

**Изучение снижения пролиферативных свойств клеток почек старых животных на модели трансгенных GFP-нестинных мышей**

**Научный руководитель – Плотников Егор Юрьевич**

**Буян Марина Игоревна**

*Студент (специалист)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

*E-mail: marinanenart@gmail.com*

В настоящее время ведется активная разработка методов, способных оказывать терапевтическое воздействие на острое почечное повреждение (ОПП) [1]. Данное заболевание представляет собой внезапное, потенциально обратимое снижение функции почек, в основе которого, в большинстве случаев, лежит нарушение работы или гибель эпителия почечных канальцев. В группе наибольшего риска находятся пожилые люди, т.к. до 90% больных с ОПП являются пациенты старше 65 лет [2]. Высокая доля больных ОПП в данной возрастной группе может объясняться тем, что с возрастом снижается регенеративная способность почечной ткани и ухудшается восстановление нефронов при их повреждении [3]. Понимание процессов, проводящих к ухудшению регенеративных свойств с возрастом, может стать важным звеном в разработке терапии ОПП.

Хотя наличие у почки высокого по сравнению с большинством органов регенеративного потенциала не вызывает сомнений, его природа до сих пор остается неизвестной [4]. Для раскрытия механизмов регенерации почки в данной работе проводился анализ пролиферативных свойств почечной ткани на молодых и старых трансгенных мышах, несущих GFP под нестинным промотером. Данные мыши являются перспективным объектом исследования стволовых и прогениторных клеток, поскольку известно, что экспрессия белка нестина в некоторых тканях ассоциирована с клетками, несущими признаки стволовости [5].

Целью данной работы было сравнить процессы пролиферации в почке у молодых и старых трансгенных мышей, несущих GFP под нестинным промотером, и оценить, насколько данные процессы снижаются с возрастом.

Эксперименты выполнялись как *in vivo*, так и *in vitro* на первичных культурах эпителия почечных канальцев, полученных из почек молодых и старых животных. Пролиферативный ответ *in vivo* был исследован в ответ на нефротоксическое действие цисплатина. Анализ количества GFP-положительных и пролиферирующих клеток проводили на зафиксированных срезах почек, а также с помощью электрофореза в полиакриламидном геле и вестерн-блоттинга. Был исследован уровень GFP в ткани, а также маркер пролиферации PCNA.

В первичных культурах эпителия почечных канальцев, полученных из почек молодых и старых мышей, с помощью флуоресцентной микроскопии оценивали динамику флуоресценции GFP в процессе длительного культивирования клеток. Также проводилось сравнение скорости пролиферации культур, в частности, с помощью прибора RTCA iCelligence, регистрирующего рост клеток в режиме реального времени. Для оценки выживания и пролиферации почечного эпителия после воздействия цисплатина был проведен тест МТТ.

Эксперименты показали, что первичная культура эпителия почечных канальцев от старой мыши характеризуется более медленной скоростью пролиферации. Количество GFP-положительных клеток в первичной культуре от старой мыши было значительно снижено по сравнению с культурой от молодого животного, что может свидетельствовать о потере

старыми клетками стволовых свойств. Было обнаружено, что жизнеспособность культур от старых мышей при воздействии цисплатина также снижается. Аналогичные изменения наблюдались *in vivo*. Старые мыши характеризовались более низким уровнем GFP в почечной ткани, чем молодые животные. Исследование уровня PCNA выявило снижение количества пролиферирующих клеток в ответ на цисплатиновую нефротоксичность.

Таким образом, в данной работе было показано, что с возрастом происходит ухудшение пролиферативных свойств в ткани почки, в том числе, в ответ на повреждение. Возможным механизмом этих изменений является истощение пула тканеспецифических стволовых клеток. Можно предположить, что воздействие на пролиферацию клеток почки и тем самым повышение ее регенеративного потенциала может стать перспективным методом в терапии ОПН.

Работа поддержана грантом РНФ #18-15-00058.

### Источники и литература

- 1) Zuk, A.; Bonventre, J. V. Acute Kidney Injury. *Annu. Rev. Med.* 2016, 67, 293–307.
- 2) Rosner, M.H. Acute Kidney Injury in the Elderly. *Clin. Geriatr. Med.* 2013, 29, 565–578.
- 3) Rosner, M.H.; La Manna, G.; Ronco, C. Acute Kidney Injury in the Geriatric Population. *Contrib. Nephrol.* 2018, 193, 149–160.
- 4) Andrianova, N. V.; Buyan, M.I.; Zorova, L.D.; Pevzner, I.B.; Popkov, V.A.; Babenko, V.A.; Silachev, D.N.; Plotnikov, E.Y.; Zorov, D.B. Kidney cells regeneration: Dedifferentiation of tubular epithelium, resident stem cells and possible niches for renal progenitors. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20.
- 5) Patschan, D.; Michurina, T.; Shi, H.K.; Dolff, S.; Brodsky, S. V.; Vasilieva, T.; Cohen-Gould, L.; Winaver, J.; Chander, P.N.; Enikolopov, G.; et al. Normal distribution and medullary-to-cortical shift of Nestin-expressing cells in acute renal ischemia. *Kidney Int.* 2007, 71, 744–754.