

## Інформація

### Інформація о работе Международного симпозиума “Биология клетки в культуре” (25–27 октября 2004 г., г.Санкт-Петербург, РФ)

Семенова В.М., Лисяный Н.И.

Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова АМН Украины, г.Киев

25–27 октября 2004 г. в Санкт-Петербурге в Институте цитологии РАН состоялся очередной Международный симпозиум по биологии клетки в культуре на тему: “Стволовые клетки, регенерация, клеточная терапия”. Симпозиум организован и проведен совместными усилиями специалистов по клеточным культурам Научного совета по клеточной биологии и иммунологии РАН, Института цитологии и общества клеточной биологии (РФ).

Общая тематика симпозиума включала обсуждение следующих проблем: 1) биология эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) и стволовых клеток (СК) взрослого организма, 2) молекулярные механизмы регуляции клеточного цикла, 3) роль микроокружения и межклеточных взаимодействий, 4) роль СК в процессах регенерации, 5) проблемы трансдифференцировки, 6) заместительная клеточная терапия.

Как и в предыдущие годы, к работе симпозиума был проявлен живой интерес исследователей, работающих с клеточными культурами не только в России, но и в странах СНГ, а также в ряде стран ближнего и дальнего зарубежья. География представительства участников симпозиума была весьма обширной. В его работе приняли участие ученые 25 научных учреждений Москвы, 13 научных учреждений Санкт-Петербурга, 7 научно-исследовательских центров г. Пушино и ряда городов России: Владивостока, Новосибирска, Томска.

На симпозиуме присутствовали специалисты из Украины, Грузии, Белоруссии, Казахстана. В работе симпозиума приняли участие также ученые из Великобритании, Германии, Дании, Кореи, США, Швеции.

Украину представляли сотрудники 5 научно-исследовательских учреждений г. Киева и г.Донецка. От Института нейрохирургии им.акад. А.П.Ромоданова на симпозиум были приглашены доктор медицинских наук В.М.Семенова, профессор Н.И.Лисяный, старший научный сотрудник И.А.Гнедкова.

На 3 пленарных заседаниях симпозиума было заслушено 22 программных доклада, представленных ведущими специалистами по биологии СК. При этом основное внимание было уделено плюрипотентным ЭСК млекопитающих и человека, которые характеризуются неограниченной пролиферацией и способны дифференцироваться во все типы клеток организма.

Как известно, выделение ЭСК в 1998 г. открыло новое направление в биологии и медицине, которое стало интенсивно разрабатываться в разных странах, включая Россию. Об этом свидетельствует создание в Москве двух

научно-исследовательских институтов стволовых клеток. К настоящему времени получено 17 постоянных линий плюрипотентных ЭСК, выделенных из предимплантационных blastocyst человека.

В докладах первых двух дней на заседаниях симпозиума рассматривались особенности культивирования ЭСК человека (Н.Н. Никольский и соавт., Санкт-Петербург), молекулярно-генетическая характеристика линий ЭСК человека на ранних стадиях дифференцировки (М.А. Лагарькова и соавт., Москва), механизмы автономной пролиферации ЭСК клеток мыши (О.Ф. Гордеева и соавт., Москва). Были представлены также результаты изучения механизмов плюрипотентности и детерминации ЭСК млекопитающих на ранних стадиях эмбриогенеза и на начальных стадиях их дифференцировки (А.П.Дыбан, Санкт-Петербург), а также исследования взаимоотношений между ЭСК и тканевыми СК (В.А.Козлов, Новосибирск). Были охарактеризованы также ключевые регуляторы пролиферации ЭСК – комплексы белков-циклинов, специфичных для каждой фазы клеточного цикла с циклинзависимыми киназами (И.А.Мельн и соавт., Санкт-Петербург).

Однако, несмотря на обширность и разносторонность накопленных данных по биологии ЭСК, неоднократно подчеркивалось, что возможности их широкого практического применения в клинической медицине на сегодняшний день пока ограничены, с одной стороны, из-за нестандартизованных технологий их получения, с другой — в связи с плохой предсказуемостью их поведения в организме человека. Как известно, в различных постоянных линиях ЭСК обнаруживают гетерогенность колоний, кроме того, не исключается возможность формирования тератом из имплантированных ЭСК в организме реципиента. Третьим общепризнанным препятствием на пути широкого использования СК является проблема преодоления иммунной несовместимости аллогенных СК, которые при пересадке индуцируют реакции отторжения, что является причиной низкой эффективности аллогенной трансплантации. Одним из путей преодоления иммунной несовместимости СК, как указывалось на симпозиуме, является генетическая реконструкция (модификация) ядер СК путем внесения в них генов гистосовместимости реципиента или замещением целого ядра СК на ядро клетки от будущего реципиента.

В связи с этим во многих исследованиях большое внимание уделено разработке и совершенствованию эффективных и безопасных технологий получения ЭСК. С этой целью опро-

бываются различные условия их культивирования (на фидере и без фидера, на человеческом фибронектине, на различных молекулярных комплексах внеклеточного матрикса). Испытываются также разновидности композиционного состава питательных культуральных смесей с использованием того или иного набора ростовых факторов.

Особо подчеркивалась актуальность разработки критериев стандартизации полученных линий ЭСК с обязательным условием постоянного мониторинга стабильности кариотипа в ЭСК в динамике их культивирования.

В докладах третьего дня на симпозиуме были представлены доклады по использованию заместительной клеточной терапии в эксперименте и клинике при различной патологии. Сообщалось об эффективной трансплантации культивированных стволовых стромальных клеток костного мозга для репаративной регенерации дефекта костей черепа и трубчатых костей у кроликов (Р.В. Деев и соавт., Санкт-Петербург, Н.В. Кругляков и соавт., Санкт-Петербург). Представлены также результаты применения аутоаллотрансплантации клеток костного мозга для замещения дефекта нижней челюсти у крыс с получением полноценного регенерата. Впоследствии этот метод был внедрен в клиническую практику в челюстно-лицевой хирургии у больных, оперированных по поводу кист нижней челюсти (Э.И. Лежнев и соавт., Пущино, Москва).

В отношении использования СК у взрослых лиц наиболее разработанной является клеточная терапия при повреждениях кожи. Культивированные базальные кератиноциты и дермальные фибробласты успешно применяются для восстановления мезенхимально-эпителиальных дефектов кожи при ожогах (М.И. Блинова и соавт., Санкт-Петербург, А.В. Васильев и соавт., Москва).

Культивированные клетки печени взрослого человека используются для лечения больных с циррозом печени (А.Н. Вусик и соавт., Томск).

Трансплантация культивированных сингенных мезенхимных СК, выделенных из костного мозга 19–22-недельных плодов человека при экспериментальном инфаркте миокарда, приводила к более быстрому завершению процессов воспаления в зоне ишемии, более интенсивной васкуляризации поврежденного миокарда и сохранению кардиомиоцитов в рубце (П.В. Кругляков и соавт., Санкт-Петербург).

В докладе Ю.Л. Шевченко и соавторов (Москва, Санкт-Петербург, Новосибирск) была рассмотрена концепция клеточной терапии аутоиммунных заболеваний, показана позитивная роль принципиально нового подхода к их лечению с использованием высокодозной химиотерапии и трансплантации аллогенных или аутологических стволовых кроветворных клеток. Продемонстрированы клинические наблюдения высокой эффективности практического применения разработанного авторами метода.

Интересно отметить, что в настоящее время идентифицирован ген-маркер рассеянного склероза и определены потенциальные ген-кандидаты: из 11000 генов, исследованных при

этом заболевании, в 100 генах выявлены те или иные нарушения.

Естественно, в особой степени наше внимание привлекли сообщения о культивировании нейральных стволовых клеток (НСК). Большой интерес вызвал доклад О.В. Подгорного и соавторов (Москва) о результатах иммуногистохимического определения экспрессии белков-маркеров нейральной дифференцировки в культивированных клетках эмбрионального мозга человека (9–10 нед гестации). Культуры исследовали с использованием первичных антител (антинестин и антиглиальный фибриллярный кислый белок, антивиментин, анти-в-тубулин III и антинейрофиламенты-70). Обнаружено, что в культурах клеток эмбрионального мозга человека выявляются клетки, одновременно экспрессирующие по 2 маркера различных этапов дифференцировки. И только клетки с характеристиками нейронов и глиии демонстрировали специфическую морфологию этих клеточных фенотипов.

М.А. Александрова и соавторы (Москва) исследовали влияние методов культивирования эмбриональных нейральных СК на их поведение после трансплантации в мозг крыс. В опытах краткосрочного культивирования в питательной среде, содержащей FGF-2 и TGF, обнаружен гетерогенный состав нейросфер, состоящих из СК, прогениторов, нейро- и глиобластов. После внутримозговой имплантации эти нейроклетки дегенерировали к 20-му дню. В отличие от этого в опытах длительного культивирования эмбриональных нейроклеток с добавлением фактора ингибирования лейкемии LIF наблюдалось значительное наращивание количества СК, более распространенная их миграция при внутримозговой имплантации и более длительное переживание пролифелирующих нейроклеток (до 30 сут).

Следует указать на высокий методический уровень проводимых в России исследований по биологии СК с применением иммуногистохимии, цитофлуориметрии, электронной микроскопии, ауторадиографии.

Материалы сотрудников нашего Института продемонстрированы в 4 презентациях. В них отражены результаты культивирования нейроклеток обонятельной луковицы человека в динамике длительного наблюдения (В.М. Семенова), активационные и реконструктивные эффекты внутримозговой имплантации нейральных прекурсоров и глиии (Ю.А. Зозуля, А.П. Черченко и соавт.), распределение рецепторов к лектинам на мембранах криоконсервированных клеток эмбрионального мозга человека различных сроков гестации (И.П. Гнедкова), результаты длительного культивирования эмбриональных нейроклеток *in vitro* (Н.И. Лисяный, Л.Д. Любич).

Материалы 92 стендовых докладов на симпозиуме были сгруппированы в разделы.

1. Стволовая клетка. 2. Клеточная терапия. 3. Регенерация.

В дискуссии высказано единодушное мнение о высокой научно-практической значимости представленных на симпозиуме материалов по исследованию биологии СК и необходимости дальнейших разносторонних базовых исследований с использованием клеточных культур.