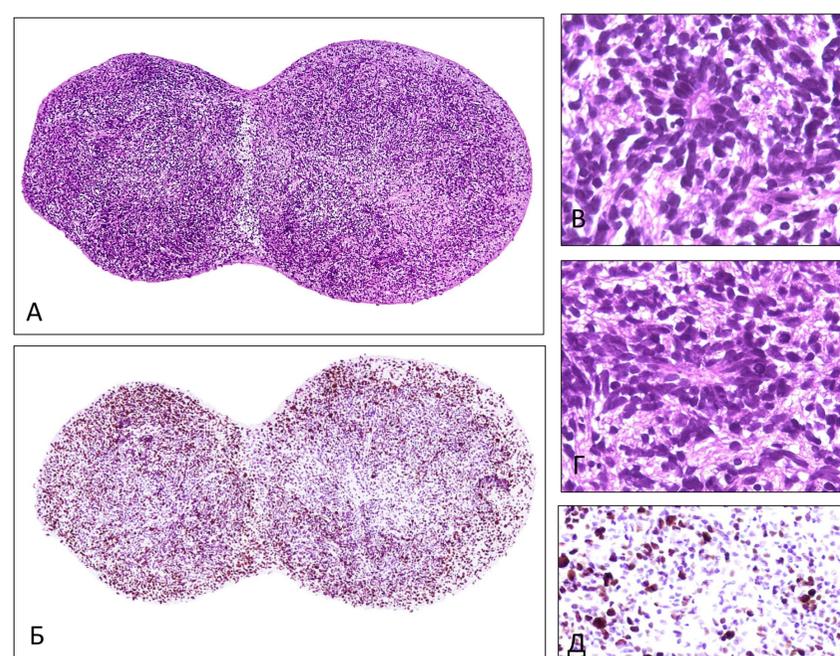


Рис. 2. Мозговые органоиды пациентов с болезнью Хантингтона

**Результаты и обсуждение.** При микроскопическом исследовании во всех органоидах были обнаружены «розетки» - аналоги примитивной нервной трубки, характерный элемент раннего периода нейрогенеза. При оценке распределения Ki-67+ клеток было выявлено, что в органоидах, полученных от пациентов со спиноцереbellарной атаксией наблюдается высокая пролиферативная активность в розетках (Ki-67i=37,03±12,7%, рис. 1Г), в кортикальных нейроэпителиальных клетках с радиальным и слоистым ориентированием (Ki-67i=46,41±4,31%, рис. 1Д), а также в зонах почкования органоидов (Ki-67i=90,83±3,24%, рис. 1В). Вне перечисленных зон, в которых мелкие мноморфные клетки расположены диффузно, характерен низкий уровень пролиферации клеток (Ki-67i=9,3±4,78%, рис. 1Е). Для органоидов, полученных от пациентов с болезнью Хантингтона, выявлена диффузная пролиферативная активность, неассоциированная с паттернами нейрогенеза с преобладанием в кортикальном отделе (Ki-67i=53,31±1,67%, рис. 2В, 2Г, 2Д.). В органоидах полученных из клеток здоровых доноров-добровольцев преимущественная, пролиферирующая их часть располагалась на периферии (Ki-67i=35,4±22,78%), а в центре располагались митотически инертные клетки.

**Заключение.** Органоиды, полученные из клеток пациентов с нейродегенеративными заболеваниями, при разных нозологиях характеризуются отличным друг от друга паттерном распределения пролиферирующих клеток, а в случае спиноцереbellарной атаксии – разными, выраженными структурными зонами со специфичной митотической активностью.