

***In vitro* модель на основе клеток человеческой дефинитивной энтодермы для исследования патогенеза болезни Вильсона–Коновалова**

М.А. Берестовой^{1,2*}, В.Д. Стародубова², Е.В. Карпухина², А.С. Баранова², А.В. Иваненко², А.Г. Шохина^{1,2}

¹ Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва, Россия

² Российский научно-исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

* berestovoy@fccps.ru

Ключевые слова: болезнь Вильсона-Коновалова; АТР7В; перегрузка медью; дефинитивная энтодерма; клеточная модель

Human definitive endoderm-based *in vitro* model for studying the pathogenesis of Wilson disease

M.A. Berestovoy^{1,2*}, V.D. Starodubova², E.V. Karpukhina², A.S. Baranova², A.V. Ivanenko², A.G. Shokhina^{1,2}

¹ Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

* berestovoy@fccps.ru

Key words: Wilson disease; ATP7B; copper-overload cirrhosis; definitive endoderm; cell model

Болезнь Вильсона-Коновалова – редкое аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное нарушением метаболизма меди в организме. Патогенез заболевания связан с мутациями в гене АТР7В, кодирующем медь-транспортирующую АТФазу. Существующие клеточные модели ограничены генетической нестабильностью и низкой пролиферацией. Модель на основе клеток дефинитивной энтодермы (ДЭ) может устранить эти ограничения, упростить и удешевить исследование болезни.

Целью работы является разработка *in vitro* модели на основе клеток человеческой ДЭ, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), для исследования патогенеза болезни Вильсона-Коновалова и поиска новых методов медикаментозного лечения. Процесс создания модели включал: 1) дифференцировку ИПСК в присутствии активина А и СНIR99021; 2) моделирование перегрузки медью путем добавления экзогенной меди в ростовую среду; 3) оценку относительной выживаемости клеток с помощью красителя Alamar Blue.

Клетки ДЭ демонстрировали характерный фенотип и экспрессировали маркеры SOX17, FOXA2 и АТР7В. Полученная модель демонстрировала чувствительность к перегрузке экзогенной медью с IC₅₀ - 197 мкМ.

Созданная платформа на основе клеток ДЭ, полученных из ИПСК здорового донора, позволяет моделировать перегрузку меди *in vitro*, имитируя нарушение ее клеточного метаболизма при болезни Вильсона-Коновалова. Модель преодолевает ограничения иммортализованных культур, и первичных, а также дифференцированных из ИПСК, гепатоцитов. Однако неполная зрелость клеток ДЭ остается ограничением. Будущие исследования могут включать использование 3D систем ко-культивирования для повышения зрелости и моделирования межклеточного взаимодействия различных типов клеток в печени.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 24-74-10106.