

Аннотация научно-исследовательской работы
ФГБУ «СЗФМИЦ им.В.А.Алмазова» Минздрава России
на 2015 и плановый период 2016-2017 гг.

Тема научного исследования:

Применение плюрипотентных и прогениторных стволовых клеток человека для моделирования *invitro* патологических состояний заболеваний сердечно-сосудистой системы и системы крови

Научные подразделения исполнители (с указанием руководителя исследования):

Руководитель исследования - директор Института молекулярной биологии и генетики, к.м.н. А.А. Костарева

Перечень научных подразделений, участвовавших в исполнении исследования:

1. НИО молекулярной биологии и генетики.
2. НИЛ молекулярной кардиологии и генетики.
3. НИЛ онкогематологии
4. НИЛ трансфузиологии и эфферентной терапии

Актуальность исследования:

Открытие плюрипотентных стволовых клеток человека является одним из наиболее значимых успехов современной медико-биологической науки. Данное открытие позволило существенно расширить представления о патогенезе множества социально-значимых заболеваний, обозначить принципиально-новые возможности терапии с использованием регенеративного потенциала стволовых клеток, а также исследовать множество фундаментальных биологических процессов, определяющих процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза в различных клетках и тканях организма. В то же время исследования в области биологии стволовых клеток и возможности их терапевтического использования выявили ряд проблем, связанных с особенностями влияния на функцию стволовых клеток факторов внешней среды, индивидуальных генетических особенностей организма и эпигенетического профиля. В связи с этим терапевтическое использование стволовых клеток и подходы регенеративной медицины все еще остаются крайне ограниченными и выражаются в успешном применении стволовых клеток лишь в нескольких клинических областях. Расширение применения стволовых клеток-предшественников в терапевтических целях диктует необходимость более детального и углубленного изучения с позиции молекулярной и клеточной биологии фундаментальных основ их функционирования.

В то же время, открытие возможности получения индуцированных плюрипотентных клеток человека, удостоенное в 2012 году Нобелевской премии революционно изменило возможности, связанные с изучением патогенеза наследственных, генетически-обусловленных заболеваний человека, а также открыло гигантские возможности для скрининга и тестирования новых компаундов и фармакологических препаратов на основе принципа персонализированной медицины.

Цель исследования:

Основной целью проекта является моделирование заболеваний, поиск новых терапевтических мишеней и тестирование новых фармакологических препаратов посредством использования прогениторных стволовых клеток человека, полученных из различных источников, а также индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. В результате проекта будут получены новые научные данные о факторах, влияющих на функцию и дифференцировочный потенциал стволовых клеток, способах модулирования этих функций с целью повышения их терапевтического и регенераторного потенциала. Будет создан уникальный биобанк мезенхимных стволовых клеток и полученных с их использованием индуцированных плюрипотентных клеток от больных с редкой генетически-обусловленной патологией. Будут протестированы новые методы получения индуцированных плюрипотентных клеток человека дающие возможность последующего из применения в терапевтических целях. Будут определены ключевые нарушения сигнальных путей стволовых клеток, приводящих к развитию патологии, и на их основе определены новые потенциальные мишени для разработки лекарственных препаратов.

Задачи исследования:

1. Изучение влияния факторов внешней среды и коморбидности, гипоксии, гипергликемии, циркулирующих факторов воспаления на функцию и дифференцировочный потенциал стволовых клеток. Данные, полученные в результате этих исследований позволят определить оптимальные источники получения и свойства стволовых клеток при полигенных многофакторных заболеваниях, таких как сердечная недостаточность и сахарный диабет 2 типа. (Renata, Alla)
2. Поиск подходов, нивелирующих негативное влияние возраста, факторов внешней среды и коморбидности на функцию стволовых прогениторных клеток и их регенеративный потенциал. Данные, полученные в результате этих исследований, позволят разработать методы улучшения функции стволовых прогениторных клеток *in vitro* и повышения их терапевтического регенераторного потенциала. (Renata, Puz, Lel)
3. Модулирование сигнальных путей стволовых прогениторных клеток с помощью биологически-активных молекул, методов геномной инженерии

и антисенс-технологий с целью стимуляции регенеративного, ангиогенного и паракринного потенциала, а также увеличения эффективности приживления трансплантатов костного мозга. Полученные данные позволят улучшить терапевтический эффект при ряде тяжелых заболеваний сердечно-сосудистой системы и органов кроветворения, связанных с выраженными явлениями гипоксии, фиброза и онкопролиферации (Notch in MSC, Bogdanova).

4. Создание обширного банка мезенхимных стволовых клеток от больных с редкими генетически-обусловленными заболеваниями. Изучение особенностей функционирования магистральных сигнальных путей Wnt, BMP, Notch1 и TGF β в стволовых клетках больных с редкой генетически-обусловленной патологией. Созданный биобанк в последствии позволит создавать уникальные линии индуцированных плюрипотентных клеток человека для изучения патогенеза орфанных заболеваний и скрининга лекарственных препаратов (Kostareva).
5. Разработка новых методов получения индуцированных плюрипотентных клеток человека из разных источников (фибробласты кожи, мезенхимные стволовые клетки костного мозга и подкожного жира, стволовые клетки мышечной ткани) с использованием неинтегративного подхода без применения экзогенных вирусных носителей. Данные, полученные в результате этих исследований позволят в перспективе разрабатывать подходы использования индуцированных плюрипотентных клеток человека в терапевтических целях (Hud).
6. Получение индуцированных плюрипотентных клеток человека и их дифференцировка в тканеспецифичном направлении при редких формах патологии у людей. Данный подход уже успешно применяется в мире при ряде заболеваний сердечно-сосудистой системы и органов кроветворения (синдром удлиненного QT, аритмогенная кардиомиопатия). Уникальность специализированных высокотехнологичных центров, таких как ФБГУ СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова позволяет не только выявлять и детально фенотипировать наследственные заболевания сердечно-сосудистой системы и органов кроветворения, но также проводить проспективное наблюдение за больными и формировать значительные группы больных с различными формами редкой орфанной патологией. Это определит уникальность создаваемых коллекции линий индуцированных плюрипотентных клеток человека (Hud).
7. Тестирование эффектов применения стволовых клеток в экспериментальных моделях в сочетании с модификацией их свойств с помощью антисенс-технологий. Результаты применения стволовых клеток при, например, острых ишемических состояниях в экспериментальных моделях с одной стороны, достаточно хорошо изучены, с другой стороны крайне противоречивы. Это диктует необходимость разработки новых подходов их терапевтического

использования, в частности, с применением их модификации посредством различных видов микроРНК. Данное сочетание подходов является уникальным в мировой научной практике и будет впервые апробировано в планируемой работе (Fedorov).

8. Изучение эпигенетического профиля стволовых прогениторных клеток и индуцированных плюрипотентных клеток человека при многофакторных полигенных заболеваниях и при наследственной моногенной патологии. Это позволит расшифровать механизмы эпигенетической регуляции стволовых клеток, вклад этих механизмов в нарушение функции стволовых клеток при патологии, а также позволят определить новые возможности модулирования функций стволовых прогениторных клеток (2014 – HDAC, 2015 - Renata).
9. Разработка модели фиброза и остеосклероза костного мозга на основе анализа сложных клеточных взаимодействий. Разработка модели кроветворной ниши костного мозга, способной поддерживать пролиферацию лейкоэмических клеток, а также взаимодействия между эндотелиальными и мезенхимными стволовыми клетками с целью модуляции ангиогенеза. Разработанная модель будет применен для анализа в лабораторных условиях ключевых факторов и молекул, играющих роль в развитии патологического состояния и способствующих разработке новых терапевтических подходов.

Ожидаемые результаты:

В результате реализации программы будут:

1. Решена проблема повышения терапевтического регенераторного потенциала стволовых клеток и оценена онкобезопасность методов модулирования сигнальных путей стволовых прогениторных клеток.
2. Создан обширный биобанк мезенхимных стволовых клеток от больных с редкими генетически-обусловленными заболеваниями и получены индуцированные плюрипотентные клетки человека при многих редких формах наследственной и орфанной патологии.
3. Будет предложена технология получения и потенциального использования индуцированных плюрипотентных клеток человека в терапевтических целях.
4. Будет разработана технология комбинированного использования стволовых клеток в сочетании с олигонуклеотидной модификацией на основе антисенс-технологий в экспериментальных животных моделях.
5. Будут решена проблема роли эпигенетической регуляции стволовых прогениторных клеток из различных тканевых источников и определена связь данных механизмов регуляции с регенеративным потенциалом стволовых клеток.