

# **ПРИМЕНЕНИЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ IN VITRO ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ И СИСТЕМЫ КРОВИ**

Руководители темы:

Директор института молекулярной биологии и генетики, к. м. н. А. А. Костарева

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 рамках проекта ведется поиск новых научных данных о факторах, влияющих на функцию и дифференцировочный потенциал стволовых клеток, способах модулирования этих функций с целью повышения их терапевтического и регенераторного потенциала. Начато создание уникального биобанка мезенхимных стволовых клеток и полученных с их использованием индуцированных плюрипотентных клеток от больных с редкой генетически-обусловленной патологией. Планируется провести тестирование новых методов получения индуцированных плюрипотентных клеток человека дающие возможность последующего из применения в терапевтических целях. С целью выявления генетической природы заболевания проведено секвенирование 20 образцов ДНК пациентов с кардиомиопатиями и нарушениями ритма сердца методом секвенирования нового поколения с включением в исследуемую панель 108 генов. Для моделирования выявленных мутаций созданы вирусные конструкции на основе вирусного генома для последующей трансдукции стволовых клеток и изучения внутриклеточных механизмов развития заболевания.

Основной целью данного этапа работ было моделирование в различных клеточных моделях *in vitro* патологические процессов, наблюдаемых при различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы и системы крови. Основными клеточными объектами при моделировании являлись мезенхимные стволовые клетки, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, стромальные стволовые клетки мышечной ткани. Исследование включало два больших раздела. Первый раздел был посвящен выявлению генетических дефектов при различных моногенных заболеваниях сердца и поиску причинных мутаций методом секвенирования нового поколения. В дальнейшем, часть из выявленных генетических дефектов моделировалась в клеточных системах путем введения генетических конструкций, несущих обнаруженные генетические дефекты. Отдельным разделом проекта является создание банка первичных клеточных культур МСК от пациентов, имеющих известные генетические дефекты и исследование эффекта обнаруженных мутаций на данных культурах клеток.

Второй раздел работ был посвящен изучению функционального состояния прогениторных клеток у пациентов с сердечной недостаточностью и кардиометаболическим синдромом. Основной клеточной моделью в данном разделе исследований являлись стромальные стволовые клетки мышечной ткани и жировой ткани от пациентов с сердечной недостаточностью и пациентов контрольной группы без ХСН. В данной клеточной модели исследовались особенности метаболического статуса клеток-предшественников, выделенных из разных источников, их дифференцировочный, пролиферативный потенциал и секреторный статус, а также особенности эпигенетической регуляции и статус метилирования промотерных регионов ключевых регулирующих генов.

### **Заключение**

В результате проведенных работ были достигнуты запланированные результаты: оздана коллекция образцов ДНК и МСК больных с редкой патологией, проведено секвенирование нового поколения с определением причинных мутаций в группе из 46 пациентов, созданы и протестированы генетические конструкции, несущие мутации в генах ламина и плакофилина, начато изучение функциональных свойств клеток под действием данных мутаций. Продолжена работа по созданию коллекции иПК клеток от пациентов с редкой патологией, а также проведено изучение основных сигнальных путей в стромальных мультипотентных клетках, создана *in vitro* модель миелофиброза костного мозга. По теме проекта в течение года подготовлено 5 статей, 3 из которых опубликованы в рецензируемых российских журналах, 1 в зарубежном журнале и одна принята к публикации в зарубежную печать.

### **Список публикаций по теме исследования**

1. Богданова М. А., Костарева А. А., Малашичева А. Б. Роль сигнального пути Notch в дифференцировке мезенхимных стволовых клеток жировой ткани человека // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3: Биология. — 2014г. - №2. - С.94-104.
2. Давыдова А. Я., Смолина Н. А., Костарева А. А., Дмитриева Р. И., Разработка экспериментальных клеточных моделей исследования механизмов регенерации и дегенерации мышечной ткани *in vitro* // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3: Биология. — 2014г. - №4. - С.108-120.
3. Богданова М. А., Гудкова А. Я., Забирник А. А., Игнатьева Е. В., Дмитриева Р. И., Смолина Н. А., Костарева А. А., Малашичева А. Б. Роль ядерных ламинов в остеогенной дифференцировке мультипотентных мезенхимных стромальных клеток. // Цитология. — 2013г. - Т.55. - №1. - С.260-267.
4. Minullina IR, Alexeyeva NP, Anisimov SV, Puzanov MV, Kozlova SN, Sviryaev YV, Zaritskey AY, Shlyakhto EV. Transcriptional changes in bone marrow stromal cells of patients with heart failure. // Cell Cycle. 2014 May 1;13(9):1495-500. doi: 10.4161/cc.28472.
5. Dmitrieva R.I., Revitser A.V., Klukina M.A., Zaritskey A. Yu., Sviryaev U.V., Shlyakhto E.V. Proliferative activity of bone marrow derived multipotent mesenchymal stromal cells is altered in heart failure patients and could be corrected by adjustment of expansion strategies. *in press*