

Функциональная активность Сертоли-подобных клеток в семеннике *in vivo*

Научный руководитель – Кулибин Андрей Юрьевич

Мун Валерий Владимирович

Аспирант

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

E-mail: valeriy2125@gmail.com

Для развития репродуктивной биологии и медицины фундаментальное значение имеет развитие искусственных репродуктивных технологий. Так, модели сперматогенеза *in vitro* способствуют исследованию механизмов развития гамет, разработке методик лечения мужского бесплодия и развитию методик получения гамет из соматических клеток. Одной из ключевых клеточных популяций семенника, поддерживающих сперматогенез, является расположенная в извитых семенных канальцах популяция клеток Сертоли (КС). Данные клетки при совместном культивировании с половыми клетками способны обеспечивать их дифференцировку. Примечательно, что нет эффективных методик поддерживать сперматогенез в культуре при помощи клеток Сертоли взрослых животных, что, в том числе, связано со сложностью их культивирования. В основном применяются недифференцированные, пролиферирующие клетки новорожденных животных, что делает затруднительным изучение сперматогенеза человека с использованием подобной методики.

Нами в области сети семенника была открыта новая популяция соматических клеток гонады, которую мы назвали Сертоли-подобные клетки (СПК). Они обладают схожим с КС профилем экспрессии, меньшим уровнем *Dmrt1*, фактора важного для поддержания КС в дифференцированном состоянии, но активной пролиферацией в культуре. Кроме того, в условиях 3D-культивирования с неонатальными КС, СПК способны поддерживать развитие половых клеток до начальных стадий мейоза. Таким образом, СПК могут стать высокопролиферативной альтернативой КС в методиках *in vitro* сперматогенеза, однако требуется более точная оценка способности СПК поддерживать сперматогенез.

Целью текущей работы является разработка модели для оценки функциональной активности культуры СПК в условиях *in vivo* семенника. Для этого мы, при помощи катионного детергента хлорида бензалкония (ХБ), удаляли КС из извитых семенных канальцев, после чего трансплантировали донорские СПК или неонатальные КС в обработанный семенник. ХБ инъецировали в извитые семенные канальцы через сеть семенника при помощи стеклянного микрокапилляра и для подбора оптимальной концентрации детергента тестировали серию его разведений, от 0,02%, до 0,15%. Результат оценивали на 4 сутки после операции. Анализ, проведенный посредством гематоксилин-эозиновой окраски и иммунофлуоресцентной окраски на маркер КС и СПК - *Sox9*, показал, что эффект от инъекции заключается в снижении сперматогенного эпителия и гибели КС. Оптимальной была выбрана 0.1% концентрация детергента, вызывающая гибель КС трети извитых семенных канальцев. Далее, на 4 сутки после инъекции хлорида бензалкония, в опустошенные семенные канальцы трансплантировали суспензию неонатальных КС или СПК. Трансплантация неонатальных КС использовалась в качестве контроля, анализ проводили на 4, 14 и 28 сутки. В результате было установлено, что трансплантированные СПК проявляют аналогичное неонатальным КС поведение, а именно остаются жизнеспособными в семенниках реципиента, заполняют свободные от КС реципиента семенные канальцы и формируют канальце-подобные структуры. СПК имеют отростчатую структуру, схожую с нативными КС в сперматогенном эпителии и сохраняют экспрессию типичных для КС транскрипционных факторов, таких как *Sox9* и *Dmrt1*.

В дальнейшем, для непосредственной оценки способности СПК поддерживать сперматогенез, планируется совместная трансплантация культуры СПК и сперматогониальных стволовых клеток.

Таким образом, мы разработали тестовую систему, которая позволит прицельно оценить способность СПК поддерживать сперматогенез, что в дальнейшем поможет в развитии систем *in vitro* сперматогенеза на основе этих клеток.

Источники и литература

- 1) Kulibin A.Y., Malolina E.A. Only a small population of adult Sertoli cells actively proliferates in culture // *Reproduction*. 2016. V. 152. No 4. P. 271–281.
- 2) Malolina E.A., Kulibin A.Y. The rete testis harbors Sertoli-like cells capable of expressing DMRT1 // *Reproduction*. 2019. V. 158. No 5. P. 399–413.