



КРАСНОЯРСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

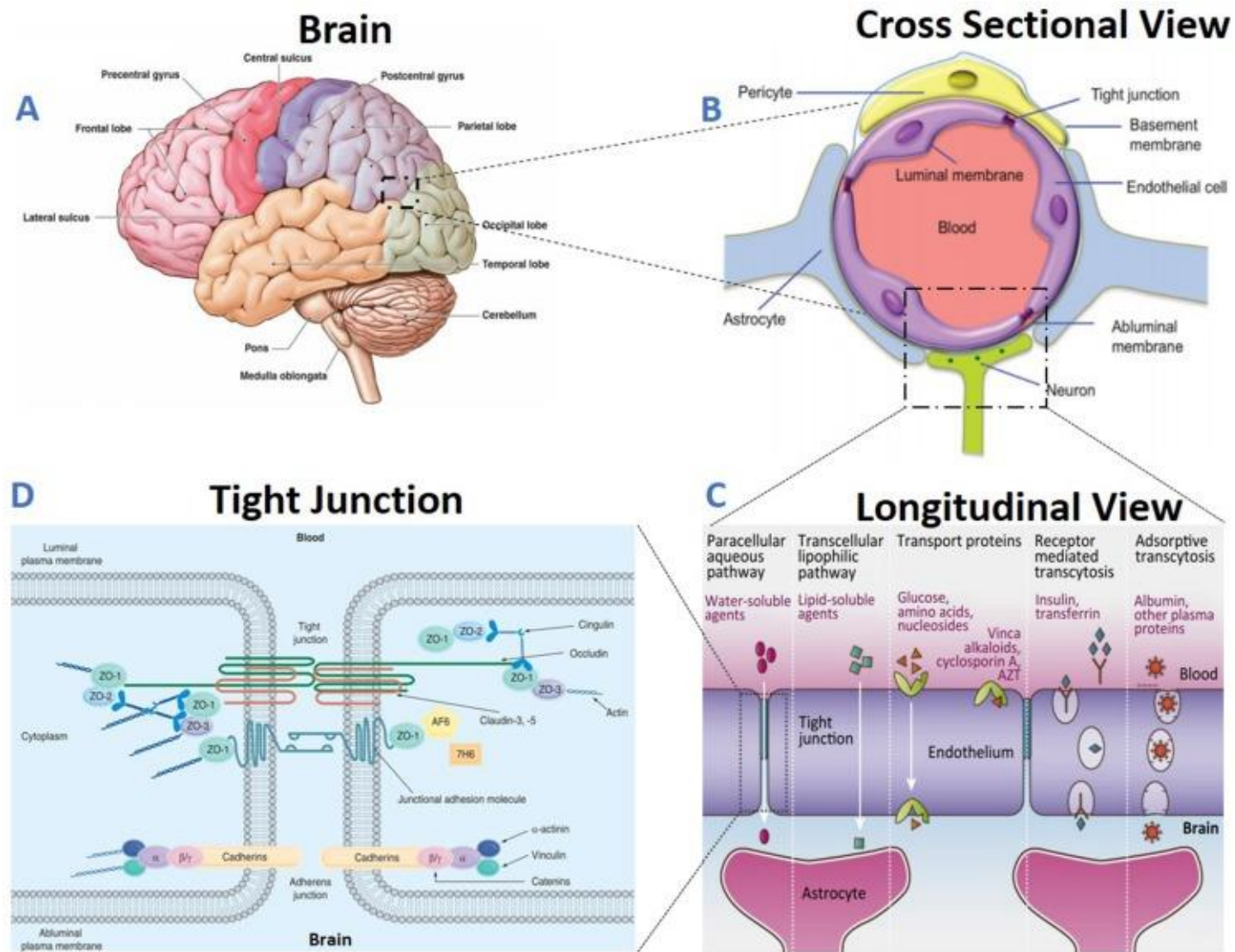


Клеточные технологии в изучении ГЭБ *in vitro*

Мосягина Ангелина Ивановна
м.н.с. НИИ молекулярной медицины и
патобиохимии КрасГМУ

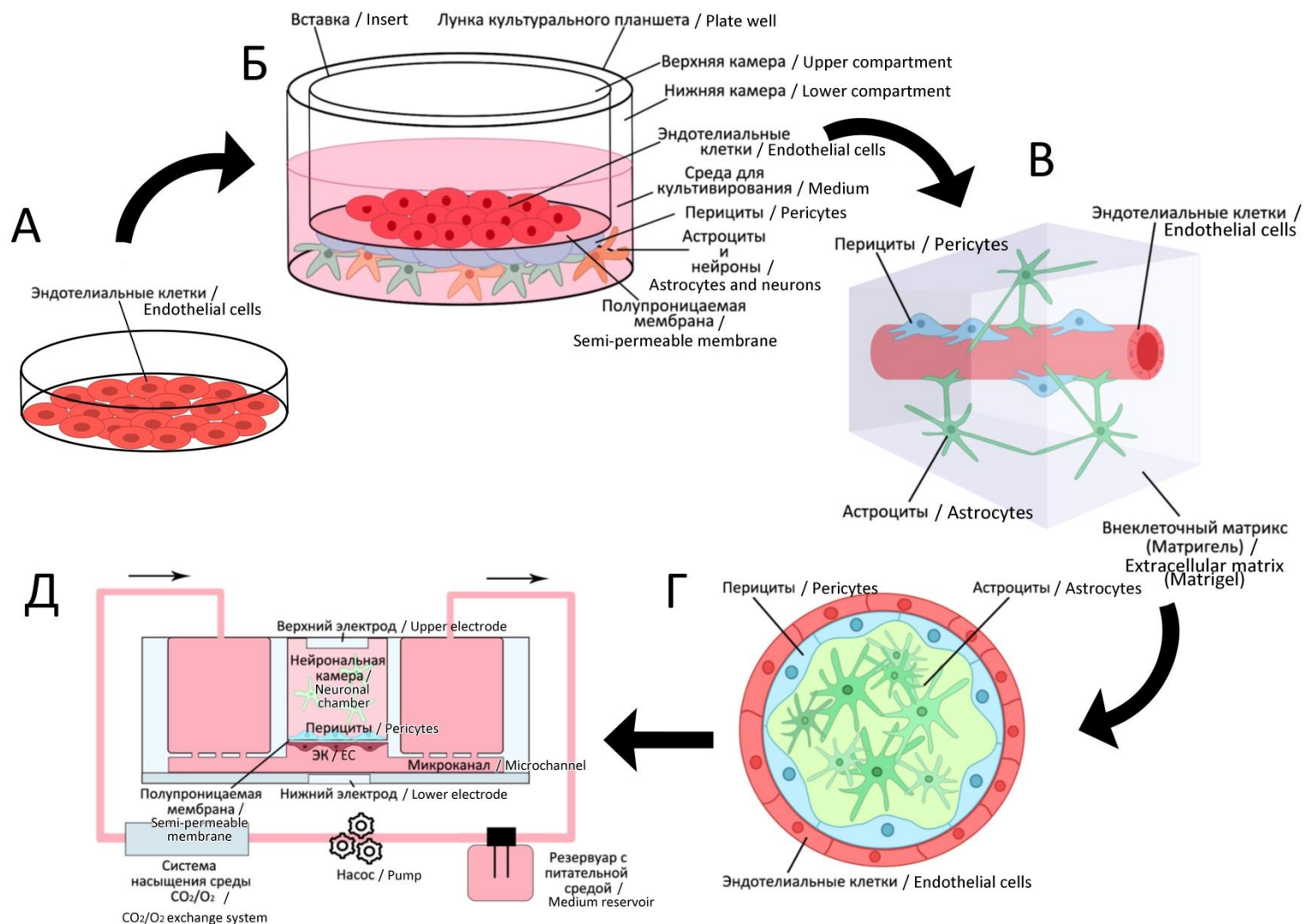
Красноярск 2021

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ)

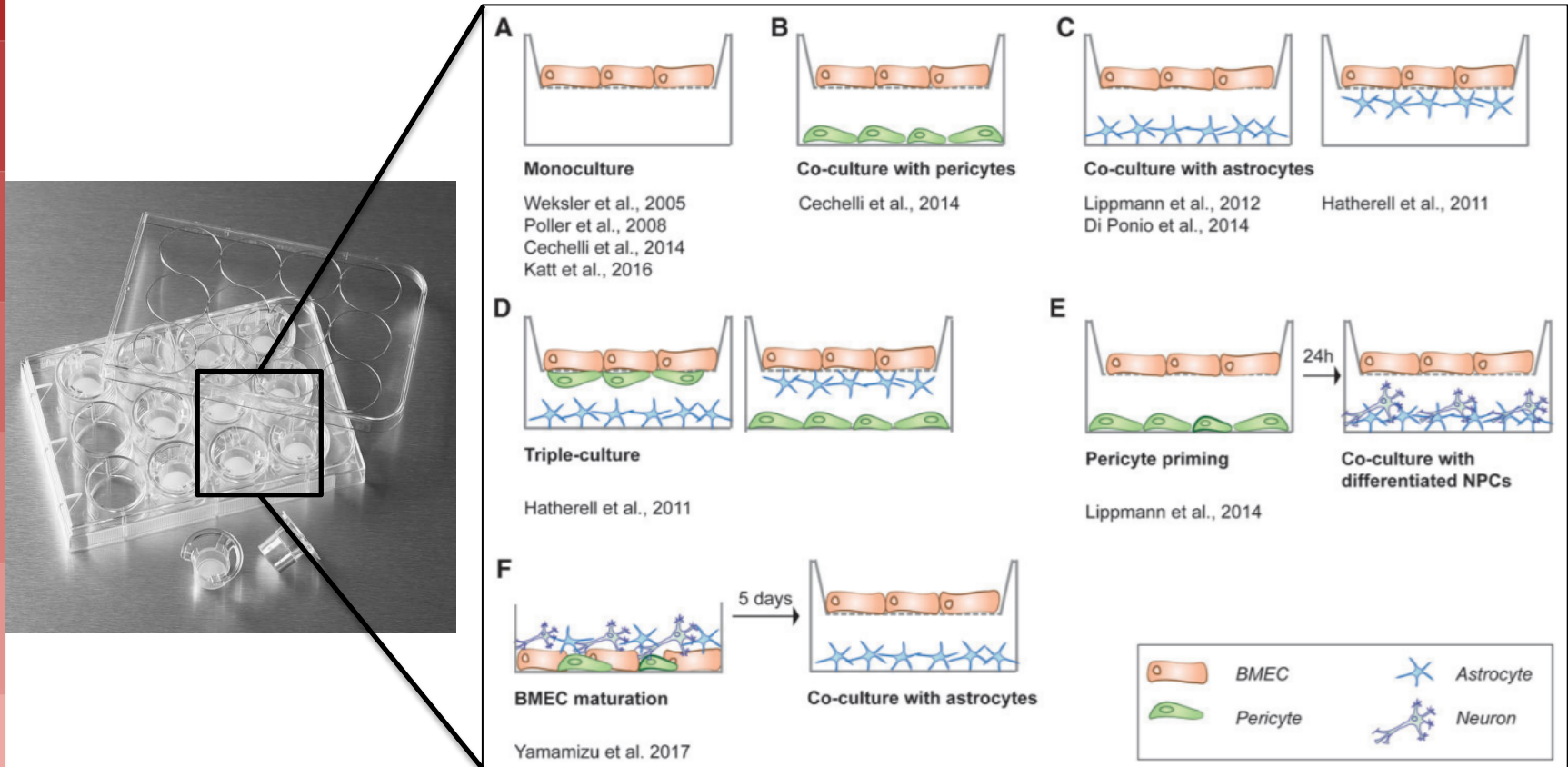


Bagchi S, Chhibber T, Lahooti B, Verma A, Borse V, Jayant RD. In-vitro blood-brain barrier models for drug screening and permeation studies: an overview. *Drug Des Devel Ther.* 2019 Oct 18;13:3591-3605. doi: 10.2147/DDDT.S218708

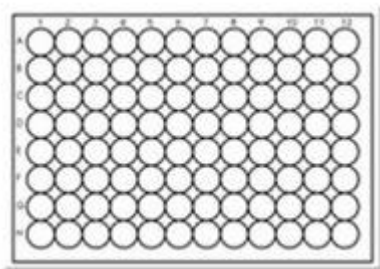
Модели ГЭБ/НВЕ *in vitro*



Trans-well модель ГЭБ *in vitro*



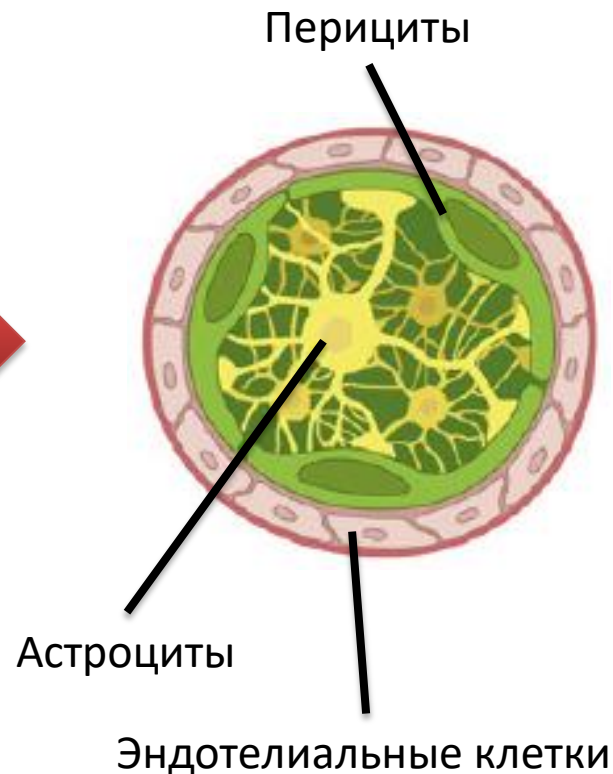
Сфероидная модель ГЭБ *in vitro*



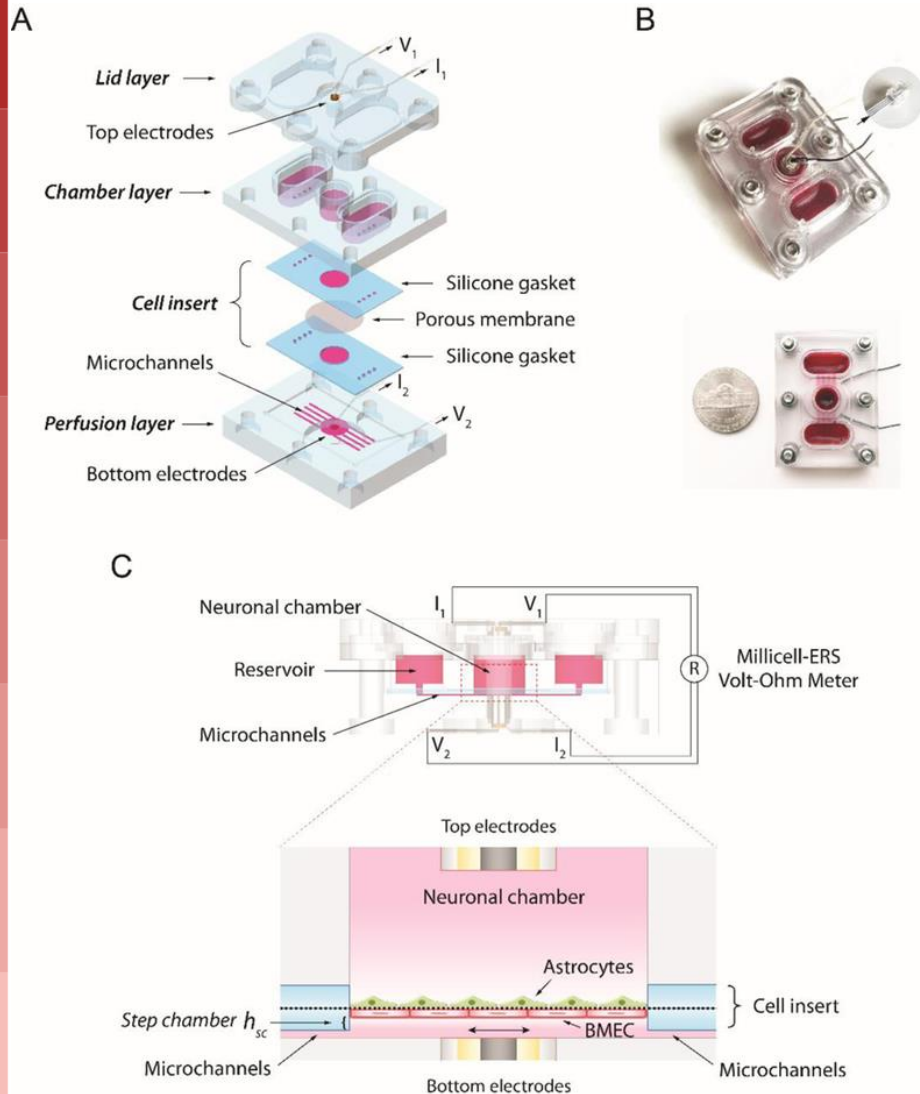
ULA 96-луночные
круглодонные
планшеты
для
культивирования



1 сфероид
на лунку



Микрофлюидика в изучении ГЭБ *in vitro*



Wang Yi, Abaci HE, Shuler ML. Microfluidic blood-brain barrier model provides in vivo-like barrier properties for drug permeability screening. *Biotechnol Bioeng*. 2017 Jan;114(1):184-194. doi: 10.1002/bit.26045

Используемые методы

- Выделение и культивирование мышинных/крысиных клеток эндотелия микрососудов головного мозга, астроцитов, перицитов, нейросфер;



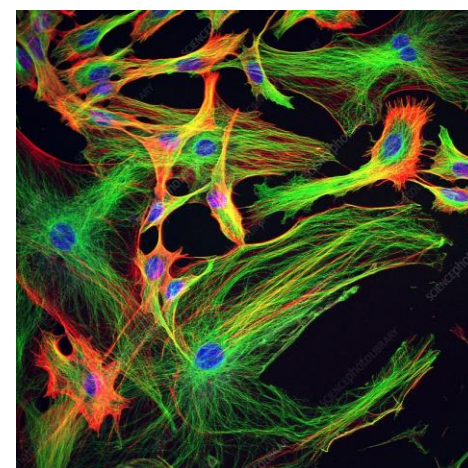
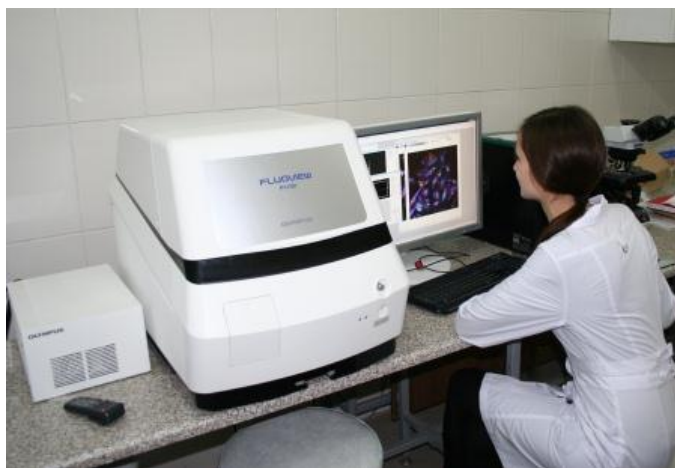
Используемые методы

- Мониторинг пролиферации и дифференцировки культур клеток методом световой микроскопии;
- Приготовление органотипических срезов с использованием тканевого чоппера;



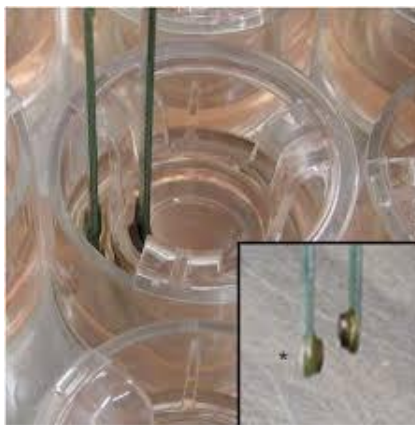
Используемые методы

- Детекция клеточных маркеров методом иммуноцитохимического исследования с последующей флуоресцентной микроскопией;



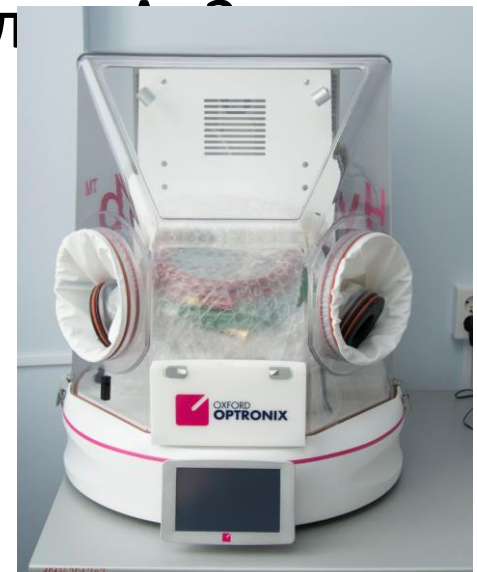
Используемые методы

- Оценка жизнеспособности клеточных культур с помощью анализатора RTCA xCelligence;
- Оценка трансэндотелиального электрического сопротивления (ТЭС);



Используемые методы

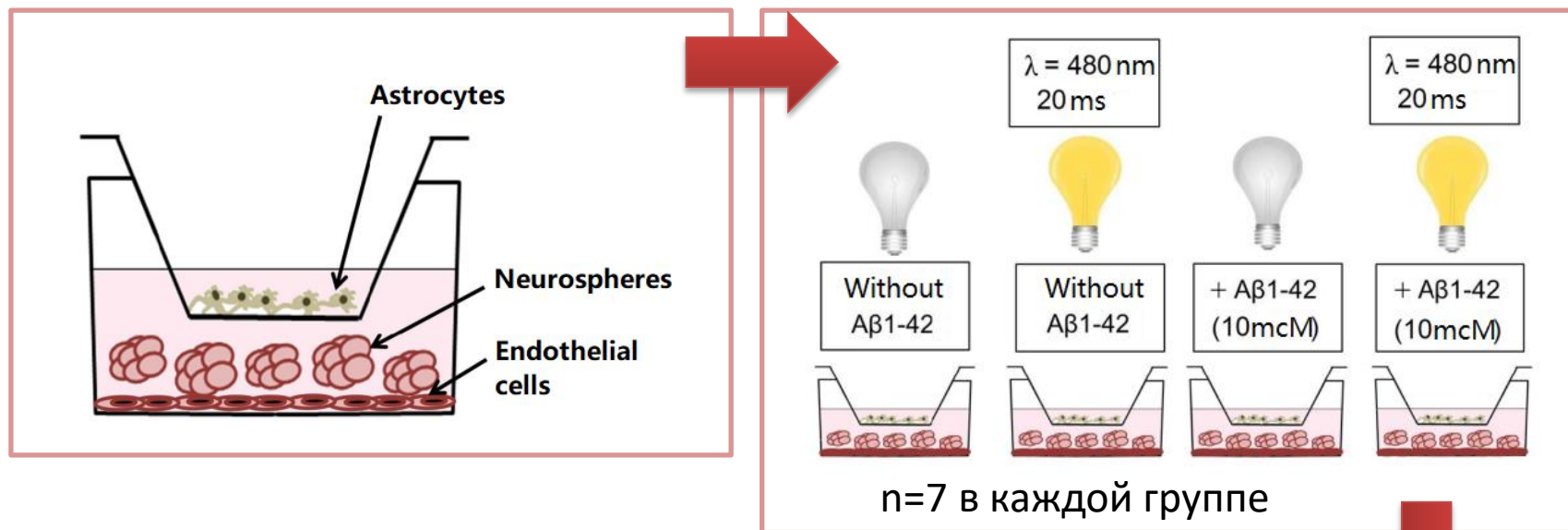
- Моделирование условий гипоксии, гиперкапнии, нейровоспаления, нейродегенерации в культурах клеток и органотипических срезах;
- Использование различных модуляторов активности клеток (siRNA, циклофилл, Дезокси-D-Глюкоза и др.);



Используемые методы

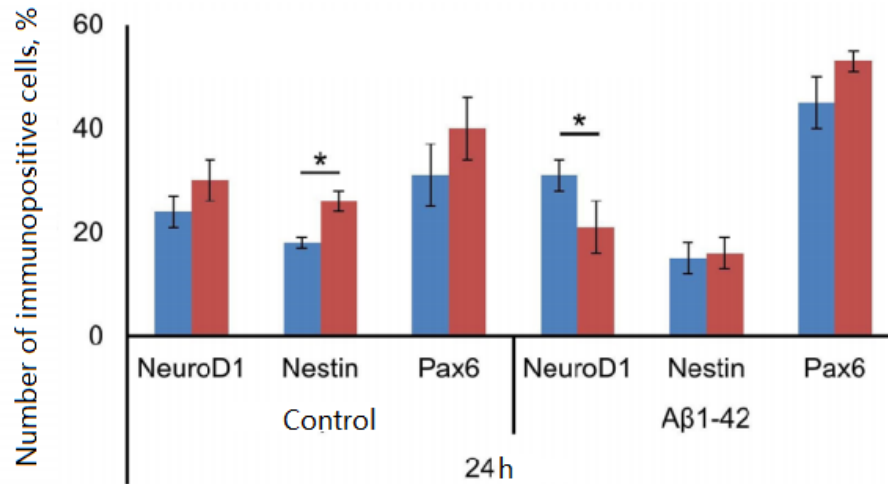
- Сокультивирование клеток ГЭБ с опухолью (глиома);
- Изучение механизмов управляемой проницаемости ГЭБ путем воздействия звука большой интенсивности и лазерного излучения (1028 нМ);
- Изучение влияния препаратов на клетки ГЭБ (коэнзим Q10);
- Тестирование биоматериалов для создания клеточных матриц;

Оптогенетика



- Исследование проводилось на модели нейрогенной ниши *in vitro* с использованием оптогенетического протокола фотоактивации астроцитов, экспрессирующих GFAP-ChR2-mKate, во временных точках: 6 ч, 12 ч, 18 ч.
- ИЦХ регистрация **Pax6**, **NeuroD1**, **Nestin** и **PCNA**.
- Оценка пролиферации при воздействии амилоида и фотоактивации с помощью xCelligence (Roche, Switzerland).
- Статистический анализ.

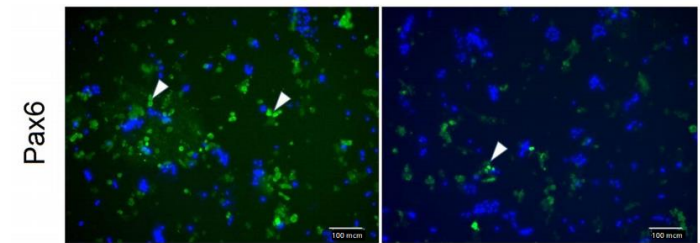
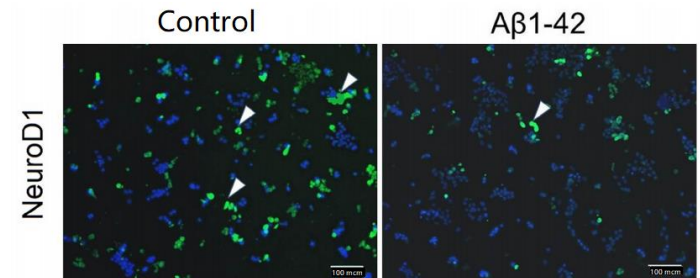
Результаты: ИЦХ



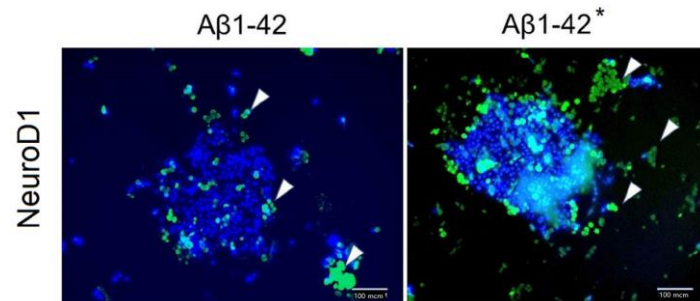
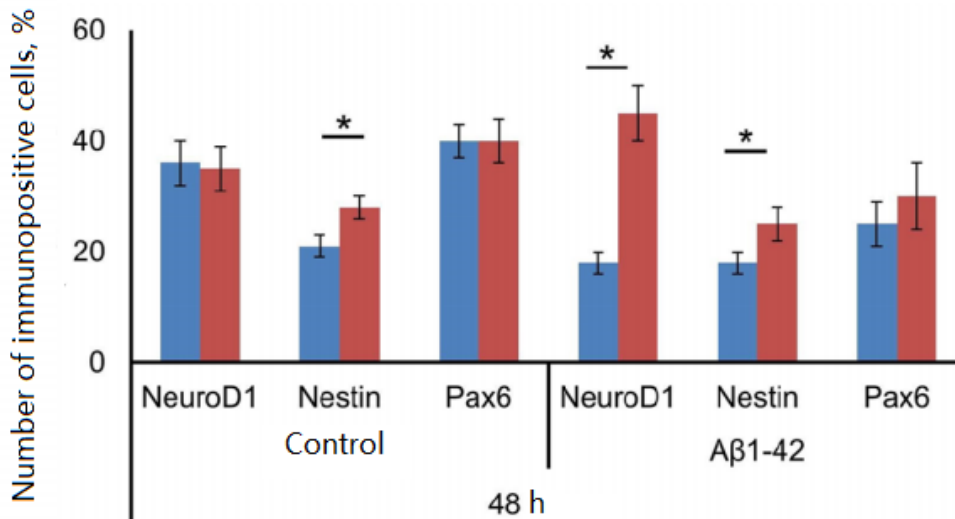
Without photoactivation

With photoactivation, $\lambda = 480$ nm, 20 ms

*(p < 0.01)



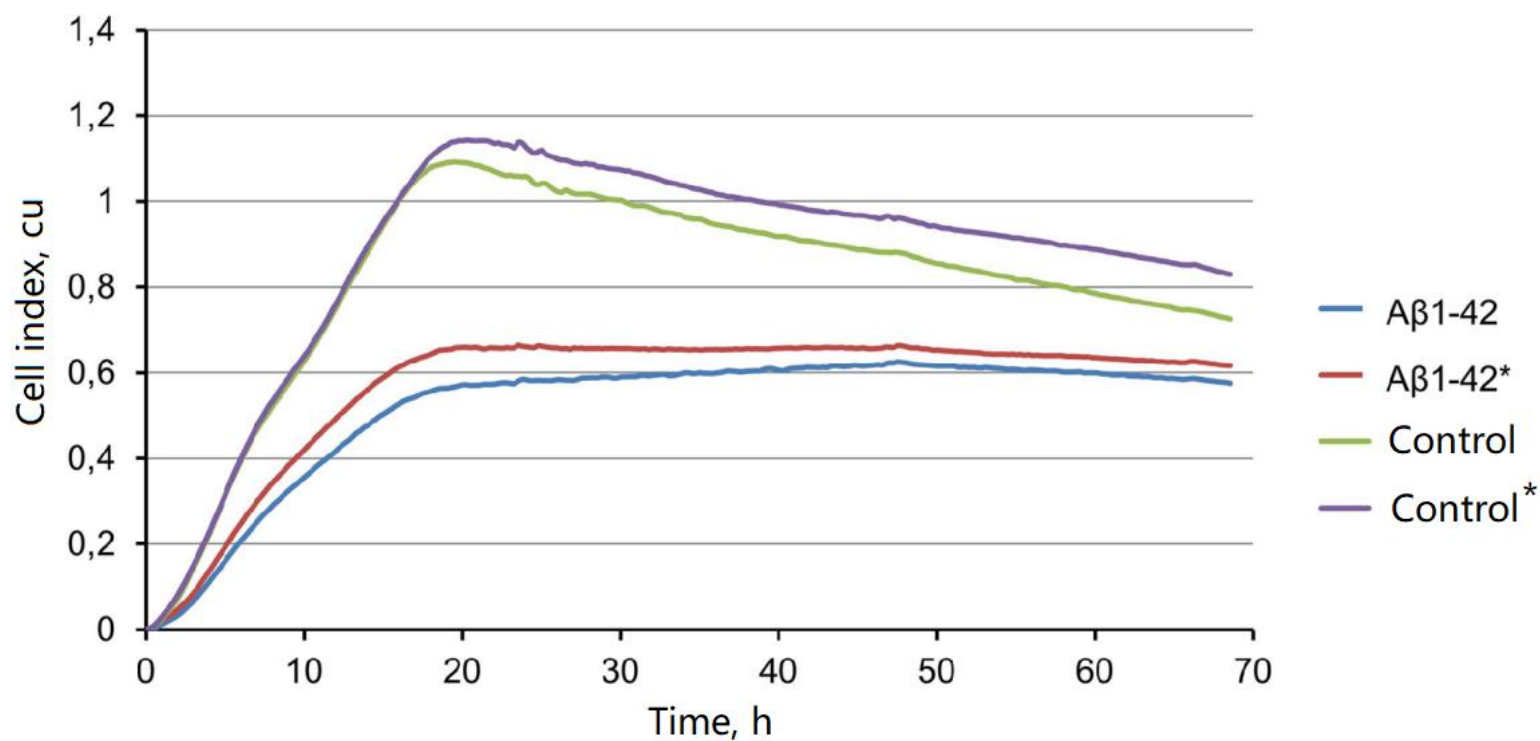
48 h



48 h

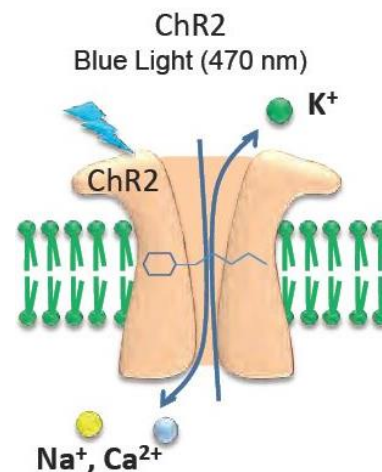
*photoactivation

Результаты: оценка пролиферации



Выводы

- Фотоактивация астроцитов вызвала мобилизацию клеток с высоким пролиферативным потенциалом как в контрольной группе, так и в присутствии амилоида;
- Таким образом, оптогенетическая стимуляция показала свою эффективность в редуцировании повреждающего действия амилоида на гиппокампальные стволовые и прогениторные клетки.



- Авторы выражают благодарность проф. Каспарову С.А. (Бристольский университет, Англия) за предоставленные аденовирусные векторы;
- Данная работа выполнена при поддержке ГЗ МЗ РФ (2018-2020) «Новые технологии управления нейрогенезом и ангиогенезом в головном мозге».

Области исследований с использованием моделей ГЭБ *in vitro*

Изучение свойств ГЭБ в норме и при патологии:

- Изучение межклеточных взаимодействий;
- Исследования эндо- и трансцитоза, рецепторно-лигандных взаимодействий;
- Изучение проницаемости ионов и макромолекул;
- Разработка механизмов регулируемого транспорта в ЦНС;
- Исследование токсичности веществ для ЦНС;
- Моделирование патологий ЦНС;
- Изучение влияния патогенных факторов: вирусов, бактерий, паразитов, грибов и др.

Научная группа



**Моргун Андрей
Васильевич**
д.м.н., доцент,
ректор
педиатрического
факультета КрасГМУ



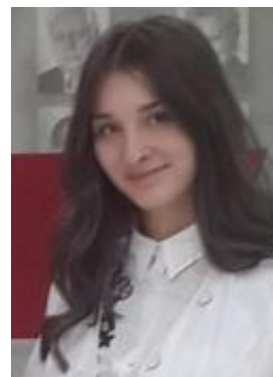
**Тепляшина Елена
Анатольевна**
Старший научный
сотрудник НИИ
молекулярной
медицины и
патобиохимии
КрасГМУ



**Хилажева Елена
Дмитриевна**
Научный сотрудник НИИ
молекулярной медицины
и патобиохимии КрасГМУ



**Бойцова Елизавета
Борисовна**
Врач-инфекционист ККБ
№1



**Мосягина Ангелина
Мосягина**
Младший научный
сотрудник НИИ
молекулярной медицины
и патобиохимии КрасГМУ



Спасибо за внимание!

Контактная информация:

angelina.mosiagina@gmail.com

+7-913-566-73-54