

Матеріали конференцій

Всероссийский симпозиум “Культивируемые клетки как основа клеточных технологий” (12–14 октября 2009 г., Санкт-Петербург)

Семенова В.М.

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

12–14 октября 2009 г. в Институте цитологии Российской Академии Наук состоялся очередной симпозиум специалистов по клеточным культурам России, организованный Научным советом по клеточной биологии и иммунологии, Институтом цитологии РАН, обществами клеточной биологии и биотехнологии России им. Ю.А. Овчинникова, а также Ассоциацией специалистов по клеточным культурам, созданной в России в 1990 г. на базе Института цитологии РАН. Ассоциация объединяет специалистов России и стран СНГ, выпускает ежегодный “Информационный бюллетень”, входит в состав Европейской ассоциации тканевых культур в качестве российской ветви, президентом Ассоциации является видный ученый-цитолог с мировым именем, заслуженный деятель науки РФ проф. Пинаев Георгий Петрович, руководитель отдела клеточных культур Института цитологии РАН.

В работе симпозиума приняли участие ученые более 40 научно-исследовательских учреждений и научно-практических центров Москвы, Санкт-Петербурга, Новосибирска, Владивостока, Уфы. На 5 заседаниях заслушаны 23 доклада, представляющих результаты разносторонних разработок по применению клеточной терапии при различных заболеваниях как в эксперименте, так и в клинических условиях. В представленной информации освещены результаты исследований, интересные для специалистов нашего Института.

Наибольшее число докладов было посвящено биологии полипотентных и мультипотентных стволовых клеток (СК) из различных тканевых регионов и анализу факторов, влияющих на их функциональные свойства. Интенсивно изучается также участие СК в процессах регенерации и дифференцировки в поврежденных тканях и органах.

Из мультипотентных мезенхимальных СК (МСК) взрослого организма все большее значение приобретают стромальные клетки из жировой ткани (СКЖТ). Метод трансплантации аутологичных СКЖТ в настоящее время рассматривают в качестве одного из наиболее перспективных подходов для стимуляции ангиогенеза в ишемизированных тканях в связи с их способностью секретировать ангиогенные факторы роста, в том числе фактор роста эндотелия сосудов и фактор роста гепатоцитов. Установлено, что при гиперликемии в культивируемых СКЖТ изменяется экспрессия некоторых генов, кодирующих регуляторы роста кровеносных сосудов (Ж.А. Акоюн и др., Москва).

Важно отметить, что в процессе старения организма возникает угнетение ангиогенных свойств и пролиферативного потенциала СКЖТ, что сопро-

вождается уменьшением длины теломер (в 3 раза) и увеличением доли апоптотических клеток (в 3 раза). В то же время уровень фактора роста гепатоцитов оказывается выше у старых животных по сравнению с таковым у молодых. Однако при гипоксии наблюдают выравнивание секреции обоих факторов у молодых и старых особей.

Сделан вывод, что культивирование СКЖТ перед трансплантацией в условиях пониженного содержания кислорода может повысить эффективность клеточной терапии (Е.Е. Старостина и соавт., Санкт-Петербург).

Разработка технологии выделения и культивирования аутологичных СКЖТ оказалась актуальной также для восстановительной стоматологии в целях восполнения костного субстрата у больных с дефектами челюстных костей, возникших вследствие воспалительно-деструктивных процессов, обусловливающих остеокластическую резорбцию. Установлено, что при введении культивированных СКЖТ в зону повреждения активируются репаративные процессы вследствие локальной пролиферации эндотелиальных клеток и стимуляции выхода их предшественниц из костного мозга. Кроме того, субпопуляция клеток-предшественниц среди СКЖТ способна дифференцироваться в эндотелиальном, хондрогенном, адипогенном и остеогенном направлениях. В связи с этим предполагают, что трансплантация СКЖТ в костно-челюстной дефект может обеспечить наращивание утраченного костного субстрата (К.А. Рубина и соавт., Москва).

Большое внимание на симпозиуме было уделено результатам исследования биологических свойств полипотентных МСК, которые все шире применяют в качестве средства восстановительной терапии при травме, патологии опорно-двигательного аппарата, неврологических, сердечно-сосудистых и других заболеваниях. Особенно активно изучается влияние аутологичных клеток костного мозга на регенерацию ишемизированных тканей, в частности, при ишемической болезни сердца и облитерирующих заболеваниях артерий. На модели инфаркта миокарда у кролей доказано положительное влияние на репаративные процессы в миокарде введения культивированных аутологичных клеток костного мозга, что подтверждено комплексом диагностических функциональных кардиологических исследований (А.А. Матюков и соавт., Санкт-Петербург).

Показано также, что после внутримышечной трансплантации СК костного мозга (СККМ) мутантным мышам, у которых нарушен синтез дистрофина, наблюдали включение этих клеток в поперечно-полосатые мышечные волокна и увеличение синтеза этого

вещества, предотвращающего гибель мышечных волокон (А.В. Соколова и соавт., Санкт-Петербург).

Интересно отметить, что наряду с заместительной функцией МСК проявляли свойства иммунодепрессии. Оказалось, что при пересадке МСК животным-реципиентам аллогенных тканей увеличилась продолжительность жизни трансплантатов и задерживалось развитие реакции “трансплантат против хозяина”. В связи с этим предполагают, что МСК могут быть полезными для профилактики реакции отторжения трансплантатов, болезни “трансплантат против хозяина”, при лечении аллергических и аутоиммунных заболеваний. Мировой опыт применения МСК в качестве иммунодепрессантов при пересадке органов пока ограничен несколькими клиническими наблюдениями пациентов с пересаженными органами (почки, печень), у которых трансплантация костного мозга позволила отказаться от применения химических препаратов-иммунодепрессантов (В.Б. Климович, Санкт-Петербург).

В культуре МСК представляют неоднородную гетерогенную популяцию по морфологическому составу, пролиферативной активности, адгезивности к субстрату, степени зрелости, потенции к дифференцировке. Рассмотрены методические приемы выделения, культивирования, идентификации и направленной дифференцировки МСК. Показано, что МСК костного мозга крысы из 4 неадгезивных субпопуляций не отличались по фенотипическим маркерам CD90 и CD73 от таковых контрольной адгезивной популяции в первичной культуре и проявляли одинаковую способность к остеогенной и адипозогенной дифференцировке в стандартных индукционных средах, что характеризует их соответствие основным критериям МСК (Э.И. Буеверова, Е.А. Молчанова, Москва). Установлена также высокая чувствительность культивируемых МСК к воздействию различных факторов роста, в частности, к основному фактору роста фибробластов, эпидермальному фактору роста и фактору роста тромбоцитов (Е.А. Молчанова, Э.И. Буеверова, Москва).

Особый интерес вызвало сообщение исследователей из Новосибирска о результатах трансплантации аутологичных костномозговых клеток при спинальной травме. Установлены безопасность и эффективность этого метода лечения у 20 больных при полном функциональном повреждении спинного мозга (СМ) в позднем периоде травмы. Для трансплантации использованы моноклеарные клетки, выделенные из аспирата костного мозга методом градиентного центрифугирования, с оценкой количества и функции основных субпопуляций лимфоцитов, стволовых кроветворных клеток и МСК. Группу сравнения составили 12 доноров. МСК разделяли на фракции прилипающих и не прилипающих клеток и вводили в 2 режимах: внутривенно и в зону повреждения СМ

(I протокол), а также внутривенно и эндолумбально (II протокол). Обследование больных включало оценку неврологического статуса, функциональной активности, выраженности спастического синдрома с учетом результатов электрофизиологического исследования и данных магниторезонансной томографии. Установлено, что лечение больных с использованием I протокола характеризовалось хорошей переносимостью, отсутствием каких-либо локальных или системных побочных реакций, достоверное неврологическое улучшение достигнуто в 66,7% наблюдений. При сочетанном введении больным клеток костного мозга (II протокол) наблюдали удовлетворительную переносимость и положительную неврологическую динамику у 50% больных. У 4 из них достигнуто улучшение проводниковой чувствительности и функции органов таза (Е.Р. Черных и соавт., Новосибирск).

Не меньший интерес представляют данные о взаимном влиянии фибробластоподобных МСК костного мозга человека и клеток глиомы человека линии U251 в смешанной культуре. В различных вариантах опытов установлено, что при их совместном культивировании в несколько раз увеличивается пролиферация МСК, что обусловлено стимулирующим влиянием растворимых факторов, секретлируемых клетками глиомы. При средней плотности посева смешанной суспензии двух типов клеток наблюдали признаки инкапсуляции островков опухоли контактирующими с ними МСК, что подтверждает их тропизм по отношению к солидным опухолям, в т.ч. глиомам. Поэтому МСК рассматривают как возможный носитель векторов при терапии опухолей (И.А. Чистякова и соавт., Санкт-Петербург).

В ряде докладов большое внимание уделено разработкам тканеинженерных конструкций на основе трехмерных биорезорбируемых матриц-носителей для культивированных клеток, что обеспечивает максимально высокую концентрацию клеток в области повреждения, повышает их выживаемость при трансплантации и определяет их гистотипическую дифференцировку. Для получения свойств биосовместимости и биодеградации свойств таких матриц-носителей апробируются различные синтетические и полимерные материалы. В связи с этим наш доклад “Эффективность трансплантации культивируемых нейроцитов обонятельной луковицы и имплантации синтетического макропористого гидрогеля при травме спинного мозга в эксперименте” (В.М. Семенова, В.И. Цымбалюк, В.В. Медведев, Ю.Я. Яминский, Л.П. Стайно, Киев) вызвал большой интерес и получил положительную оценку.

Наше участие в работе симпозиума, без сомнения, оказалось плодотворным и обогатило нас новой научной информацией в области теории и практики применения клеточных технологий.