

Історія лабораторій та клінічно-діагностичних підрозділів

УДК 591.8.085.23+611.018+612.014.3 (091)

Історія лабораторії культивування тканин

Верхоглядова Т.П., Семенова В.М.

Інститут нейрохірургії ім.акад. А.П.Ромоданова АМН України, г. Київ, Україна

Ключевые слова: культивування тканин, опухолі мозгу, гистоструктура, ступінь злоякісності, цитотоксичний ефект, нейротрансплантація, епілептогенез.

Розвиток методу тканинних культур в Інституті почалося в початку 60-х років. Ідея створення такої лабораторії належала академіку А.І.Арутюнову і професору Б.С.Хоминському і була продиктована необхідністю отримати модель експериментального росту опухолей мозку з метою углибоного вивчення їх гистобіологічних властивостей.

Т.П.Верхоглядова, тоді кандидат медичних наук, успішно освоїла цей метод в Московському інституті морфології людини під керівництвом академіка А.Д.Тимофєєвського і в 1962 г. організувала лабораторію культивування тканин в Інституті. З 1965 г. в лабораторії почала працювати лікар — науковий співробітник В.М.Семенова.

Перші результати ефективного росту астрочитарних опухолей в первинних культурах отримані в 1963 г. З часом під керівництвом професора Т.П.Верхоглядової лабораторія стала серйозною базою для оригінальних експериментальних досліджень. Перво-



Т.П.Верхоглядова

начально для культивування тканин були обладнані невеликі бокси на території відділу нейропатоморфології. В результаті лабораторія отримала більше просторію в суміжному одноповерховому корпусі, половину якого займала лабораторія біохімії, а з

1981 г. — знаходиться в лабораторному корпусі інституту.

На протязі майже двох десятиліть основним напрямком проводимих в лабораторії досліджень являлося вивчення гистобіологічних особливостей росту опухолей мозку в первинних культурах. Завдяки комплексу методических прийомів (цитохімія нуклеїнових кислот, глікогена, ліпідів, ряду окислювально-відновлювальних ферментів, цитоспектрофотометрія ДНК) вдалося охарактеризувати структурні і метаболічні властивості гліом різного генезу, а також активність їх росту в залежності від вихідної ступені злоякісності. При цьому встановлено здатність до цитотипіческої диференціації опухолевих кліток найбільш злоякісних з гліом — гліобластом (Т.П.Верхоглядова, В.М.Семенова).

В 1967 г. в лабораторії вперше введено метод кінематографічної реєстрації росту культур, який дозволив спостерігати процеси прижиттєвого ділення опухолевих кліток, а також їх поведінкові реакції на вплив протипухолевих препаратів.

Результати 112 спостережень росту макрогліальних опухолей мозку в культурі тканин з властивістю їх метаболізму і реакцій на вплив ряду протипухолевих препаратів проаналізовані і узагальнені в докторській дисертації Т.П.Верхоглядової «Макрогліальні опухолі головного мозку (патоморфологія, гистохімія, культура тканин)» (1970).

Матеріали по тестуванню ряду протипухолевих препаратів на культурах гліом включені також в докторську дисертацію Ю.Д.Соснова («Комбіноване лікування злоякісних гліальних опухолей великих півкуль головного мозку (хірургічне втручання і хіміотерапія)») (1981).

На основі досліджень, проведених в культурі тканин, обґрунтовано і розроблено спо-

соб контактной химиотерапии глиом с использованием в послеоперационном периоде биосовместимого полимерного пленочного депонатора, нагруженного химиопрепаратом. Эти разработки легли в основу кандидатской диссертации А.Н.Морозова “Контактная химиотерапия глиом головного мозга с применением полимерного пленочного депонатора” (1988).

В лаборатории изучены также особенности пролиферации в первичных культурах таких сравнительно редко встречающихся опухолей, как эпендимомы, эпендимоастроцитомы, олигодендроглиомы, медуллобластомы. Материалы морфо-гистохимических исследований эпендимом и эпендимоастроцитом обобщены в кандидатской диссертации В.М.Семеновой “Эпендимомы и эпендимоастроцитомы центральной нервной системы (патоморфология, гистохимия, культура ткани)” (1971).

Исследования Т.П.Верхоглядовой в отношении ростовых потенций менингиом и сарком в первичных культурах существенно расширили представления о гистобиологических особенностях этих опухолей, что нашло отражение в монографии А.П.Ромоданова, В.Г.Станиславского и Т.П.Верхоглядовой “Саркомы головного мозга”, изданной в 1977 г.

В 1980—1984 гг. под руководством профессора Т.П.Верхоглядовой была выполнена кандидатская диссертация Е.Н.Жмаревой “Индукция и экспериментальное исследование опухолей головного мозга крыс” (1984). Е.Н.Жмаревой получены перевиваемые линии злокачественных глиом, индуцированных интрацеребральным введением вируса саркомы Молони. Полученные штаммы использованы для тестирования антибластических препаратов с различным механизмом действия. Линии 35 и 2211 внесены в каталог Всесоюзной коллекции клеточных культур (1991).



В.М.Семенова

Освоение метода тимидиновой гистоавторадиографии позволило дать количественные характеристики скорости роста культивируемых глиом различного генеза и степени злокачественности и объективизировать оценку индивидуальной чувстви-

тельности этих опухолей к тестируемым противоопухолевым препаратам (В.М.Семенова).

Результаты параллельного тестирования чувствительности глиом к этим же препаратам на модели субкапсулярной гетеротрансплантации (Г.М.Олейник, В.М.Семенова) подтвердили достоверность прогнозирования ответной реакции глиом на их антибластическое лечение в эксперименте. Полученные данные учитывали при построении индивидуальных схем антибластической терапии в клинике.

Эти экспериментальные материалы в сочетании с морфологической оценкой признаков лечебного патоморфоза глиом на биоптическом материале обобщены в докторской диссертации В.М.Семеновой “Экспериментально-морфологическая оценка эффективности антибластической терапии глиом головного мозга” (1993).

В 1992 г. заведование лабораторией как самостоятельного научного подразделения было поручено В.М.Семеновой. Это было связано с разработкой в Институте ряда новых научных направлений (нейротрансплантация, лазерная нейрохирургия, фотодинамическая терапия глиом, проблема эпилептогенеза, эффект воздействия на центральную систему малых доз радиации и др.). В этот период лаборатория была оснащена современным оборудованием, расширился ее штат. С 1992 г. в лаборатории работает младший научный сотрудник Л.П.Стайно.

При возникшей потребности моделирования роста клеток нервной ткани как в эксплантах, так и в диссоциированных культурах, были освоены методы получения диссоциированных культур из нервной ткани, а также клеточных фракций, обогащенных нейронами и глиальными клетками, метод совместного культивирования эмбриональных и опухолевых тканей. С приобретением инвертированного микроскопа, снабженного фотонасадкой, появилась возможность прижизненного наблюдения культивируемых клеток с фотографической регистрацией в динамике роста культур.

В рамках разработки нейротрансплантации культуру эмбриональных нейробластов использовали для субпиальной трансплантации на префронтальную кору мозга крыс с целью коррекции нарушенного метаболизма и поведенческих реакций с эквивалентом гипо- и гиперактивности после биорбитальной лейкотомии. Получен положительный лечебный эффект после нейротрансплантации таким животным культивируемых нейробластов от эмбрионов 12—14-дневного возраста. Культуру нейронов использовали также для нейротрансплантации экспериментальным животным (крысам) с целью устранения у них агрессивности, вызванной двусторонней септумэктомией. Эти наблюдения легли в основу кандидатской диссертации Е.И.Слынько “Экспериментальна нейро-



Один из этапов работы в боксе

хірургічна корекція поведінкових порушень” (1993), а затем отражены в монографии В.И.Цымбалюка, Т.П.Верхоглядовой, Е.И.Слынько “Нейрохирургическое лечение психических заболеваний” (1997).

Чернобыльская авария в Украине обусловила особую актуальность выяснения реакции клеток мозга на воздействие малых доз радиации. В лаборатории проведена серия экспериментов, моделирующих влияние малых доз радионуклида ^{137}CS и прямого рентгеновского излучения на культуры нервной ткани из мозга новорожденных крыс и эмбрионов пренатального периода. Результаты этих разработок обобщены в монографии “Хронічний вплив малих доз опромінення на нервову систему. Експериментальні дослідження та клінічні спостереження” (1998).

В связи с экспериментальным изучением роли глиального компонента в формировании эпилептогенного очага в лаборатории была отработана методика получения культур, обогащенных глиальными клетками с преобладанием астроцитов, из различных отделов мозга экспериментальных животных. Идентификация клеток астроглии подтверждена иммуноцитохимически выявлением в них кислого фибриллярного белка — маркера астроцитов. Результаты этих исследований включены в кандидатскую диссертацию К.Р.Костюка “Вплив гетеротопічної алотрансплантації тканини гіпокампу на динаміку біоелектричної активності мозку та функціонально-морфологічної інтеграції імплантату з реципієнтом” (1999).

В рамках проблемы исследования иммунных свойств клеток головного мозга в онтогенезе в лаборатории изучались реакции клеток глиом на воздействие клеточных суспензий, обогащенных нейрочитами и глией, а также их

супернатантов. Эти материалы отражены в коллективной монографии “Иммунная система головного мозга” (1999).

В течение последних лет на культурах глиом и нервной ткани экспериментальных животных проводится изучение эффективности различных фотосенсибилизаторов и отработка оптимальных схем лазерного облучения в реализации фотодинамического эффекта.

На всех этапах работы лаборатории ее ведущие сотрудники профессор Т.П.Верхоглядова и доктор медицинских наук В.М.Семенова принимают постоянное участие в работе патомор-

фологического отдела, осуществляя диагностику биоптического материала, а также выполняют морфологические фрагменты научной тематики в соответствии с проблемами, разрабатываемыми в институте.

Под руководством профессора Т.П.Верхоглядовой выполнены и защищены 23 диссертационных работы, из них 18 кандидатских и 5 докторских диссертаций. Профессор Т.П.Верхоглядова является автором более 149 научных публикаций и соавтором 5 монографий.

Под руководством д.м.н. В.М.Семеновой выполнены морфологические фрагменты двух кандидатских диссертаций. Она является автором 88 научных публикаций и соавтором 2 монографий. Л.П.Стайно является соавтором 17 публикаций. Результаты разработки различных теоретических и практических вопросов с привлечением метода тканевых культур освещены более чем в 70 публикациях и включены в 3 докторские, 7 кандидатских диссертаций и в 4 монографии.

The History of the Issue Cultivating Laboratory

T.P.Verhogliadova, V.M.Semyonova

The stages of formation and development of the Institute Issue Cultivating Laboratory were presented. The main scientific tendencies and results of the conducted researches with the use of this method have been considered.

Історія лабораторії культивування тканин

Верхоглядова Т.П., Семенова В.М.

Представлено етапи становлення та розвитку лабораторії культивування тканин Інституту. Розглянуто головні наукові напрямки та результати проведених досліджень із застосуванням даного методу.