

параформа и замораживали на сухом льду. Криостатные срезы окрашивали иммуногистохимическим методом с использованием антител к нестину, нейрон-специфической енолазе, нейротрофному фактору мозгового происхождения BDNF, глиальному кисломому фибриллярному белку GFAP и CD-11 β . Обнаружено дозозависимое усиление экспрессии в области черной субстанции GFAP и увеличение количества CD-11 β иммунопозитивных клеток, интенсификация синтеза астроглиальными клетками BDNF после введения малой дозы ЛПС и приобретение микроглиальными клетками провоспалительного фенотипа под действием большой дозы эндотоксина. Кроме того, внутривенное введение малой дозы ЛПС увеличивало количество клеток, экспрессирующих нестин и нейрон-специфической енолазу, тогда как большая дозировка приводила к обратному эффекту. Полученные результаты позволяют предположить, что синтезируемые глиальными клетками в условиях низкой интенсивности воспалительного ответа факторы оказывают стимулирующее действие на пролиферацию и дифференцировку НСК, тогда как интенсивное нейровоспаление ингибирует эти процессы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 18-015-00177а.

НА ЭТАПАХ РАЗРАБОТКИ ТЕХНОЛОГИИ ФОРМИРОВАНИЯ КОНСТРУКТОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Наталья Сергеевна Сергеева¹, Валентина Александровна Кирсанова¹, Юсеф Джорджевич Хесуани², Павел Анатольевич Каралкин¹, Ирина Константиновна Свиридова¹

¹ *Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия;*

² *ЧУ «ЗД-Биопринтинг Солюшенс», Москва, Россия*

prognoz.06@mail.ru

Актуальность создания функционально активных конструктов щитовидной железы обусловлена неадекватностью заместительной гормонотерапии у пациентов, перенесших тиреоидэктомию по поводу доброкачественных или злокачественных новообразований. Терапевтические гормоны обеспечивают медленный подъем их концентрации в кровеносном русле с последующим монотонным убыванием без учета реальных потребностей организма.

Целью работы являлась разработка методик выделения, культивирования и масштабирования тиреоцитов (ТЦ), тиреоидных фолликулов (ТФ) и микроорганных (МО) культур ЩЖ человека как этапа создания тканеинженерных конструкций (ТИК). Объектами исследования служили фрагменты нормальной ЩЖ, полученные после тиреоидэктомии по поводу рака (n=31). ТЦ, ТФ и МО получали механической дезагрегацией ткани ЩЖ с последующим фильтрованием через серию сит. ТЦ, ТФ и МО культивировали (до 4,5 мес.) на полупроницаемых мембранах на границе раздела сред – поверхности гидрогеля на основе лизата тромбоцитов (ЛТ) человека и воздуха. В отдельной серии экспериментов МО культивировали на мембране в жидкой ростовой среде, обогащенной ЛТ. На этапах экспериментов в культурах оценивали долю жизнеспособных клеток (окраска Dil, МТТ), пролиферирующих клеток (экспрессия Ki67), способность захватывать йод (экспрессия NIS) и синтезировать

тиреоглобулин, а также долю стволовых предшественников ТЦ (экспрессия Oct3/4). Также на этапах экспериментов осуществляли прижизненную морфометрию.

Было установлено, что при 3D-культивировании одиночных ТЦ происходит быстрая (за 7 дней) селекция минорной (<5%) популяции Oct3/4⁺ клеток, формирующих «гнезда» из нескольких клеток, а далее – ТФ (в стенке которых выявляются Ki67⁺ клетки) с эпителиальной полярностью ТЦ и способностью синтезировать ТГ. При 3D-культивировании ТФ до 2-х месяцев происходит увеличение их размеров (на 13,9 \pm 1,3%), при этом ТФ сближаются и ассоциируют. В их стенке выявляются Ki67⁺ клетки. ТЦ в ТФ через 4,5 мес. сохраняют способность синтезировать ТГ.

При 3D-культивировании МО ЩЖ в течение 21 дня в них сохраняется фолликулярная структура, ТЦ в ТФ способны захватывать йод и синтезировать ТГ (NIS⁺, ТГ⁺). В ТФ визуализируются единичные Ki67⁺ клетки. Вокруг МО развивается соединительная ткань, объединяющая МО в единую структуру. По ее периферии выявляются единичные фибробластоподобные Ki67⁺ клетки.

Таким образом, нами была разработана система для 3D-культивирования структур ЩЖ человека разного уровня организации (ТЦ, ТФ, МО) как основа для создания ТИК.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ РНК ХЕЛИКАЗЫ DDX3 IN VITRO И IN VIVO

Ольга Владимировна Сергеева¹, Рената Салаватовна Ялчина¹, Татьяна Олеговна Абакумова¹, Татьяна Александровна Приказчикова¹, Илья Игоревич Курочкин¹, Тимофей Сергеевич Зацепин^{1,2}

¹ *Сколковский институт науки и технологии, Москва, Россия;*

² *МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

o.sergeeva@skoltech.ru

Белок DDX3 относится к семейству АТФ-зависимых РНК-хеликаз DEAD бокса, имеющих консервативный мотив Asp-Glu-Ala-Asp, которые были обнаружены у многих организмов – от дрожжей до человека. DDX3 является многофункциональным белком, участвующим в различных стадиях метаболизма РНК: транскрипции, сплайсинге, трансляции, транспорте и деградации [Y. Ariumi et al., 2014]. DDX3 является терапевтической мишенью в онкологии, разработана малая молекула-ингибитор хеликазной активности [M. Heerma van Voss et al., 2015]. С помощью подхода РНК-интерференции экспрессия хеликазы была снижена и были подобраны условия эффективного ингибирования в клеточной линии Нера1-6 (80 \pm 3% на уровне мРНК и 97 \pm 3% на уровне белка) и печени мыши. Для работы in vivo были выбраны две временные точки – 6 дней с эффективностью ингибирования мРНК DDX3 – 85 \pm 3%, белка – 63 \pm 4% и 13 дней с эффективностью ингибирования мРНК DDX3 – 70 \pm 16%, белка – 95 \pm 2%. В результате анализа данных высокопроизводительного РНК-секвенирования клеток были обнаружены изменения в экспрессии 107 генов, тогда как для печени были найдены изменения экспрессии 66 генов на 6 день ингибирования хеликазы DDX3 и 155 генов на 13 день ингибирования. Можно выделить, как общие для клеток и ткани изменения в биологических путях, таких как снижение метаболизма жирных кислот, ксенобиотиков, так и отличающиеся процессы.