Нина КРАСКОВСКАЯ: «Я ни разу не пожалела, что ушла в науку»

Нина КРАСКОВСКАЯ: «Я ни разу не пожалела, что ушла в науку»

Молодые ученые Политеха ежегодно побеждают в конкурсах на получение стипендий президента и правительства страны. Разработки каждого стипендиата имеют научную значимость и используются на практике, по многим получены патенты, а результаты исследований опубликованы в ведущих отечественных и зарубежных научных изданиях. Сегодня в рубрике «Персона» знакомимся с Ниной КРАСКОВСКОЙ, которая работает в Лаборатории молекулярной нейродегенерации Института биомедицинских систем и технологий (ИБСиБ) СПбПУ и занимается изучением молекулярных механизмов патогенеза болезни Хантингтона, а также репрограммированием нейронов человека — проще говоря, превращает клетки кожи в нейроны. Сначала такая трансформация удалась с клетками мыши, позже — и с клетками человека. А ведь если репрограммирование клеток удастся осуществить в живом организме, это откроет прямой путь к разработке новых лекарственных препаратов и даже новых терапевтических методик.

В 2020 году Нина получила стипендию Президента РФ для молодых ученых и аспирантов за разработку новой тест-системы на основе прямого репрограммирования фибробластов пациентов в нейроны для подбора персонализированной терапии и оценки эффективности потенциальных лекарственных препаратов при болезни Хантингтона. В интервью молодой ученый объяснила суть этой работы, рассказала о том, как пришла в науку и почему выбрала это направление, а также о стажировке в Америке, которая пришлась как раз на начало пандемии, и о том, почему считает, что конкуренция между научными группами — это здорово.

- Нина, вы занимаетесь изучением нейродегенеративных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона. На сегодняшний день эти заболевания являются огромной медицинской, социальной и научной проблемой. И ваши исследования настолько перспективны, что вы оказались в числе тех, кто получил президентскую стипендию для их продолжения. Можете простыми словами объяснить суть этой работы?

- Я изучаю молекулярные механизмы патогенеза болезни Хантингтона с уклоном на персонализированную медицину. Налаживаю работу с нейронами человека, репрограммированными из клеток кожи. Другим способом получить нейроны человека практически невозможно, ведь для этого потребовалась бы извлечь определенную часть мозга пациентов, поэтому большинство исследований проводится на трансгенных животных. Из новорожденных особей выделяются первичные культуры, дальше клетки культивируются, проводятся различные эксперименты, морфологические исследования и таким образом мы пытаемся установить

молекулярные механизмы, которые лежат в основе патогенеза нейродегенеративных заболеваний. Дальше идет поиск мишеней, на которые можно воздействовать, чтобы заболевание вылечить или, по крайней мере, существенно остановить его развитие и прогрессирование.

- Для неспециалиста это фантастически звучит — ученые превращают клетки кожи в клетки головного мозга.

- Постулат, согласно которому клетка того или иного типа, например клетка кожи, остается таковой до самой своей гибели, долгое время являлся основой основ биологии развития. В природе этот постулат по-прежнему непоколебим, а вот в исследовательских лабораториях сегодня уже не действует. Медики всего мира надеются научиться лечить нейродегенеративные заболевания, которые возникают в связи с расстройствами функций нейронов, повреждениями нейронной сети, а также связанные с генетическими или возрастными изменениями, благодаря как раз-таки клеткам, способным трансформироваться в клетки различных тканей и органов. Наиболее перспективны в этом отношении эмбриональные стволовые клетки. Однако эксперименты на эмбриональных, то есть зародышевых стволовых клетках, сомнительны с этической точки зрения. Поэтому огромное значение приобрели научные работы по перепрограммированию клеток.

Цель этих исследований в том, чтобы научиться из обычных соматических клеток, имеющихся в любом взрослом организме, получать клетки, практически идентичные эмбриональным стволовым. Иными словами, речь о том, чтобы искусственно повернуть вспять развитие взрослых клеток, вновь придать им былую способность дифференцироваться в клетки разных органов и тканей. Такие модифицированные клетки называются индуцированными плюрипотентными (многофункциональными) стволовыми клетками (иПСК). А название — induced pluripotent stem (iPS) cells — предложил японский ученый, профессор Университета Киото Синъя Яманака. В 2007 году после долгих экспериментов на мышах он первый смог осуществить такое перепрограммирование клеток организма человека. Активации всего лишь четырех транскрипционных (репрограммирующих) факторов оказалось достаточно для того, чтобы превратить взрослые, уже дифференцированные клетки, называемые фибробластами (взятые из мышиной кожи), обратно в плюрипотентные стволовые клетки. Из таких индуцированных плюрипотентных стволовых клеток можно получать разные типы зрелых клеток, включая клетки кожи, нейроны головного мозга и клетки сердечной мышцы. В 2012 году профессор Яманака получил за эти работы Нобелевскую премию по физиологии и медицине.

- Нина, а почему вы выбрали такое сложное направление? Возможно, это династийная история и вам родители посоветовали?

- Нет, мои родители абсолютно из другой области. Единственное, бабушка, ее тоже зовут Нина, после войны, после того как вернулась из концлагеря, поняла, что ее призвание — помогать людям, и стала большим активистом Красного Креста. И до сих пор остается. В семье считают, что я пошла бабушку, она у меня еще и Почетный донор.

Первое высшее образование я получала в Политехническом университете на радиофизическом факультете. Но очень хотелось заниматься чем-то более прикладным. Во время обучения один из моих близких родственников заболел нейродегенеративным заболеванием, поэтому я стала много об этом читать, думать и узнала, что в Политехе есть факультет медицинской физики с направленностью в биомедицину. Пошла на день открытых дверей, изучила программу и поняла, что в магистратуру без глубоких знаний биологии, физиологии, анатомии, химии будет сложно поступить, поэтому решила заново поступить и получить второе высшее образование. К моменту, когда заканчивала бакалавриат, открылась лаборатория Ильи Борисовича БЕЗПРОЗВАННОГО как раз по нейродегенеративным заболеваниям. Сюда я и попала, а Илья Борисович — ученый с мировым именем — стал моим научным руководителем. В прошлом году я закончила аспирантуру по направлению биофизики, планировала защиту кандидатской, но мы с научным руководителем решили, что

больше подходит по специальности молекулярная биология, поэтому кандидатскую защитила в новом совете Политехнического университета по молекулярной биологии.

- Вы в Лаборатории молекулярной дегенерации работаете на мышиных моделях?

- Да. Когда мы изучаем патогенез нейродегенеративных заболеваний человека, мышиные модели полезны. Но когда доходит до стратегий трансляционной медицины, то есть благодаря знаниям, которые мы получили на мышиных моделях и нашли какие-то молекулярные мишени или пути воздействия, и пытаемся это применить уже к лечению пациентов, в подавляющем большинстве случаев попытки, к сожалению, оказываются неудачными. Поэтому все больше исследователей сходятся во мнении, что нужно проводить исследования непосредственно на нейронах человека. Единственный способ получить их — это репрограммирование соматических клеток, таких как, например, клетки кожи.

Как известно, человек формируется из одной клетки, и есть некоторое количество плюрипотентных (многофункциональных) клеток, которые дальше делятся во все ткани организма. У взрослого человека многие клетки находятся в конечной стадии дифференцировки, то есть клетки кожи никогда не станут клетками мозга. Но при помощи специальных генетических манипуляций можно перепрограммировать их в другой тип. Первая методика прямого репрограммирования, которым

я занимаюсь, была предложена только 10 лет назад. Из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, которые уже довольно широко применяются в исследовательской и клинической практике, поскольку их можно перепрограммировать из соматических клеток, и они сохранят способность к пролиферации (делению), можно получить довольно большое количество нейрональных клеток. Однако при данном подходе теряется, скажем так, «возраст» клеток. Поскольку при прохождении через плюрипотентную стадию клетки становятся снова молодыми, то есть это, по сути, клетки с возрастом зародышевого состояния.

- В чем состоит большое научное открытие явления индуцированной плюрипотентности?

- В том, что были открыты транскрипционные факторы, которые отвечают за поддержание плюрипотентного состояния в эмбриональных клетках. И ученые предположили, что, возможно, если привнести эти факторы во взрослые соматические клетки, то получится вернуть это плюрипотентное состояние, когда клетка способна дифференцироваться в любой другой тип. Например, вы берете какой-то фрагмент ткани пациента, чаще всего это клетки кожи, из них выделяются обычные культуры фибробластов и при помощи генетических манипуляций, при помощи экспрессии определенных транскрипционных факторов, можно стимулировать дифференцировку этих клеток из фибробластов в нейроны или любые другие высокоспециализированные клетки. По сути, в чашке Петри мы получаем культуру нейронов человека непосредственно от каждого пациента. В перспективе это индивидуальный подбор лекарственных препаратов, и возможность видеть, восстанавливается ли функциональная активность нейронов.

Особая ценность подхода прямого репрограммирования, в отличие от индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, состоит в том, что он позволяет сохранить возраст клеток. То есть в плюрипотентной стадии клетки возвращаются в свое молодое состояние, а при прямом репрограммировании возраст репрограммированных нейронов у пациента будет поддерживаться. Условно говоря, взяли вы фибробласты пациента 60 лет — и репрограммированные нейроны тоже примерно будут соответствовать возрасту 60 лет.

- Нина, предположу, что ваша жизнь молодого ученого насыщена международными и российскими конференциями, другими научными событиями?

- С методикой прямого репрограммирования я познакомилась в 2017 году на своей первой зарубежной конференции, посвященной болезни Альцгеймера и Паркинсона. Она проходила в Австрии. Ученые из Медицинской школы Университета Вашингтона в Сент-Луисе впервые представили там методику прямого репрограммирования. Они предложили данный метод для средних шипиковых нейронов стриатума, которые больше всего поражаются при болезни Хантингтона, которую я изучаю. Я поняла — это

как раз то, что нужно, чтобы продвинуться дальше в моих исследованиях.

Сложность метода прямого репрограммирования состоит в том, что в отличие от индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, сохраняющих способность к пролиферации (делению), полученные с помощью прямого репрограммирования нейроны ограничены первоначальным количеством соматических клеток. То есть сама эффективность процесса получения нейронов из фибробластов очень низкая. Но для индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, например вы взяли, условно говоря, 100 тысяч соматических клеток, а на выходе получили 100 плюрипотентных клеток, и за счет того, что они продолжают делиться, это не является ограничением. То есть они дальше поделятся, и вы получите столько нейронов после дифференцировки, сколько вам нужно. А при прямом репрограммировании соматические клетки перестают делиться, как и нейроны, потому что клетки в нашем головном мозге не делящиеся — так задумано природой. Они формируют синаптические связи, нейронные сети и никогда не делятся — человек рождается, и сколько у него есть нейронов, столько их будет до конца. При прямом репрограммировании сколько вы клеток взяли в самом начале, больше нейронов вы не получите. Взяли 100 тысяч клеток, а у вас на выходе получилось всего 100 нейронов, и только с этими ста нейронами вы сможете провести эксперимент. Учитывая, что сам процесс довольно продолжительный, около 50 дней занимает, это

крайне низкая эффективность. Я придумала, как можно ситуацию улучшить, чтобы метод вошел в обиход. Потому что нейроны, полученные через индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, сейчас уже широко применяются, много исследований, несмотря на их «молодой» возраст. В то время как статей по прямому репрограмимрованию очень мало, протоколы получения нейронов предложены, но в широкую исследовательскую практику они до сих пор не вошли.

- Нина, тот президентский грант, что вы получили в 2020 году, уже не первый для вас?

- Мы переживали, потому что конкуренция с каждым годом растет, и только 18% заявок были одобрены, поэтому да, наши исследования оценены, и считаются перспективными. Это уже моя вторая стипендия президента, первую получила в 2018 году. Тот проект закончился, но было желание его продолжить уже с применением новой методики. Выиграла еще одну стипендию президента для обучения за рубежом, поехала туда, наладила методику, стало получаться и возникла идея эту методику далее приложить к моим научным задачам, поскольку мне она кажется очень перспективной.

В 2018 году я начала эти исследования, пошагово отрабатывала протокол, что нужно сделать, чтобы вот такие нейроны получить, а потом на сайте Политеха увидела объявление, что есть стипендия президента для обучения за рубежом. Выиграла ее и поехала в США, в лабораторию Ильи Борисовича БЕЗПРОЗВАННОГО в Далласе, с твердым намерением эту методику наладить. В плане удобства там лучше — вся инфраструктура заточена на то, чтобы человек сидел и делал научную работу, большое количество вспомогательного персонала, реактивы быстро приходят, инфраструктура у них огромная и сервис оборудования лучше. Наш Политех — большой университет, а там только один научно-исследовательский институт при медицинском центре раза в два больше.

Сама по себе методика, как я уже сказала, продолжительная — в среднем где-то 50 дней занимает весь процесс. Стажировка должна была продолжаться восемь месяцев. Я проработала в Америке около двух месяцев, и, поскольку там более мощная ультрацентрифуга, стало лучше получаться. Но грянула пандемия. На два месяца нас закрыли на самоизоляцию, но за это время я придумала, как эту методику можно улучшить по сравнению с тем, что было предложено в оригинальном протоколе. Стала свои идеи воплощать в жизнь, и сейчас у меня даже лучше получается, чем у авторов. Я очень приободрилась, поняла, что будет публикация и возможность для исследователей нейродегенеративных заболеваний по всему миру использовать эту методику.

- А чем-то еще, помимо работы в лаборатории, запомнилась поездка в США?

- Абсолютно спонтанно на три дня я поехала в Голливуд. По прибытии мне прислали из Института Кориелла клетки человека, но им необходимо время, чтобы отойти от заморозки и «прийти в себя», чтобы можно было дальше с ними работать. То есть буквально пара дней запасе, я просто открыла сайт с билетами, самые дешевые в Лос-Анджелес, Калифорния —купила и поехала, решила сделать себе подарок на день рождения. И хотя Илья Борисович, когда узнал, и поругал меня за это, я ни разу не пожалела, поскольку с началом пандемии нас посадили на два месяца на полную самоизоляцию.

Самые яркие впечатления — Голливуд посмотрела, съездила в обсерваторию Гриффита, правда, тут же получила штраф за неправильную парковку. Обсерватория расположена на южном склоне горы Голливуд в Лос-Анджелесском Парке Гриффита, из нее прекрасно виден центр города, Тихий океан, вид на надпись «Hollywood» очень красивый. Я проехала на машине по знаменитому хайвэю Route 66, на пляже гуляла, океан посмотрела, ходила в кинотеатр, где вручают премию Оскар, на Аллее славы ручки свои приложила к отпечаткам Мерилин Монро.

- Нина, как здорово, что вам удалось попутешествовать по Америке. Но вернемся к медицинским технологиям. Это же дорогостоящие исследования?

- Да, реактивы очень дорогие, и 80% успеха зависит от того, насколько они качественные. Ты можешь делать все правильно, но если реактивы изначально будут плохие, то ничего не получится. Когда уезжала в Америку, мы с научным руководителем составляли смету для стажировки и получались, что около 8 000 долларов необходимо заложить на реактивы на мой небольшой проект.

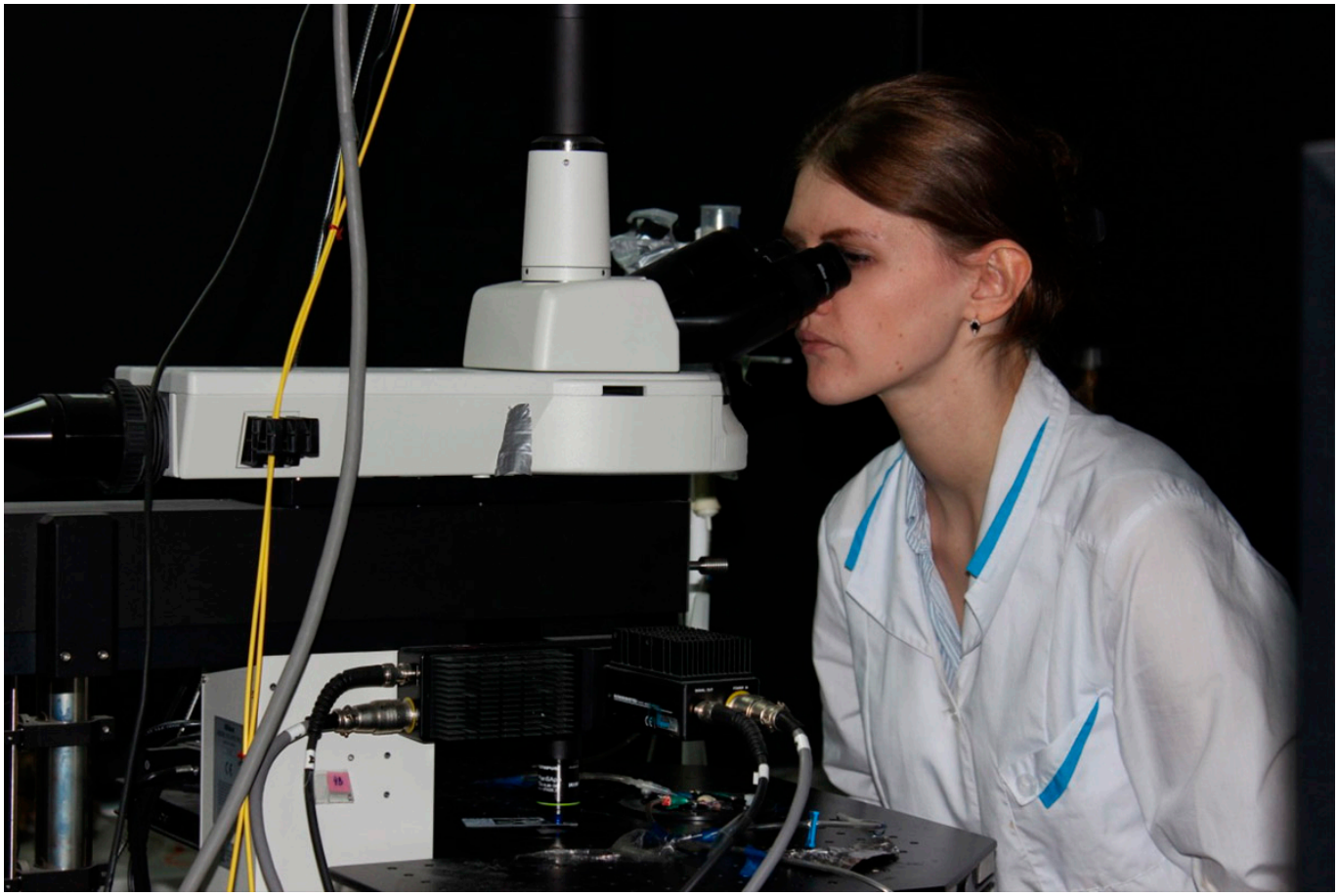
- Получается, если самому методу прямого репрограммирования всего около 10 лет, то вы, можно сказать, у его истоков. А какие еще научные группы им занимаются, кого можно назвать вашими конкурентами?

- Здоровая конкуренция — это всегда здорово. И мы в хороших отношениях с учеными, которые тоже работают в этой области. В Институте цитологии РАН в Санкт-Петербурге группа Елены КАЗНАЧЕЕВОЙ занимается похожими вещами, схожими биохимическими методами они идут к поиску молекулярной мишени для терапии болезни Хантингтона. Они как раз работают с нейронами, полученными через индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, а я — с нейронами, полученными методом прямого репрограммирования. Глобально если посмотреть на картину, то получается, что наши исследования взаимно дополняют друг друга, и это очень хорошо, когда одна группа показала результаты, а вы подтвердили эти результаты на другой модели.

За рубежом оригинальный протокол был предложен группой под руководством

Эндрю Ю, он был постдоком в Гарварде. Сейчас у него своя лаборатория в Сент-Луисе, но они, скажем, делают больше упор на изучение механизмов прямого репрограммирования, то есть американские ученые сделали протокол, как эти нейроны можно получить, и на этом остановились, в глубину молекулярных механизмов, патогенез не идут. А у меня более практическая задача — разработать модель и применить ее для исследования молекулярных механизмов патогенеза болезни Хантингтона, проверить терапевтические агенты уже на нейронах, полученных от реальных пациентов. Надеюсь, что мой проект принесет глобальную пользу людям и станет важным этапом доклинических испытаний. Потому что обычно на мышиных моделях все получается, а дальше уже непосредственно на пациентах с нейродегенеративными заболеваниями проводят клинические испытания, и больше 95% разработок проваливаются. Разрабатываемая мною модель может стать важным доклиническим этапом. То есть сначала проверили на мышиных моделях, а дальше хорошо бы посмотреть, как нейрональные клетки человека будут реагировать на то или иное соединение или терапевтический подход, прежде чем начинать масштабные исследования на пациентах.

Когда публикуется протокол, не всегда в нем указываются все тонкие моменты, потому что авторы каждый день что-то делают, и им это кажется очевидным. Мне хочется другим исследователям, которые тоже интересуется этим методом, предложить самый детальный протокол, поскольку я сама каждую стадию проделала, поняла каждый тонкий нюанс, и кому-то мой протокол, возможно, будет полезен. Я сосредоточена на изучении молекулярных механизмов болезни Хантингтона, но этот протокол можно использовать для дифференцировки другого типа нейронов, например моторных нейронов, которые поражаются при боковом амиотрофическом склерозе. Гипотетически можно также это сделать для дофаминергических нейронов, которые поражаются при болезни Паркинсона, то есть перспективы очень широкие.



- Нина, а если будет предложение уйти куда-то в прикладную область, в биофармацевтическую компанию например, вас бы это привлекло? Или все-таки хотите продолжать заниматься наукой? Какие планы у вас?

- Даже мыслей пока таких не было. Я ни разу не пожалела, что ушла в научно-исследовательскую область. Мне нравится, что здесь такой простор для творчества, самореализации, столько разных интересных направлений и проектов, коллабораций. Мы с коллегами из нашей Лаборатории молекулярной нейродегенерации сейчас выполняем еще один грант с бельгийскими учеными из Католического университета Лёвена. Группа Гирта Бултинка тоже изучает молекулярные механизмы болезни Альцгеймера. Долгое время они на клеточном уровне изучали молекулярные механизмы и поняли, что есть какой-то эффект, и нужно двигаться уже дальше на уровень организмов. Мы проверяем их гипотезу уже на трансгенных моделях болезни Альцгеймера, получаются очень интересные результаты. Хотелось бы дальше заниматься этим проектом.

Сейчас молодых ученых довольно серьезно поддерживают в рамках грантов РНФ, РФФИ, стипендий президента, поэтому есть возможность себя реализовать, сосредоточиться на своих научных задачах и полностью этому себя посвятить.
До этого у меня был свой небольшой аспирантский грант, следующая цель — получить грант Российского научного фонда, там как раз есть для молодых исследователей. Буду дальше продвигать методику прямого репрограммирования, чтобы оказать реальную помощь в борьбе с нейродегенеративными заболеваниями.

- Большое спасибо за интервью, Нина. Мне кажется, вы — один из тех молодых ученых, у которых сначала президентская стипендия — потом Нобелевская премия. Во всяком случае, я вам этого желаю.