

* * *

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ МОТОНЕЙРОНОВ ПРИ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ

Шишмаков М.А.¹, Воловиков Е.А.²,
Харитонов А.Е.², Богомазова А.Н.², Бакаева З.В.^{1,3}

¹Национальный медицинский исследовательский центр
здоровья детей Минздрава России, Москва, Россия;

²Федеральный научный клинический центр физико-
химической медицины имени Ю.М. Лопухина, Москва,
Россия;

³Первый Московский государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский
Университет), Москва, Россия

Ключевые слова: *спинальная мышечная атрофия;
индуцированные плюрипотентные стволовые клетки;
глутаматные рецепторы; кальциевый гомеостаз;
митохондриальная дисфункция*

Актуальность. Спинальная мышечная атрофия (СМА) — наследственное нервно-мышечное заболевание, приводящее к прогрессирующей гибели мотонейронов (МН). Для исследования молекулярных механизмов прогрессирования СМА и тестирования веществ, обладающих свойствами нейропротекции, необходимы клеточные модели СМА, наиболее релевантными из которых являются модели на основе пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). **Цель:** определить нарушения кальциевого гомеостаза и митохондриальной дисфункции СМА МН, полученных из пациент-специфичных ИПСК.

Материалы и методы. В работе были использованы пациент-специфичная линия ИПСК от больного с СМА 2-го типа (m3SMA20) и линия от здорового донора (FF1S). Дифференцировку в спинальные МН осуществляли по протоколу с DUAL SMAD ингибированием. Мотонейрональный фенотип был подтверждён иммуноцитохимическим анализом экспрессии маркеров OLIG2, Isl1, ChAT, βIII-тубулина. Стимуляцию дифференцированных МН проводили агонистами глутаматных рецепторов. Функционирование ионотропных глутаматных рецепторов МН оценивали по изменению цитозольной концентрации кальция ($[Ca^{2+}]_i$) при их стимуляции. Кальциевые ответы и митохондриальный потенциал регистрировали при помощи Fura-2 и Rh123 соответственно.

Результаты. Полученные МН экспрессировали ацетилхолинтрансферазу и глутаматные рецепторы. При стимуляции СМА МН 500 мкМ глутаматом натрия (Glu) наблюдали более слабый подъём $[Ca^{2+}]_i$ по сравнению с контрольной группой. При селективной стимуляции метаботропных

(mGluR) и аминокислотных рецепторов (AMPA/KAR) не обнаружили кальциевого ответа в СМА МН, что указывает на их функциональную инактивацию, а при избирательной стимуляции N-метил-D-аспартатных рецепторов (NMDAR) больные МН характеризовались более слабым кальциевым ответом. При воздействии Glu на СМА МН в присутствии антагониста NMDAR — дициклопипина (MK801) уровень повышения $[Ca^{2+}]_i$ в СМА МН был минимальным, что подтверждает главную и, возможно, единственную роль NMDAR в глутаматергической нейротрансмиссии СМА МН. Данные нарушения сопровождались более низкой скоростью восстановления базальной $[Ca^{2+}]_i$ в постглутаматный период в присутствии ЭГТА, что косвенно свидетельствует о низком уровне АТФ в СМА МН. При помощи индуктора митохондриальной деполяризации FCCP обнаружили более низкую кальций-депонирующую ёмкость митохондрий в СМА МН, вероятно, по причине низкого митохондриального потенциала. Дополнительно зафиксировали митохондриальную деполяризацию в СМА МН при стимуляции нетоксической дозой Glu, использованной в работе, что, по всей видимости, является следствием митохондриальной дисфункции.

Заключение. СМА МН, полученные из пациент-специфичных ИПСК, демонстрируют нарушения кальциевого гомеостаза и функций митохондрий. Основной вклад в кальциевый ответ на Glu больных МН вносят NMDAR. Эти изменения отражают ключевые патогенетические механизмы заболевания и свидетельствуют о значимости ИПСК-модели для доклинических исследований и разработки таргетной терапии.

* * *