

# Мини-мозг как инновация в персонализированной медицине

А.И. Прилепин

Адрес для переписки: Александр Игоревич Прилепин, prilepinsasa1@gmail.com

Для цитирования: Прилепин А.И. Мини-мозг как инновация в персонализированной медицине. Эффективная фармакотерапия. 2026; 22 (5): 84–92.

DOI 10.33978/2307-3586-2026-22-5-84-92

*Мини-мозг – технология, представляющая собой трехмерную модель, полученную на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) для изучения развития человеческого мозга, патогенеза заболеваний и скрининга лекарственных препаратов. Данная технология позволяет моделировать патогенез нейродегенеративных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера и Паркинсона, вирусные инфекции, мигрень, канцерогенез, расстройства аутистического спектра, а также воспроизводить дефекты нервной трубки под воздействием лекарственных препаратов. Данная модель отражает ключевые процессы, происходящие с клетками мозга: дифференцировку, миграцию, рост аксонов, дендритное ветвление и синаптогенез, межклеточные взаимодействия, миелинизацию, а также влияние эпигенетики на указанные процессы. Персонализированные модели на основе ИПСК от пациентов с различными генетическими особенностями предоставляют уникальную возможность для подбора терапии, оценки индивидуальной реакции на лекарственный препарат, титрования его дозы.*

**Ключевые слова:** мини-мозг, ИПСК, нейродегенеративные заболевания, канцерогенез

## Введение

Актуальной проблемой в нейронауках является поиск репрезентативной модельной системы, которая всецело отражала бы особенности человеческого мозга. Модели на животных и культуры первичных клеток хотя и существенно расширили наши знания, но не лишены фундаментальных недостатков – от отсутствия человеческого генетического контекста и трехмерной цитоархитектоники до этических и практических сложностей в получении материала. Появление мозговых органоидов на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) ознаменовало революцию в этой области, поскольку они обладают рядом преимуществ перед животными моделями и 2D-клеточными культурами. Кокультивирование различных типов клеток и формирование органоподобных структур [1–4] позволяют изучать нейровоспалительные и нейроваскулярные процессы, а также взаимодействия с другими областями мозга, которые также затрагиваются на фоне заболевания. Микрофлюидные системы обеспечивают доставку нутриентов и кислорода, улучшая физиологическую релевантность этих

моделей и решая ограничения, связанные с диффузией нутриентов и клеточным ростом. Скаффолды и 3D-биопринтинг оказывают структурную поддержку, способствующую более сложной тканевой организации и обеспечивающую цитоархитектонику мозговых органоидов.

Эти достижения делают возможным долгосрочное культивирование, создание условий, напоминающих среду *in vivo* [5], а также анализ генетических особенностей и влияния эпигенетических факторов. Такие достижения позволяют релевантно оценивать эффективность и безопасность лекарственных препаратов в персонализированной медицине [6, 7].

Несмотря на значительный потенциал мини-мозга (мозговых органоидов) в моделировании заболеваний человека, его широкое применение сопряжено с определенными проблемами, в частности валидностью и экстраполяцией. Так, вариабельность в генерации органоидов между лабораториями и партиями может привести к несоответствию в отношении размера, формы и клеточного состава [8], а отсутствие системных взаимодействий, таких как вовлечение иммунной и сосудистой систем [9], полностью

развитых синаптических связей и зрелых глиальных клеток, ограничивает способность мини-мозга реплицировать сложные взаимодействия сформированного мозга [8].

В статье рассматриваются современные исследования, демонстрирующие, как инновационные подходы к генерации и использованию мини-органовидов помогают преодолеть указанные ограничения. Особое внимание уделяется стандартизированным протоколам дифференцировки и перспективным стратегиям, повышающим релевантность и воспроизводимость моделей для доклинических исследований.

### Тенденции применения мозговых органоидов

**Изучение патогенеза нейродегенеративных заболеваний**  
Мозговые органоиды показали высокую эффективность в моделировании нарушений нейроразвития с реальным патогенезом, поскольку они рекапитулируют развитие мозга плода, имитируя различные аспекты развития тканевой структуры и клеточного состава [10]. В частности, мозговые органоиды эффективно воспроизводят ключевые элементы патогенеза болезни Паркинсона (БП) и болезни Альцгеймера (БА) [11, 12] и опиоид-индуцированного нейровоспаления.

**Изучение патогенеза БА.** В данном случае можно выделить два основных направления с помощью мозговых органоидов – моделирование патогенеза семейной и спорадической формы болезни [13].

Установлено, что органоиды от лиц с гомозиготным APOE4 показывают усиленный апоптоз, снижение синаптической целостности и увеличение содержания тау-белка. РНК-секвенирование выявило обогащение генов, вовлеченных в формирование стрессовых гранул и нарушенный метаболизм РНК [14]. Кроме того, нейроны APOE4 продемонстрировали увеличение синаптического APOE4 с нарушением поглощения бета-амилоида (Aβ) и накоплением холестерина в астроцитах. В то же время в клетках, подобных микроглии, наблюдалось снижение фагоцитоза Aβ [13]. Кроме того, в анализе церебральных органоидов, содержащих мутантный PSEN2 (ген высокого риска развития семейной формы БА), выявлялся дефицит в сигналинге Notch и нейрогенезе [15].

Спорадическая форма БА встречается чаще семейной – свыше 90% случаев в популяции [16]. Спорадическая БА, вероятно, вызвана комбинацией генетических вариантов, взаимодействующих с факторами окружающей среды. Применение мозговых органоидов, полученных от пациентов со спорадической формой БА, особенно актуально, поскольку появляется возможность оценивать влияние генетических вариантов на патогенез заболевания. S. Ravoni и соавт. наблюдали зависящее от времени увеличение уровней Aβ-40 и Aβ-42 после обработки афтином-5 (индуктором Aβ-42). Показано, что мини-мозг, полученный из клеточной линии, не связанной с БА, реагирует на индукцию химическими соединениями, вызывая изменение физиологических концентраций Aβ [17].

Таким образом, моделирование на церебральных органоидах позволяет детально изучать патогенез обеих форм БА. В случае спорадической БА органоиды демонстрируют ценность как инструмент для изучения комплексного взаимодействия генетической предрасположенности и внешних факторов. Это открывает путь к исследованию патофизиологии наиболее распространенной формы заболевания и скринингу потенциальных терапевтических вмешательств.

**Изучение патогенеза БП.** Мозговые органоиды, полученные из ИПСК, все чаще используются для моделирования БП. Но в данном случае обычно применяются органоиды среднего мозга, поскольку БП обусловлена избирательной потерей дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции, берущей начало в вентральной покрышечной области среднего мозга [18, 19]. Используя органоиды среднего мозга, N. Wulansari и соавт. обнаружили, что мутации в гене, ассоциированном с ранним началом БП (DNAJC6), приводят к патологической агрегации альфа-синуклеина, а также к митохондриальным и лизосомным аномалиям [20].

Кроме того, S.W. Kim и соавт. отмечали возможность трансплантации нейральных стволовых клеток-предшественников, выделенных из органоидов среднего мозга (Og-NSC), крысам с гемипаркинсонизмом, после чего Og-NSC развились в дофаминовые нейроны среднего мозга (mDA-нейроны) и интегрировались в цепь среднего мозга [21]. Нейрональную активность Og-NSC *in vivo* оценивали с помощью трансдукции в стриатум GCaMP6s (белок – индикатор кальция, который излучает зеленую флуоресценцию при связывании Ca<sup>++</sup>). Многочисленные зеленые флуоресцентные сигналы в состоянии анестезии детектировались с помощью двухфотонной эндомикроскопии в трансплантатах, сформированных через месяц, что указывает на спонтанную активность нейронов (причем частота потенциалов действия аналогична базальной частоте разрядов дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции). Кроме того, у крыс отмечалось значительное улучшение поведения и двигательных функций передних конечностей. Моделирование БП с помощью органоидов среднего мозга не только позволяет успешно воспроизводить ключевые клеточные патологии, характерные для БП, но и открывает перспективы для регенеративной медицины. Трансплантация клеток, полученных из мозговых органоидов, подтверждает их способность дифференцироваться в функциональные дофаминергические нейроны, интегрироваться в нейронные цепи и вызывать значительное поведенческое улучшение *in vivo*. Это подчеркивает высокий потенциал технологии мозговых органоидов.

**Изучение патогенеза опиоид-индуцированного нейровоспаления.** На модели мини-мозга было воспроизведено опиоид-индуцированное нейровоспаление. Показано, что микроглия *in vivo* запускает нейровоспаление под воздействием опиоидов через пути, опосредованные инфламмасомой NLRP3 [22, 23].

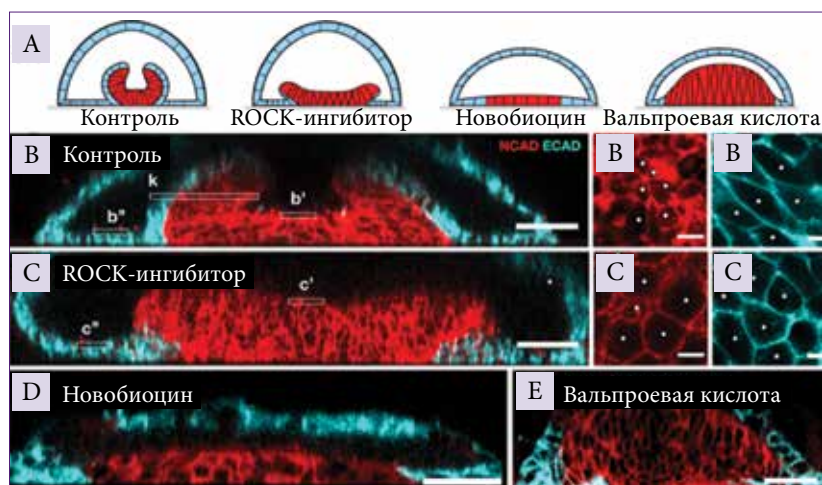
Под влиянием опиоидов на рецепторы TLR4 микроглии может запускаться колокализация NLRP3/ASC с активацией каспазы 1 для продукции интерлейкина (ИЛ) 1-бета, ИЛ-18 и фактора некроза опухоли (ФНО) альфа, что в свою очередь вызывает секрецию провоспалительных цитокинов нейронами и астроцитами, приводя к нейровоспалению.

**Тестирование противомигренозных препаратов**  
 Мигрень – сложное расстройство, обусловленное множеством патогенных изменений. В силу этого, а также видовых различий многие аспекты мигрени не могут быть смоделированы на животных [24]. В настоящее время активно рассматривается возможность применения технологии «мини-мозг» в тестировании препаратов от мигрени. Важным преимуществом мозговых органоидов является то, что они могут выживать в культуре приблизительно в течение года [25]. Исследования факторов, влияющих на созревание нейронов и развитие мозга при мигрени, позволяют тестировать различные аспекты патогенеза этого заболевания. Мигрень – расстройство мозга, которое предположительно связано как с генетическими, так и с эпигенетическими факторами. Следовательно, органоиды мозга потенциально могут быть использованы для моделирования патогенеза мигрени. Кроме того, для этой цели можно изучать как направленные, так и ненаправленные органоиды [26]. Поскольку патогенез мигрени затрагивает различные области мозга, целесообразно исследовать ассемблоиды [26]. Оптимальная модель позволила бы проводить тестирование лекарственных средств и идентификацию механизм-ориентированных терапевтических эффектов. Последнее особенно важно, поскольку большинство доступных противомигренозных препаратов направлены на симптоматическую терапию, а не на модификацию или излечение мигрени [27].

Мозговые органоиды представляют собой высокоперспективную модель для изучения патогенеза мигрени и разработки новых терапевтических стратегий. Ключевое преимущество мозговых органоидов заключается в способности преодолевать ограничения животных моделей, воспроизводить сложное взаимодействие генетических и эпигенетических факторов, лежащих в основе мигрени.

**Изучение механизмов формирования нервной трубки и возможных патологий развития**  
 E. Karzbrun и соавт. разработали воспроизводимую модель для изучения морфогенеза человеческой нервной трубки, совместимую с прижизненной визуализацией, генетическими манипуляциями и пригодную для фармацевтического скрининга [28]. Передняя идентичность нервной ткани указывала на релевантность для краниального закрытия нервной трубки. Показано, что после нервной индукции нервная эктодерма складывается в нервную трубку длиной в несколько миллиметров, покрытую неневральной эктодермой. Процесс складывания происходит с эффективностью 90% и анатомически напоминает развивающуюся человеческую нервную трубку. Установлено, что нервная и неневральная эктодерма необходима и достаточна для морфогенеза складывания. Идентифицировано также два механизма, управляющих этим процессом: апикальное сокращение нервной эктодермы и базальная адгезия, опосредованная синтезом внеклеточного матрикса невральной эктодермой. Воздействие на эти два механизма с помощью лекарственных препаратов приводит к дефектам, сходным с пороками развития нервной трубки.

Чтобы проверить пригодность стволовых клеточной системы для моделирования дефектов нервной трубки, было применено три низкомолекулярных ингибитора (рис. 1). Во-первых, ингибитор ROCK (Shroom3-Rho-киназы). Shroom3 контролирует апикальную нейральную контрактильность и ассоциирован с дефектами нервной трубки [29, 30]. Во-вторых, ингибитор HSP-90 новобиоцин, который увеличивает содержание фибронектина (фибронектин играет роль в ранней нейруляции [31]). Наконец, в-третьих, ассоциированный с дефектами нервной трубки препарат вальпровой кислоты. Образцы с ингибированием ROCK показали утолщение нервной ткани. Кроме того, нарушенная локализация F-актина и Shroom3 на апикальной поверхности свидетельствовала о разрушении апикальной актомиозиновой сборки и прекращении апикального сокращения нервной ткани. Это согласуется с ингибированием ROCK во время закрытия нервной трубки у мышей, при котором ингибирование ROCK снижает апикальное нейрональное натяжение и локализацию F-актина [32]. Применение новобиоцина ассоциировалось с плоской и тонкой нервной пластинкой, что напоминало фенотип, остановившийся на стадии нейральной индукции. Иммуноокрашивание подтвердило, что новобиоцин значительно снижает уровни фибронектина. Это означает, что матрикс



**Рис. 1. Использование низкомолекулярных ингибиторов:** А – схема морфологии нервной трубки в контрольном образце и после воздействия малых молекул; В–Е – вертикальные срезы демонстрируют дефект нервной складки в контрольном образце (В), при обработке ингибитором ROCK (С), (ингибитором фибронектинового матрикса новобиоцином (D) и вальпровой кислотой (E))



фибронектина, синтезируемый ненеуральной эктодермой, необходим для формирования бислоя и нервной складки. Наконец, применение вальпроевой кислоты ассоциировалось с обратно изогнутой нервной пластинкой с отрицательной кривизной.

Разработанная модель органоида нервной трубки представляет собой эффективный инструмент как для изучения механизмов нейруляции и патогенеза пороков развития у человека, так и для тестирования фармакологических агентов.

#### Изучение механизмов развития расстройств аутистического спектра

Сложный клеточный состав и 3D-пространственная конфигурация органоидов позволяют изучать сложные взаимодействия между нейронами и глияльными клетками, которые схожи с их естественной конфигурацией в нервной системе. Это делает возможным моделирование нейрональных сетей пациентов с расстройствами аутистического спектра (РАС) [33]. Показано снижение спонтанной нейронной активности в корковых органоидах с мутацией KMT5B (ген высокого риска РАС) [34].

Исследования с использованием органоидов мозга, полученных от четырех индивидуумов с РАС, выявили снижение активности клеточного цикла в нейрональных клетках-предшественниках (при неизменной пролиферации клеток) и сверхпродукции ГАМКергических нейронов [35].

В другом исследовании мутация в гене высокого риска РАС (PTEN) способствовала экспансии популяции клеток-предшественников и задержке нейрональной дифференцировки [36].

Следует также отметить, что макроцефалия – одна из часто наблюдаемых особенностей РАС. Большинство пациентов, от которых получены церебральные органоиды, демонстрировали фенотип макроцефалии [36, 37].

Мозговые органоиды служат релевантной моделью для изучения клеточно-молекулярных механизмов РАС. Исследования выявляют общие паттерны нарушений, в частности аномалии развития нейрональных сетей, дисбаланс процессов пролиферации и дифференцировки нейрональных предшественников, а также изменения в соотношении возбуждающих и тормозных нейронов.

#### Изучение механизмов канцерогенеза

Мини-мозг представляет собой перспективную доклиническую модель:

- для оценки эффективности противоопухолевых препаратов;
- получения более глубокого механистического понимания биологии канцерогенеза;
- генерации биобанков опухолевых органоидов, полученных от пациентов;
- исследований, связанных с разработкой лекарственных средств;
- терапии опухолей мозга в персонализированной и регенеративной медицине.

Мозговые органоиды позволяют тестировать несколько методов лечения и прогнозировать ответ на применение препарата за короткое время, а также идентифицировать средство, максимально эффективное в борьбе с опухолью мозга у конкретного индивидуума [38]. Так, органоиды, полученные из биоптатов пациентов, предоставляют микроокружение опухоли, которое имеет критическое значение для изучения механизмов инфильтрации клеток глиобластомы в здоровую ткань мозга [38, 39].

На мозговых органоидах показано, что макрофаги индуцируют прогрессию и инвазивность клеток глиобластомы в мозговых органоидах. Кармустин, AS1517499 (ингибитор Stat6) и BLZ945 (ингибитор рецептора колониестимулирующего фактора 1, Csf-1r) могут ингибировать взаимодействие между макрофагами, ассоциированными с глиобластомой, и опухолевыми клетками, что приводит к уменьшению роста опухоли и большей чувствительности к химиотерапии [40]. Кроме того, ингибитор ADAM10 предотвращает интеграцию глияльных стволовых клеток в органоиды мозга, как было показано на ортотопических ксенотрансплантационных тестах на мышах [41].

В исследовании M.S. Choe и соавт. была разработана простая трехмерная модель *in vitro* для лучшего воспроизведения метастазов в головном мозге с использованием раковых клеток человека и церебральных органоидов, полученных из эмбриональных стволовых клеток человека. Исследователи отмечали накопление астроцитов и их взаимодействие с раковыми клетками через коннексин 43 [42].

Последние достижения в технологии мозговых органоидов и CRISPR-геномной инженерии позволили создать генетически определенную модель глиобластомы путем введения онкогенных мутаций в церебральные органоиды с помощью CRISPR/Cas9-опосредованного мутагенеза [43].

Ключевое преимущество технологии «мини-мозг» в моделировании опухолей головного мозга заключается в способности воспроизводить сложное микроокружение опухоли, включая взаимодействия между раковыми клетками, здоровой тканью мозга и иммунными клетками. Это позволяет изучать механизмы инвазии и тестировать таргетные препараты.

#### Экзосомы, полученные с помощью мини-мозга, как метод коррекции заболеваний

Экзосомы – наноразмерные внеклеточные везикулы диаметром 50–150 нм, которые инкапсулируют груз из нуклеиновых кислот, белков и липидов. Многие авторы определяют экзосомы как потенциальные терапевтические мишени при различных заболеваниях. Например, показано, что экзосомная miR-124-3p микроглияльного происхождения оказывает нейропротективное действие за счет влияния на сигнальный путь RelA/ApoE, тем самым смягчая повреждение нейронов и нейровоспаление [44]. Экзосомы, полученные из мезенхимальных стволовых клеток (МСК), способны снижать экспрессию глияльного фибриллярного

кислого белка (GFAP), подавляя секрецию ИЛ-1-бета и ФНО-альфа и уменьшая приток внутриклеточного Ca [45]. Как следствие – улучшение пространственного обучения и памяти, связанное с восстановлением функции астроцитов и митохондриального гомеостаза. Механизмы, участвующие в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза и воспалительных реакций, включают в себя активацию транскрипционного фактора Nrf2 и ингибирование активности ядерного фактора NF-kB. Показано, что сигнальный путь «Nrf2 – NF-kB» участвует в регуляции активации астроцитов у мышей [45]. Экзосомы, полученные из МСК, подавляют образование нейротоксичных астроцитов типа A1, индуцированных провоспалительными цитокинами (ИЛ-1-альфа, ФНО-альфа и C1q) [46].

На основании этих данных были проведены исследования по доставке нутриентов и противовоспа-

лительных агентов к органам-мишеням. Интраназальное введение экзосом, полученных из МСК, позволило эффективно таргетировать гиппокамп, уменьшить повреждение мозга, сохранить нейрогенез и поддержать когнитивные показатели [47]. Такие положительные эффекты в основном обеспечиваются благодаря усилению выживания и дифференцировки поврежденных нейронов, ослаблению глиальной активации (впоследствии снижению нейровоспаления и окислительного стресса), активации нейроваскулярной регенерации и восстановлению системного метаболического гомеостаза [48].

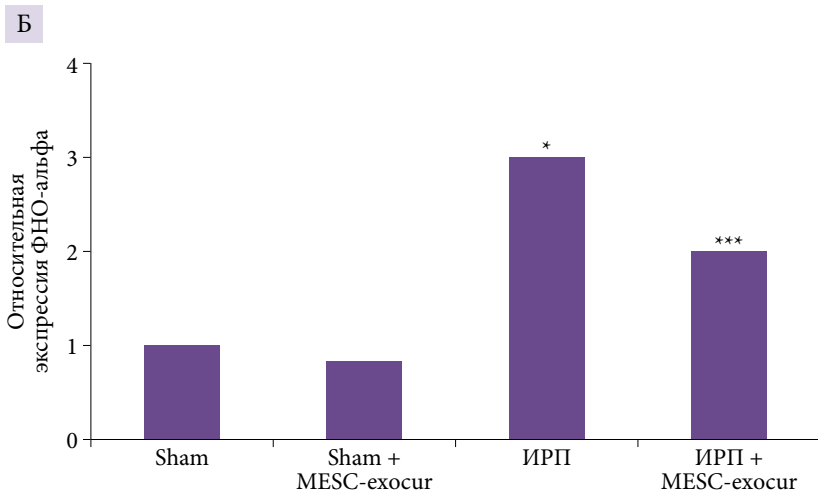
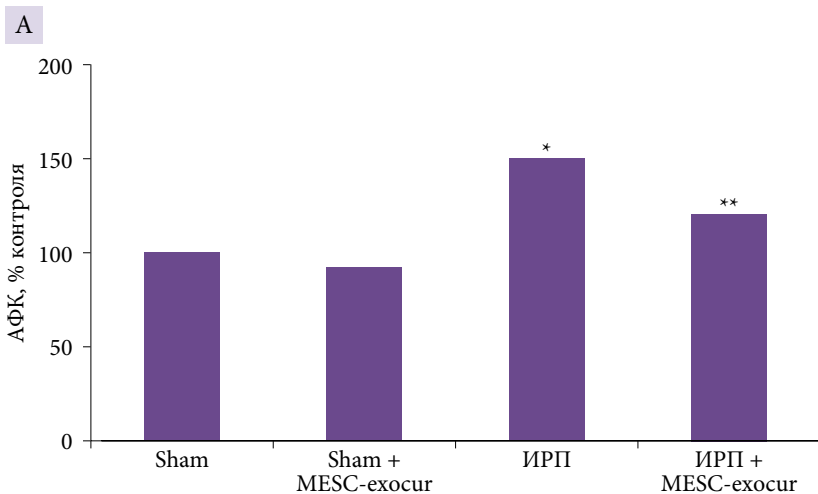
A. Kalani и соавт. проверили, можно ли с помощью MESC-экзосом (куркумин, загруженный в экзосомы, полученные из эмбриональных стволовых клеток мыши) восстановить нейроваскулярные потери после ишемического реперфузионного повреждения (ИРП) у мышей. Показано, что на фоне введения MESC-экзосом отмечаются снижение нейровоспаления (рис. 2), нормализация экспрессии астроцитов и нейронов (уменьшается уровень глиального фибриллярного кислого белка GFAP, увеличивается уровень NeuN-позитивных нейронов), снижение экспрессии сосудистых молекул межклеточной адгезии ICAM, сокращение потери белков плотных контактов (таких как клаудин 5 и окклюдин) [49].

Таким образом, экзосомы, полученные с помощью технологии «мини-мозг», демонстрируют значительный потенциал в коррекции неврологических заболеваний. Успешное применение экзосом, нагруженных куркумином, для восстановления функций нервных клеток после ишемического повреждения подтверждает перспективность разработки экзосомальных препаратов.

### Технология получения мини-мозга

#### Получение клеточной культуры

Первым этапом является получение клеточной культуры. Ее основные источники – плюрипотентные эмбриональные стволовые клетки [50], нейральные стволовые клетки пуповинной крови человека [51], мультипотентные соматические стволовые клетки костного мозга, ИПСК [52]. На практике обычно применяются ИПСК, впервые полученные путем репрограммирования фибробластов кожи человека с использованием специальных факторов (OCT3/4, SOX2, KLF4 и c-MYC) в «коктейле Яманаки» [53]. Выделяют три основных метода репрограммирования [54]: трансфекцию эписомальными векторами, трансдукцию вирусом Сендай и использование матричной РНК. Полученную в результате репрограммирования клеточную культуру необходимо проверять на стерильность, плюрипотентность (репрограммированные клетки экспрессируют маркеры OCT4, NANOG, SOX2 и LIN28 до уровня, сравнимого с человеческими эмбриональными стволовыми клетками) [55], элиминацию трансгена, идентичность и генетическую стабильность.



\*  $p < 0,001$  по сравнению с группами Sham (ложная операция) и Sham + MESC-экзосом.

\*\*  $p < 0,01$ .

\*\*\*  $p < 0,001$  по сравнению с группой ИРП.

**Рис. 2. Эффекты MESC-экзосом: А – уровни активных форм кислорода (АФК) в тканях мозга мышей из разных экспериментальных групп; Б – результаты полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на провоспалительный цитокин ФНО-альфа в мозге мышей из разных экспериментальных групп**



### Сравнение методологий получения мозговых органоидов из различных отделов головного мозга

Анатомическая структура	Передний мозг	Большой мозг	Регионспецифичный мозг (средний, конечный и т.д.)	Передний мозг с ГЭБ или васкулятурой	Слитые органоиды
<b>Методология</b>	Направленная	Ненаправленная	Направленная	Направленная	Направленная/ ненаправленная
<b>Реагенты</b>	Наборы STEMdiff™ для дифференцировки органоидов дорсального или вентрального переднего мозга	Набор STEMdiff™ для церебральных органоидов	Самодельные реагенты	Самодельные реагенты	Самодельные реагенты (могут использоваться наборы для генерации частей переднего мозга)
<b>Обоснование</b>	Набор для дорсального мозга генерирует дорсальный паллиум – вентральный субпаллиум; недорогой; доступна техническая поддержка	Присутствуют все типы клеток, представлен весь большой мозг; недорогой; доступна техническая поддержка	Фокусируется на специфическом типе нейронов/глии	Полезен для изучения васкулятуры при вирусном патогенезе в ЦНС	Полезен для моделирования взаимодействий между специфическими областями мозга
<b>Модификации</b>	–	Добавление сосудистого сплетения: кокультура с микроглией	Паттернирующие факторы могут быть добавлены для стимуляции целевых типов клеток	Паттернирующие факторы могут быть добавлены для стимуляции целевых типов клеток	Паттернирующие факторы могут быть добавлены для стимуляции целевых типов клеток

Примечание. ГЭБ – гематоэнцефалический барьер. ЦНС – центральная нервная система.

#### Получение эмбриональных телец

Процесс дифференцировки эмбриональных телец (ЭТ) включает несколько этапов:

- 1) агрегацию: дифференцировка начинается с самосборки клеточного агрегата, размер которого определяется количеством клеток, самоорганизующихся посредством рецепторов межклеточной адгезии;
- 2) образование примитивной энтодермы;
- 3) дифференцировку клеток примитивной энтодермы в висцеральную и париетальную энтодерму, их участие в образовании базальной мембраны;
- 4) появление трех зародышевых листков;
- 5) ДНК-микрочиповый анализ, указывающий, что ЭТ временно экспрессируют гены таким образом, что это воспроизводит последовательность нормального развития от формирования примитивной эктодермы до гаструляции и последующей ранней клеточной спецификации перед органогенезом.

При формировании ЭТ можно использовать метод висячей капли [56], статистическую суспензионную культуру [57], иммобилизацию в гидрогелях (метилцеллюлоза [58], фибрин [59], гиалуроновая кислота [60]). Размеры эмбриональных телец, растворимые факторы, взаимодействие с внеклеточным матриксом и клеточная адгезия – эти механизмы участвуют в контроле дифференцировки ЭТ [61].

#### Культивирование нервных клеток с добавлением нейротрофических факторов

Существует два основных метода дифференцировки мозговых органоидов. Первый (направленный

метод) заключается в создании неуправляемых органоидов, которые используют способность ИПСК к спонтанному морфогенезу и внутренней клеточной сигнализации. Данные клетки потенциально могут развиваться в линии клеток дорсального переднего мозга, вентрального переднего мозга, среднего мозга, сосудистого сплетения, гиппокампа, сетчатки и заднего мозга [62].

Мозговые органоиды называют органоидами целого мозга, так как они спонтанно моделируют разнообразную нейральную популяцию развивающегося мозга [63]. Главный недостаток – спонтанная дифференцировка, способная привести к непредсказуемому расположению клеток внутри органоида.

Второй (ненаправленный) метод генерации органоидов мозга – управляемый подход, при котором паттернирующие факторы используются для индукции специфических клеточных линий в специфических локациях внутри органоида [64]. Эти паттерны могут воссоздавать регионы, сходные по структуре и клеточному составу с корой головного мозга, средним мозгом, глазным бокалом, сосудистым сплетением, гипоталамусом, мозжечком, ганглионарными возвышениями, таламусом и гиппокампом [65]. Основные методологии получения органоидов различных отделов головного мозга приведены в таблице [66].

#### Заключение

Проведенный анализ демонстрирует, что технология мозговых органоидов представляет собой

перспективный инструмент в современной нейробиологии и биомедицинских исследованиях. Трехмерные модели, созданные из ИПСК, преодолевают ограничения традиционных двухмерных культур и животных моделей, обеспечивая релевантную платформу для изучения развития человеческого мозга, патогенеза заболеваний и скрининга терапевтических средств. Ключевые преимущества технологии заключаются в способности рекапитулировать сложные процессы нейроразвития, включая пролиферацию, дифференцировку, миграцию и синаптогенез. Это позволило успешно моделировать широкий спектр патологий: от нейродегенеративных заболеваний (БА и БП) и расстройств аутистического спектра до пороков развития нервной трубки и онкологических процессов.

Персонализированные органоиды, полученные от пациентов, открывают путь для изучения взаимодействия комплекса «ген – среда» и развития таргетной терапии. Особый потенциал органоидов связывают с доклиническим скринингом лекарственных препаратов, в том числе противомигренозных

и противоопухолевых, что позволит прогнозировать индивидуальный ответ на терапию.

Кроме того, использование экзосом, секретируемых клетками органоидов, открывает новые горизонты для разработки методов регенеративной медицины и нейропротекции.

Несмотря на значительный прогресс, технология «мини-мозг» имеет ряд ограничений, связанных с валидностью и экстраполяцией на организм человека, отсутствием сосудистой и иммунной систем. Однако благодаря последним достижениям, связанным с использованием микрофлюидных систем, 3D-биопринтинга и кокультивирования с различными типами клеток, удалось решить часть проблемы. Речь идет о повышении физиологической релевантности и стабильности органоидов.

Таким образом, технология «мини-мозг» не только расширяет знания о развитии и патологии человеческого мозга, но и обеспечивает персонализированный подход, предлагая в каждом конкретном случае более этичные, точные и эффективные решения для выбора терапии и борьбы с заболеванием. \*

## Литература

1. Quadrato G., Nguyen T., Macosko E.Z., et al. Cell diversity and network dynamics in photosensitive human brain organoids. *Nature*. 2017; 545 (7652): 48–53.
2. Wu X., Su J., Wei J., et al. Recent advances in three-dimensional stem cell culture systems and applications. *Stem Cells Int*. 2021; 2021: 9477332.
3. Zhao Z., Chen X., Dowbaj A.M., et al. Organoids. *Nat. Rev. Methods Primers*. 2022; 2: 94.
4. Chiaradia I., Lancaster M.A. Brain organoids for the study of human neurobiology at the interface of in vitro and in vivo. *Nat. Neurosci*. 2020; 23 (12): 1496–1508.
5. Agboola O.S., Hu X., Shan Z., et al. Brain organoid: a 3D technology for investigating cellular composition and interactions in human neurological development and disease models in vitro. *Stem Cell Res. Ther*. 2021; 12 (1): 430.
6. Yin F., Zhu Y., Wang Y., Qin J. Engineering brain organoids to probe impaired neurogenesis induced by cadmium. *ACS Biomater. Sci. Eng*. 2018; 4 (5): 1908–1915.
7. Papapetrou E.P. Patient-derived induced pluripotent stem cells in cancer research and precision oncology. *Nat. Med*. 2016; 22 (12): 1392–1401.
8. Adlakha Y.K. Human 3D brain organoids: steering the demolecularization of brain and neurological diseases. *Cell Death Discov*. 2023; 9 (1): 221.
9. Amartumur S., Nguyen H., Huynh T., et al. Neuropathogenesis-on-chips for neurodegenerative diseases. *Nat. Commun*. 2024; 15 (1): 2219.
10. Sidhaye J., Knoblich J.A. Brain organoids: an ensemble of bioassays to investigate human neurodevelopment and disease. *Cell Death Differ*. 2021; 28 (1): 52–67.
11. Choi S.H., Kim Y.H., Hebisch M., et al. A three-dimensional human neural cell culture model of Alzheimer's disease. *Nature*. 2014; 515 (7526): 274–278.
12. Jo J., Xiao Y., Sun A.X., et al. Midbrain-like organoids from human pluripotent stem cells contain functional dopaminergic and neuromelanin-producing neurons. *Cell Stem Cell*. 2016; 19 (2): 248–257.
13. Lachman H.M. Chapter 8 – Use of cerebral organoids to model environmental and gene x environment interactions in the developing fetus and neurodegenerative disorders. Ed. E.D. Buttermore. *Phenotyping of Human iPSC-derived Neurons*. Academic Press, 2023; 173–200.
14. Zhao J., Fu Y., Yamazaki Y., et al. APOE4 exacerbates synapse loss and neurodegeneration in Alzheimer's disease patient iPSC-derived cerebral organoids. *Nat. Commun*. 2020; 11 (1): 5540.
15. Arber C., Lovejoy C., Harris L., et al. Familial Alzheimer's disease mutations in PSEN1 lead to premature human stem cell neurogenesis. *Cell Rep*. 2021; 34 (2): 108615.
16. Riemens R.J.M., Kenis G., van den Beucken T. Human-induced pluripotent stem cells as a model for studying sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiol. Learn Mem*. 2020; 175: 107318.
17. Pavoni S., Jarray R., Nassor F., et al. Small-molecule induction of Ab-42 peptide production in human cerebral organoids to model Alzheimer's disease associated phenotypes. *PLoS One*. 2018; 13 (12): e0209150.

18. Coccia E., Ahfeldt T. Towards physiologically relevant human pluripotent stem cell (hPSC) models of Parkinson's disease. *Stem Cell Res. Ther.* 2021; 12 (1): 253.
19. Zagare A., Gobin M., Monzel A.S., Schwamborn J.C. A robust protocol for the generation of human midbrain organoids. *STAR Protocols.* 2021; 2 (2): 100524.
20. Wulansari N., Darsono W.H.W., Woo H.-J., et al. Neurodevelopmental defects and neurodegenerative phenotypes in human brain organoids carrying Parkinson's disease-linked DNAJC6 mutations. *Sci. Adv.* 2021; 7 (8): eabb1540.
21. Kim S.W., Woo H.-J., Kim E.H., et al. Neural stem cells derived from human midbrain organoids as a stable source for treating Parkinson's disease: midbrain organoid-NSCs (Og-NSC) as a stable source for PD treatment. *Prog. Neurobiol.* 2021; 204: 102086.
22. Ao Z., Cai H., Wu Z., et al. Tubular human brain organoids to model microglia-mediated neuroinflammation. *Lab. Chip.* 2021; 21 (14): 2751–2762.
23. Carranza-Aguilar C.J., Hernández-Mendoza A., Mejias-Aponte C., et al. Morphine and fentanyl repeated administration induces different levels of NLRP3-dependent pyroptosis in the dorsal raphe nucleus of male rats via cell-specific activation of TLR4 and opioid receptors. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2022; 42 (3): 677–694.
24. Andreou A.P., Oshinsky M.L. Animal models of migraine. In: Ashina M., Geppetti P., eds. *Pathophysiology of headaches: from molecule to man.* Springer International Publishing; Cham, Switzerland, 2015; 31–66.
25. Jalink P., Caiazzo M. Brain organoids: filling the need for a human model of neurological disorder. *Biology (Basel).* 2021; 10 (8): 740.
26. Paşca S.P., Arlotta P., Bateup H.S., et al. A nomenclature consensus for nervous system organoids and assembloids. *Nature.* 2022; 609: 907–910.
27. Agostoni E.C., Barbanti P., Calabresi P., et al. Current and emerging evidence-based treatment options in chronic migraine: a narrative review. *J. Headache Pain.* 2019; 20: 92.
28. Karzbrun E., Khankhel A.H., Megale H.C., et al. Human neural tube morphogenesis in vitro by geometric constraints. *Nature.* 2021; 599 (7884): 268–272.
29. Lemay P., Guyot M.C., Tremblay É., et al. Loss-of-function de novo mutations play an important role in severe human neural tube defects. *J. Med. Genet.* 2015; 52 (7): 493–497.
30. Chen Z., Kuang L., Finnell R.H., Wang H. Genetic and functional analysis of SHROOM1-4 in a Chinese neural tube defect cohort. *Hum. Genet.* 2018; 137 (3): 195–202.
31. Nikolopoulou E., Galea G.L., Rolo A., et al. Neural tube closure: cellular, molecular and biomechanical mechanisms. *Development.* 2017; 144 (4): 552–566.
32. Butler M.B., Short N.E., Maniou E., et al. Rho kinase-dependent apical constriction counteracts M-phase apical expansion to enable mouse neural tube closure. *J. Cell Sci.* 2019; 132 (13): jcs230300.
33. Li C.V., Knoblich J.A. Advancing autism research: insights from brain organoid modeling. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2025; 92: 103030.
34. Paulsen B., Velasco S., Kedaigle A.J., et al. Autism genes converge on asynchronous development of shared neuron classes. *Nature.* 2022; 602 (7896): 268–273.
35. Mariani J., Coppola G., Zhang P., et al. FOXG1-dependent dysregulation of GABA/glutamate neuron differentiation in autism spectrum disorders. *Cell.* 2015; 162 (2): 375–390.
36. Li Y., Muffat J., Omer A., et al. Induction of expansion and folding in human cerebral organoids. *Cell Stem Cell.* 2017; 20 (3): 385–396.e3.
37. Villa C.E., Cheroni C., Dotter C.P., et al. CHD8 haploinsufficiency links autism to transient alterations in excitatory and inhibitory trajectories. *Cell Rep.* 2022; 39 (1): 110615.
38. Nowogrodzki J. How cerebral organoids are guiding brain-cancer research and therapies. *Nature.* 2018; 561 (7724): S48–S49.
39. Andreatta F., Beccaceci G., Fortuna N., et al. The organoid era permits the development of new applications to study glioblastoma. *Cancers (Basel).* 2020; 12 (11): 3303.
40. Heinrich M.A., Bansal R., Lammers T., et al. 3D-bioprinted mini-brain: a glioblastoma model to study cellular interactions and therapeutics. *Adv. Mater.* 2019; 31 (14): e1806590.
41. Goranci-Buzhala G., Mariappan A., Gabriel E., et al. Rapid and efficient invasion assay of glioblastoma in human brain organoids. *Cell Rep.* 2020; 31 (10): 107738.
42. Choe M.S., Kim J.S., Yeo H.C., et al. A simple metastatic brain cancer model using human embryonic stem cell-derived cerebral organoids. *FASEB J.* 2020; 34 (12): 16464–16475.
43. Bian S., Repic M., Guo Z., et al. Genetically engineered cerebral organoids model brain tumor formation. *Nat. Methods.* 2018; 15 (8): 631–639.
44. Ge X., Guo M., Hu T., et al. Increased microglial exosomal miR-124-3p alleviates neurodegeneration and improves cognitive outcome after rmTBI. *Mol. Ther.* 2020; 28 (2): 503–522.
45. Xian P., Hei Y., Wang R., et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a nanotherapeutic agent for amelioration of inflammation-induced astrocyte alterations in mice. *Theranostics.* 2019; 9 (20): 5956–5975.
46. Das M., Mayilsamy K., Mohapatra S.S., Mohapatra S. Mesenchymal stem cell therapy for the treatment of traumatic brain injury: progress and prospects. *Rev. Neurosci.* 2019; 30: 839–855.

47. Liang Y., Xu X., Li X., et al. Chondrocyte-targeted microRNA delivery by engineered exosomes toward a cell-free osteoarthritis therapy. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2020; 12 (33): 36938–36947.
48. Li Y., Wu H., Jiang X., et al. New idea to promote the clinical applications of stem cells or their extracellular vesicles in central nervous system disorders: combining with intranasal delivery. *Acta Pharm. Sin. B*. 2022; 12 (8): 3215–3232.
49. Kalani A., Chaturvedi P., Kamat P.K., et al. Curcumin-loaded embryonic stem cell exosomes restored neurovascular unit following ischemia-reperfusion injury. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2016; 79: 360–369.
50. Moors M., Rockel T.D., Abel J., et al. Human neurospheres as three-dimensional cellular systems for developmental neurotoxicity testing. *Environ. Health Perspect.* 2009; 4: 1131–1138.
51. Buzanska L., Sypecka J., Nerini-Molteni S., et al. A human stem cell-based model for identifying adverse effects of organic and inorganic chemicals on the developing nervous system. *Stem Cells*. 2009; 27 (10): 2591–2601.
52. Hu B.Y., Zhang S.C. Differentiation of spinal motor neurons from pluripotent human stem cells. *Nat. Protoc.* 2009; 4: 1295–1304.
53. Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007; 131 (5): 861–872.
54. Daheron L., Chen I.P.-F. Chapter 1 – iPSC culture: best practices from sample procurement to reprogramming and differentiation. Eds. E.D. Buttermore. *Phenotyping of Human iPSC-derived Neurons*. Academic Press, 2023; 3–24.
55. Adewumi O., Aflatoonian B., Ahrlund-Richter L., et al. Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative. *Nat. Biotechnol.* 2007; 25 (7): 803e816.
56. Höpfl G., Gassmann M., Desbaillets I. Differentiating embryonic stem cells into embryoid bodies. *Methods Mol. Biol.* 2004; 254: 79–98.
57. Klug M.G., Soonpaa M.H., Koh G.Y., Field L.J. Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells form stable intracardiac grafts. *J. Clin. Invest.* 1996; 98 (1): 216–224.
58. Vittet D., Prandini M.H., Berthier R., et al. Embryonic stem cells differentiate in vitro to endothelial cells through successive maturation steps. *Blood*. 1996; 88 (9): 3424–3431.
59. Liu H., Collins S.F., Suggs L.J. Three-dimensional culture for expansion and differentiation of mouse embryonic stem cells. *Biomaterials*. 2006; 27 (36): 6004–6014.
60. Gerecht S., Burdick J.A., Ferreira L.S., et al. Hyaluronic acid hydrogel for controlled self-renewal and differentiation of human embryonic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104 (27): 11298–11303.
61. Bratt-Leal A.M., Carpenedo R.L., McDevitt T.C. Engineering the embryoid body microenvironment to direct embryonic stem cell differentiation. *Biotechnol. Prog.* 2009; 25 (1): 43–51.
62. Camp J.G., Badsha F., Florio M., et al. Human cerebral organoids recapitulate gene expression programs of fetal neocortex development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015; 112 (51): 15672–15677.
63. Lancaster M.A., Knoblich J.A. Generation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells. *Nat. Protoc.* 2014; 9 (10): 2329–2340.
64. Xu J., Wen Z. Brain organoids: studying human brain development and diseases in a dish. *Stem Cells Int.* 2021; 2021: 5902824.
65. Eiraku M., Takata N., Ishibashi H., et al. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. *Nature*. 2011; 472 (7341): 51–56.
66. Hopkins H.K., Traverse E.M., Barr K.L. Methodologies for generating brain organoids to model viral pathogenesis in the CNS. *Pathogens*. 2021; 10 (11): 1510.

## The Mini-Brain as an Innovation in Personalized Medicine

A.I. Prilepin

*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University*

Contact person: Aleksandr I. Prilepin, prilepinsasa1@gmail.com

*Mini-brain is a technology representing a three-dimensional model derived from induced pluripotent stem cells (iPSCs) for studying human brain development, disease pathogenesis, and drug screening. This technology enables the modeling of neurodegenerative disease pathogenesis: Alzheimer's disease and Parkinson's disease, viral infections, migraine, carcinogenesis, autism spectrum disorders, and also allows for the reproduction of neural tube defects under the influence of pharmaceutical drugs. Furthermore, this model reflects key processes occurring in brain cells: differentiation, migration, axonal growth, dendritic branching and synaptogenesis, intercellular interactions, myelination, as well as the influence of epigenetics on these processes. Personalized models based on iPSCs from patients with various genetic characteristics provide a unique opportunity for tailoring therapies, assessing individual drug response, and titrating drug dosage.*

**Keywords:** mini-brain, iPSCs, neurodegenerative diseases, carcinogenesis