

18. Раздольская И.В., Литвинчук Л.Ф., Иванов А.М., Гаврилова О.В. Инфицирование клеточных культур паразитическими простейшими *Trichomonas vaginalis*. Бюлл. Моск. общ. испыт. природы. 2009, 114, 2: 88-89.
19. Gilbert R.O., Ella G., Beach D.H. Cytopathogenic Effect of *Trichomonas vaginalis* on Human Vaginal Epithelial Cells Cultured In Vitro. Infection and Immunity. 2000, 68, 7: 4200-4206.

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СУПЕРНАТАНТА ПРОГЕНИТОРНЫХ НЕЙРОКЛЕТОК КРЫС НА КУЛЬТУРАХ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В.М. Семенова, Л.Д. Любич, Н.И. Лисяный, А.Я. Главацкий, Л.П. Стайно

ДУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова АМН Украины», Киев,

seveme22@rambler.ru

Исследовано влияние супернатанта (фактора) прогениторных нейроцитов (ФНК) из фетального мозга крысы (E12-16) на активность роста глиальных опухолей головного мозга человека в условиях культивирования. Зарегистрирован дозозависимый цитотоксический эффект воздействия ФНК на опухолевые клетки культивируемых глиом после его 24-часовой инкубации с культурами. Воздействие ФНК индуцирует дистрофические и некробиотические изменения в опухолевых клетках культур с нарушением общей структуры зоны роста, нарастающие при увеличении тестируемой концентрации ФНК и удлинении срока инкубации до 48 часов. Наиболее выраженный эффект противоопухолевого влияния ФНК наблюдается в культурах глиобластом – самых злокачественных глиом головного мозга.

Ключевые слова: прогениторные нейроциты мозга крысы, супернатант, фактор нейроцитов, культуры глиом головного мозга человека, анапластические астроцитомы, глиобластомы.

Как известно, внутримозговые глиальные опухоли (глиомы) являются самыми распространенными первичными опухолями мозга, значительную часть которых составляют злокачественные формы с плохим прогнозом для жизни пациентов. Среди всех глиом головного мозга у 30% больных диагностируются анапластические астроцитомы, а у 50 % -

глиобластомы. Злокачественные глиомы характеризуются высокой пролиферативной активностью, в большинстве случаев резистентны к антибластической химио- и лучевой терапии и обладают инфильтративным ростом, что обуславливает их продолженный рост после частичного хирургического удаления (1). В связи с этим возникает потребность в разработке новых подходов мишеневой терапии этих опухолей и создании новейших клеточно-молекулярных технологий для их лечения. Одним из таких подходов в комплексном лечении злокачественных форм этих новообразований является метод биотерапии и генно-клеточной терапии с использованием стволовых клеток (СК) (2,3).

Известно, что клетки эмбриональной нервной ткани (ЭНТ) содержат значительное количество нейрогенных СК (НСК), которые могут проявлять противоопухолевые свойства (4). В частности, в эксперименте показано противоопухолевое влияние эмбриональных нейроклеток и клеток мозга новорожденных животных на опухолевые клетки линии K-562 (5). Подобный эффект наблюдался также на модели глиом человека, трансплантированных под капсулу почки мышей (в субкапсулярном тесте) совместно с нейрональнообогатенными клеточными суспензиями, полученными из ткани развивающегося мозга (4). Зарегистрировано также прямое цитотоксическое воздействие эмбриональных нейроклеток крыс на клетки экспериментальной перевивной злокачественной глиомы крыс (штамм 101.8) при их совместном культивировании (6).

Однако, вопрос о противоопухолевом потенциале НСК, особенно их гуморальных агентов, недостаточно изучен, и поскольку существуют перспективы их использования в комплексном лечении злокачественных опухолей мозга, исследования в этом направлении являются крайне актуальными.

Целью настоящей работы являлось исследование особенностей влияния супернатанта нейроклеток из ЭНТ крыс на активность роста злокачественных глиальных опухолей головного мозга человека в первичных диссоциированных культурах.

Материал и методы

Материалом для культивирования служили фрагменты опухолей головного мозга, удаленных во время оперативного вмешательства (n=32). Для получения супернатанта - ФНК использовали суспензию НК из ткани фетального мозга крысы 12-16 суток гестации (E12-16). Нативную ткань мозга в физиологическом растворе освобождали от оболочек, переносили в среду DMEM (Sigma, Германия) и суспендировали с помощью шприца с толстой иглой. Жизнеспособность клеток в суспензии определяли в стандартном цитотоксическом тесте с

0,2% трипановым синим ("Merch", Германия) (7). К полученной клеточной суспензии (концентрация $6,0 \times 10^6$ клеток/мл) добавляли конканавалин А (10 мкг/мл) и инкубировали 2 часа в CO₂-инкубаторе при $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ при постоянной влажности 95% и 5% CO₂. После инкубации клетки осаждали центрифугированием в течение 5 мин при 1500 об/мин, отмывали в среде DMEM, добавляли свежую среду DMEM и инкубировали в тех же условиях в течение 24 час. После инкубации клетки вторично осаждали центрифугированием 5 мин при 1500 об/мин, отбирали супернатант, определяли в нем концентрацию белка, стандартизировали до концентрации 0,1 мг/мл, аликвотировали и сохраняли при $(20 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

Получение первичных диссоциированных культур из опухолей головного мозга. В качестве экспериментальной модели опухолевого роста глиом головного мозга использованы первичные диссоциированные культуры, полученные по стандартной методике (7). Культивировали ткань 32 опухолей головного мозга, удаленных у нейрохирургических больных на операциях. Согласно международной классификации опухолей ЦНС (8) при гистологическом исследовании опухолей диагностировано: 11 анапластических астроцитом и 4 анапластических олигоастроцитом (III степень анаплазии), 17 глиобластом (IV степень анаплазии). Полученную из операционной опухолевую ткань отмывали от крови, освобождали от сосудов и оболочек, измельчали микроножницами в среде DMEM и механически диссоциировали многократным пипетированием. По 1×10^6 клеток наносили на покровные адгезивные стекла, покрытые полиэтиленгликолем ("Sigma"). Культивирование опухолей проводили в чашках Петри в среде 199 и DMEM (1:1) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 400 мг% глюкозы и 0,2 ед/мл инсулина. Культуры опухолей содержали в CO₂-инкубаторе (37°C , 95% влажности и 5% CO₂), прижизненно наблюдали в инвертированном микроскопе (Биолам П-3, ЛОМО, С.-Петербург) в динамике роста. В опыты отбирали культуры с наиболее обширной, относительно равномерной зоной роста. В каждом опыте культуры распределяли на 3 группы: 1) – контрольная группа; 2) – культуры глиом, инкубированные с препаратом ФНК в течение 24 час; 3) – культуры глиом, инкубированные с препаратом ФНК в течение 48 час. Концентрация ФНК в группах 2 и 3 составляла 0,02 и 0,1 мг/мл. Для гистологического исследования контрольные и опытные культуры фиксировали 10%-ным формалином и окрашивали гематоксилином Караччи.

В культурах глиом визуально оценивали фенотипические особенности клеточного состава, характер распределения опухолевых клеток, общую архитектуру зоны роста. На гистологических препаратах культур анализировали также частоту митотически делящихся

опухолевых клеток с оценкой патологии митозов и определением митотического индекса (МИ). Подсчет митозов проводили в 3-х наблюдениях культур каждого гистологического типа глиом и каждого варианта опытов в 10 случайно выбранных полях зрения микроскопа (x400), выведенных на монитор цитоанализатора изображения IBAS-2000 (Германия). На каждом препарате подсчитывали не менее 1000 клеток. В этих же участках опытных культур визуально оценивали содержание измененных клеток по сравнению с контрольными культурами. Количественные показатели МИ обрабатывали методом вариационной статистики для малых выборок (9).

Результаты и обсуждение

Контрольные культуры глиом. Прижизненные наблюдения культивируемых глиом III-IV степени анаплазии в динамике роста, а также их изучение на гистологических препаратах показало, что в этих условиях отчетливо воспроизводятся гистотипические признаки роста, свойственные гистоструктуре этих опухолей *in vivo*. В стадии сформированной зоны роста культур (8 - 10 сут) наблюдались обширные разрастания фенотипически характерных глиальных опухолевых клеток различной степени анаплазии. В культурах анапластических астроцитом III степени анаплазии чаще обнаруживались участки роста умеренно полиморфных отростчатых опухолевых клеток астроцитарного генеза, формирующих характерные сетевидные структуры. Местами в зоне роста таких культур преобладали монослойные территории малодифференцированных опухолевых глиоцитов, среди которых выявлялись клетки в стадии митотического деления (МИ составлял $2,43 \pm 0,09$ %).

В контрольных культурах анапластических олигоастроцитом III степени анаплазии (глиом смешанного состава) наряду с разрастаниями опухолевых клеток астроцитарного фенотипа определялись плотноклеточные монослойные комплексы опухолевых олигодендроцитов с узкими цитоплазматическими телами, переходящими в короткие конусовидные отростки. Опухолевые олигодендроциты содержали ядра правильной округлой формы с компактной структурой хроматина. При этом признаки ядерного полиморфизма более отчетливо выявлялись в опухолевых клетках астроцитомного компонента этих культур, что наблюдается также и в гистоструктуре нативной ткани этих опухолей, исследованных на биоптическом (операционном) материале.

По сравнению с анапластическими астроцитомами и олигоастроцитомами, глиобластомы (IV степень анаплазии) в условиях культивирования отличались от глиом III степени анаплазии злокачественности большей плотностью роста, а также резко выраженным

клеточным полиморфизмом. В глиобластомах появлялись атипические гигантские одноядерные или многоядерные формы. Наряду с этим, в зоне роста культивируемых глиобластом часто выявлялись патологические типы митотического деления: моноцентрическая метафаза, отщепление хромосом или их рассеивание в метафазе, полая и комковатая метафаза (К-митоз). При этом показатель митотической активности опухолевых клеток ($MI = 3,84 \pm 0,08\%$) существенно превышал таковой в культурах анапластических астроцитом. Наличие повышенного содержания делящихся клеток в культурах глиобластом отражает ускоренную пролиферацию этих опухолей соответственно их гистоструктуре и гистобиологическим свойствам *in vivo*.

Результаты тестирования культивированных глиом с ФНК. В опытных культурах анапластических астроцитом и олигодендроастроцитом III степени анаплазии 24-часовая инкубация с ФНК (0,02 мг/мл) вызывает заметное разрежение преимущественно в монослойных участках зоны роста культур за счет частичной десквамации дистрофированных опухолевых клеток. Важно отметить, что среди опухолевых клеток более дифференцированной популяции с признаками астроцитарного фенотипа дистрофические изменения клеток выражены в заметно меньшей степени, чем в монослойных разрастаниях малодифференцированных опухолевых клеток. Вместе с тем, в сохранных участках зоны роста этих культур выявлялись фигуры митотического деления, однако средний МИ снизился до $1,90 \pm 0,23\%$.

Увеличение концентрации исследуемого препарата ФНК (0,1 мг/мл) при этой же длительности инкубации в культурах анапластических глиом визуально индуцирует некоторое нарастание содержания поврежденных опухолевых клеток. Однако, в сохранных клеточных комплексах способность опухолевых клеток к митотическому делению сохраняется (МИ составляет $1,78 \pm 0,08\%$).

При удлинении срока инкубации этих культур с ФНК в той же концентрации до 48 час в зоне роста культур более часто выявлялись очаги разрежения клеточных массивов, что сопровождалось снижением митотической активности в сохранных участках зоны роста культур (МИ составил $1,22 \pm 0,09\%$).

Особый интерес представляет реакция на воздействие ФНК клеток культивируемых глиобластом, поскольку эти опухоли клинически обладают наиболее выраженными признаками злокачественности, высокой скоростью роста и часто поражают жизненно важные структуры головного мозга. В культурах глиобластом, инкубированных с ФНК (0,02 мг/мл) в

течение 24 час, прослеживаются признаки цитотоксического воздействия препарата в виде появления очагов дисконфлексии зоны роста культур с наличием распадающихся клеток и снижением митотической активности (МИ составил $1,91 \pm 0,14\%$). Однако местами в таких культурах выявлялись островки морфологически сохранных клеток с признаками цитотипической астроглиальной дифференцировки, что указывает на устойчивость этой популяции фенотипически дифференцированных опухолевых клеток к воздействию тестируемого фактора. Аналогичный феномен прослежен и в культурах анапластических глиом III степени анаплазии. При увеличении срока инкубации культивируемых глиобластом с этой же концентрацией ФНК ($0,02$ мг/мл) до 48 часов доля поврежденных клеток нарастает, что сопровождается уменьшением МИ до $0,73\% \pm 0,10$.

Тестирование увеличенной концентрации ФНК ($0,1$ мг/мл, 24 часа) в культурах глиобластом показало сходный характер влияния препарата на опухолевые клетки, наблюдающийся при инкубации с меньшей концентрацией препарата ($0,02$ мг/мл). Однако после удлинения срока инкубации культур с большей концентрацией ФНК до 48 час на подложке оставались сохранными лишь небольшие остаточные комплексы опухолевых клеток с единичными митозами (МИ составил $0,28 \pm 0,04\%$). Таким образом, в этих опытах прослеживается тенденция дозозависимого ингибирующего влияния исследуемого препарата на опухолевые клетки культивируемых глиобластом. При этом выраженность регрессивных изменений в общей клеточной массе культур наиболее заметно усиливается при удлинении продолжительности инкубации культур с препаратом до 48 час.

На рис.1(а,б) приведена динамика изменения МИ в культурах глиом после воздействия препарата ФНК в разных вариантах опытов. Из диаграммы следует, что в культурах глиом величина МИ постепенно снижается по мере увеличения концентрации ФНК и продолжительности инкубации культур с препаратом. При этом в культурах глиобластом наблюдается более значимое (статистически достоверное по сравнению с контролем, $p \leq 0,05$) снижение МИ.

Проведенные исследования по тестированию препарата ФНК с целью оценки особенностей его влияния на первичные культуры глиальных опухолей III-IV степени анаплазии показали, что данный препарат на этой экспериментальной модели имеет тенденцию проявлять противоопухолевую активность. После инкубации с препаратом ФНК наблюдаются признаки дозозависимого цитотоксического действия препарата, который индуцирует появление дистрофических и некробиотических изменений в преобладающей

части опухолевых клеток с нарушением общей структуры зоны роста, усиливающиеся при удлинении времени инкубации до 48 час. Выявляется также зависимость эффекта действия препарата ФНК от степени анаплазии опухолей. Наиболее значимый эффект противоопухолевого действия препарата регистрируется в культурах глиобластом.

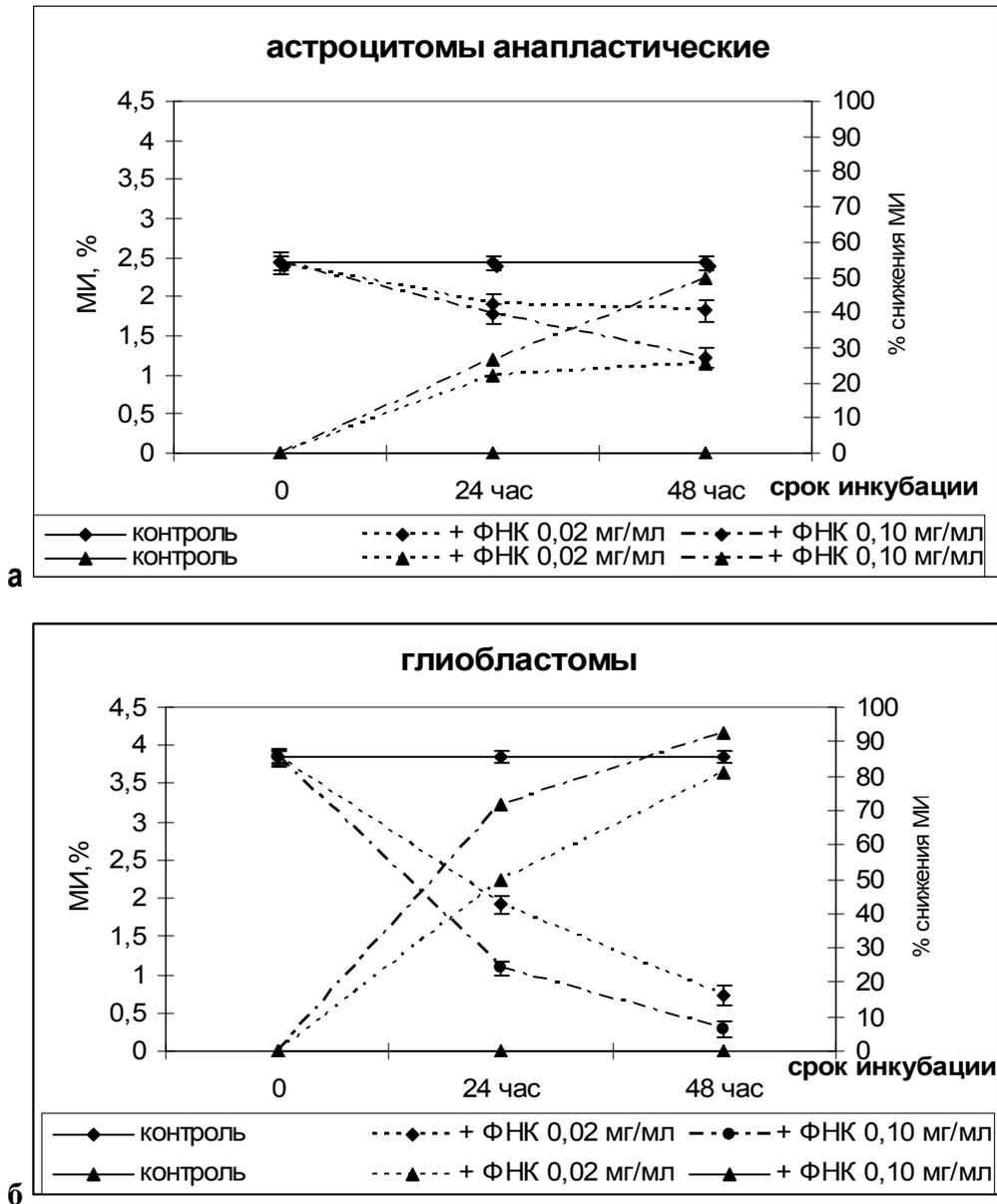


Рис.1. Динамика изменения митотического индекса (МИ) в культурах анапластических астроцитом (а) и глиобластом (б) после инкубации с супернатантом прогениторных нейроцитов (ФНК).

Суммируя полученные данные, можно предположить, что ФНК (E12-16) крысы оказывает цитотоксическое и проапоптотическое действие на клетки опухолей мозга. Предпосылкой такого влияния, возможно, является способность эмбриональных и прогениторных

нейроклеток продуцировать цитокины с противоопухолевым действием. Так, известно, что мультипотентные нейральные прогениторные клетки человека экспрессируют как провоспалительные, так и супрессорные цитокины (IL-1 α , IL-1 β , TGF- β 1, TGF- β 2, TNF- α) (10). Нейральные прогениторные клетки крыс и мышей также экспрессируют некоторые из них при тех же условиях. Наряду с этим, нейральные прогениторные клетки крысы продуцируют все изоформы TGF- β (11). По другим данным в суспензии нейроцитов 17-20-недельного плода человека в следовых количествах выявлялся TNF- α , тогда как концентрация IL-6 составляла (36,64 \pm 4,64) пг/мл при отсутствии IL-10 (12). Кроме того, на роль биологически активных молекул, продуцируемых ЭНК, могут претендовать простагландин E2 (PGE2) и NO, секреция которых доказана для мезенхимальных СК (13-15).

НСК *in vivo* продемонстрировали высокую миграционную способность и супрессивный эффект на пролиферацию клеток глиомы (глиобластомы, медуллобластомы) (15-21). Введение прогениторных НСК в мозг увеличивало выживаемость животных с глиомой и угнетало развитие опухоли (11,22,23). Более того, генетическая модификация СК терапевтическими цитокинами и лигандами (S-TRAIL, CXCR3) усиливала противоопухолевый эффект и удлиняла срок выживания животных-опухоленосителей (24-26). В частности, НСК с трансфицированным геном IL-12, а также нейральные прогениторные клетки, генетически сконструированные к продукции IL-23, имели выраженный противоопухолевый эффект: увеличивали срок выживания животных-носителей внутримозговой и диссеминированной глиомы, по сравнению с несекретирующими НСК (2,3,27).

Полученные нами данные относительно противоопухолевого действия гуморальных факторов, выделенных из нейроклеток фетального мозга крыс (E12-16), согласуются с результатами, полученными в экспериментах гетеротрансплантации глиом под капсулу почки мышей (4). Показано, что на этой модели нейроклетки новорожденных животных и эмбрионов (E6-E17) оказывают ингибирующее влияние на рост глиальных опухолей человека и животных. Установлена также значительно менее выраженная ингибирующая опухолевый рост способность нейроклеток от взрослых животных, чем от новорожденных и эмбрионов, которая реализовалась путем продукции гуморальных агентов (6).

Обнаруженный нами феномен угнетения роста опухоли *in vitro* при воздействии ФНК на опухолевые клетки культивируемых глиом вполне согласуется также с концепцией иммуноподобных свойств клеток ЭНТ, описанных ранее (4). Активность воздействия ФНК на

опухолевые клетки глиом *in vitro* сопоставима с воздействием супернатанта лимфоцитов (СЛ) условно здоровых лиц (неопубликованные данные собственных наблюдений), что, предположительно, можно объяснить сходным набором продуцируемых растворимых факторов, содержащихся в кондиционированных средах от прогениторных нейроклеток крысы (под воздействием конканавалина А) и лимфоцитов условно здоровых лиц, что согласуется с известными данными литературы (10-12).

В наших исследованиях является доказательным предположение, что противоопухолевое действие растворимых продуцированных факторов прогениторных нейроклеток крысы обусловлено прямым цитотоксическим действием на клетки опухолей. Для установления механизма цитотоксического и возможного проапоптотического противоопухолевого действия супернатанта НК (Е12-16) крысы на культивированные клетки глиом необходимы дальнейшие исследования.

Выводы

Результаты представленных исследований существенно дополняют известные экспериментальные факты противоопухолевого влияния клеток ЭНТ и препаратов из нее на глиомы головного мозга различной степени анаплазии, что позволяет надеяться на разработку новых методов биотерапии злокачественных новообразований.

Список литературы

1. **Никифорова А.С., Коновалов А.Н., Гусев Е.И.** Клиническая неврология. М.: «Медицина», 2004, 3,1, 598 с.
2. **Ehtesham M., Kabos P., Kabosova A., Neuman T., Black K.L., Yu J.S.** The use of interleukin 12-secreting neural stem cells for the treatment of intracranial glioma. *Cancer Res.*, 2002, 62, 20: 5657-5663.
3. **Yang S.Y., Liu H., Zhang J.N.** Gene therapy of rat malignant gliomas using neural stem cells expressing IL-12. *DNA Cell Biol.*, 2004, 23, 6: 381-389.
4. **Лисяный Н.И., Олейник Г.М., Маркова О.В., Семенова В.М., Носов А.Т.** Влияние клеток головного мозга на рост опухолей под капсулой почки *in vivo*. Иммунная система головного мозга. К., 1999:116-135.
5. **Маркова О.В.** Изучение некоторых механизмов цитотоксического действия клеток головного мозга *in vitro*. Иммунная система головного мозга. К., 1999:147-156.
6. **Семенова В.М., Цымбалюк В.И., Стаино Л.П., Любич Л.Д., Верхоглядюв Ю.П.** Изучение противоопухолевых свойств различных популяций клеток головного мозга в культуре нервной ткани *in vitro*. Иммунная система головного мозга. К., 1999: 136-146.
7. **Божкова В.П., Брежестовский Л.А., Буравлев В.М.** Руководство по культивированию нервной ткани. Методы. Техника. Проблемы. М.:Наука, 1988, 318 с.
8. **Kleihouse P., Cavanee W.K.** World Health Organisation Classifications of tumors: tumors of the nervous system – pathology and genetics.-Lyon, France: IARC Press, 2000. В кн.:Стандарты,

- рекомендации и опции в лечении глиальных опухолей головного мозга у взрослых. М., 2005, 30 с.
9. **Шевченко И.Т., Богатов, Хрибта Ф.Л.** Элементы вариационной статистики для медиков. К.: Здоров'я, 1970. 112 с.
 10. **Klassen H.J., Imfeld K.L., Kirov I.I., Tai L., Gage F.H., Young M.J., Berman M.A.** Expression of cytokines by multipotent neural progenitor cells. *Cytokine*, 2003, 22, 3-4: 101-106.
 11. **Staflin K., Honeth G., Kalliomaki S., Kjellman C., Edvardsen K., Lindvall M.** Neural progenitor cell lines inhibit rat tumor growth in vivo. *Cancer Res.*, 2004, 64, 15: 5347-5354.
 12. **Жусупова А.С., Сыздыкова Б.Р., Яшueva Д.С.** Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови больных с сирингомиелией и травматической болезнью спинного мозга после трансплантации фетальных нейроцитов. *Нейроиммунология*, 2007, 5, 2:47-48.
 13. **Beachy P.A., Karhadkar S.S., Berman D.V.** Tissue repair and stem renewal in carcinogenesis. *Nature*, 2004, 432: 324-331.
 14. **Oh I., Ozaki K., Sato K.** Interferon-gamma and NF-kappaB mediate nitric oxide production by mesenchymal stromal cells. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 2007, 355, 4: 956-962.
 15. **Pisati F., Belicchi M., Acerbi F., Marchesi C., Giussani C., Gavina M., Javerzat S., Hagedorn M., Carrabba G., Lucini V., Gaini S.M., Bresolin N., Bello L., Bikfalvi A., Torrente Y.** Effect of human skin-derived stem cells on vessel architecture, tumor growth, and tumor invasion in brain tumor animal models. *Cancer Res.*, 2007, 67, 7: 3054-3063.
 16. **Aboddy K.S., Brown A., Rainov N.G., Bower K.A., Liu S., Yang W., Small J.E., Herrlinger U., Ourednik V., Black P.M., Breakefield X.O., Snyder E.Y.** Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence for intracranial gliomas. *PNAS USA*, 2000, 100: 12846-12851.
 17. **Hamada H., Kobune M., Nakamura K., Kawano Y., Kato K., Honmou O., Houkin K., Matsunaga T., Niitsu Y.** Mesenchymal stem cells (MSC) as therapeutic cytoreagents for gene therapy. *Cancer Sci.*, 2005, 96. 3: 149-156.
 18. **Heese O., Disko A., Zirkel D.** Neural stem cell migration toward gliomas in vitro. *Neuro Oncol.*, 2005, 7, 4: 476-484.
 19. **Pisati F., Bossolasco P., Meregalli M., Cova L., Belicchi M., Gavina M., Marchesi C., Calzarossa C., Soligo D., Lambertenghi-Deliliers G., Bresolin N., Silani V., Torrente Y., Polli E.** Induction of neurotrophin expression via human adult mesenchymal stem cells: implication for cell therapy in neurodegenerative diseases. *Cell Transplant.*, 2007, 16, 1: 41-55.
 20. **Schmidt N.O., Przylecki W., Yang W., Ziu M., Teng Y., Kim S.U., Black P.M., Aboddy K.S., Carroll R.S.** Brain tumor tropism of transplanted human neural stem cells is induced by vascular endothelial growth factor. *Neoplasia*, 2005, 7, 6: 623-629.
 21. **Ziu M., Schmidt N.O., Cargioli T.G., Aboddy K.S., Black P.M., Carroll R.S.** Glioma-produced extracellular matrix influences brain tumor tropism of human neural stem cells. *J.Neurooncol.*, 2006, 79, 2: 125-133.
 22. **Barresi V., Belluardo N., Sipione S., Mudò G., Cattaneo E., Condorelli D.F.** Transplantation of prodrug-converting neural progenitor cells for brain tumor therapy. *Cancer Gene Ther.*, 2003, 10, 5: 396-402.
 23. **Staflin K., Lindvall M., Zuchner T., Lundberg C.** Instructive cross-talk between neural progenitor cells and gliomas. *J. Neurosci Res.*, 2007, 85, 10: 2147-2159.
 24. **Jeon J.Y., An J.H., Kim S.U., Park H.G., Lee M.A.** Migration of human neural stem cells toward an intracranial glioma. *Exp. Mol. Med.*, 2008, 40, 1: 84-91.

25. Honeth G., Stafflin K., Kalliomäki S., Lindvall M., Kjellman C. Chemokine-directed migration of tumor-inhibitory neural progenitor cells towards an intracranially growing glioma. *Exp Cell Res*, 2006, 312, 8: 1265-1276.
26. Shah K., Bureau E., Kim D.E., Yang K., Tang Y., Weissleder R., Breakefield X.O. Glioma therapy and real-time imaging of neural precursor cell migration and tumor regression. *Ann Neurol.*, 2005, 57, 1: 34-41.
27. Yuan X., Hu J., Belladonna M.L., Black K.L., Yu J.S. Interleukin-23-expressing bone-marrow-derived neural stem-like cells exhibit antitumor activity against intracranial glioma. *Cancer res.*, 2006, 66, 5: 2630-2638.

РАЗРАБАТЫВАЕТСЯ ПРОБЛЕМА

ОСОБЕННОСТИ РАСПОЛОЖЕНИЯ ХРОМОСОМ В ЯДРАХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ IN VITRO

А.В. Лавров, Я.И. Вольдгорн

Учреждение Российской академии медицинских наук Медико-генетический научный центр

РАМН, Москва, avlavrov@yandex.ru

Важная роль в регуляции экспрессии генов принадлежит эпигенетическим механизмам, в т.ч. трёхмерному строению хроматина в ядре. Мезенхимные стволовые клетки (МСК) являются перспективной моделью изучения роли строения ядра в процессах дифференцировки, сопровождающейся значительными изменениями в экспрессии многих генов. Цель данной работы – изучение особенностей расположения хромосом в ядрах МСК на ранних и поздних пассажах культивирования МСК. Проанализировано более 400 ядер девяти культур МСК. Центромеры хромосомы 6 находятся на большем (0,68), а хромосомы 18 на меньшем (0,49) радиальном расстоянии. Гомологи каждой хромосомы лежат на различных радиальных расстояниях. Между МСК, полученными из жировой ткани и костного мозга, различий в радиальных расстояниях хромосом не выявлено. После восьмого пассажа происходит дистальное смещение центромеры хромосомы 6 (0,66 против 0,72), что может свидетельствовать о старении или спонтанной дифференцировке клеток.

Ключевые слова: хромосомная территория, строение интерфазного ядра, мезенхимная стволовая клетка.