

УДК 591.881:576.3/4:616-006.484:615.012.6

Дослідження протипухлинної дії супернатанту прогеніторних нейроклітин щура на клітини гліом в умовах культивування

Семенова В.М., Любич Л.Д., Лісяний М.І., Главацький О.Я., Стайно Л.П.

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

Метою роботи було дослідження впливу супернатанту прогеніторних нейроклітин (НК) щура E12-16 на активність росту гліальних пухлин в умовах культивування. Відзначений дозозалежний ефект посилення протипухлинної дії досліджуваного препарату НК E12-16 за умови його інкубації протягом 24 год з культурами анапластичних гліом. Після інкубації з препаратом НК E12-16 спостерігали дистрофічні та некробіотичні зміни в більшості клітин пухлин з порушенням загальної структури їхньої зони росту, що посилювалися при збільшенні тривалості інкубації до 48 год. Виявлено залежність ефекту препарату НК E12-16 від ступеня анаплазії пухлин. Найбільший протипухлинний вплив препарату відзначений в культурах гліобластом.

Ключові слова: прогеніторні нейроклітини, гліоми людини, протипухлинна дія.

Гліоми є найбільш поширеними первинними пухлинами головного мозку, серед яких значну частку становлять злоякісні форми з несприятливим прогнозом для життя пацієнтів. У більшості гліом виявляють ознаки інфільтративного росту і резистентність до антибластичної терапії та радіотерапії. У зв'язку з цим виникає потреба у нових підходах до мішеневої терапії цих пухлин. Одним з них вважають генно-клітинну терапію з застосуванням стовбурових клітин (СК) як векторів [10, 26]. Мікрооточення, індуковане хронічним запаленням і клітинами пухлин, здатне залучати та накопичувати СК, як нормальні, так і трансформовані [8, 17]. Особливий інтерес становить феномен тропності нормальних СК до злоякісних пухлин головного мозку, зокрема, гліальних. На експериментальних моделях росту гліом (N29, C6) показано, що нейральні стовбурові клітини (НСК) селективно мігрують до тканини пухлин і накопичуються на межі між пухлиною і інтактними клітинами мозку [6, 14, 24]. Це дозволяє сподіватися на перспективність використання нормальних НСК як векторних систем для селективної доставки протипухлинних речовин у зону росту пухлини [18].

Крім того, клітини ембріональної нервової тканини (ЕНТ), яка містить значну кількість НСК, можуть проявляти протипухлинну дію [2]. Встановлений протипухлинний вплив клітин головного мозку ембріонів та новонароджених тварин на клітини пухлини лінії K-562 [3], а також протипухлинна активність ЕНТ та постнатальної нервової тканини у відношенні до гліом людини в умовах їх гетеротрансплантації під капсулу нерви мишей у поєднанні з нейронально збагаченими клітинними суспензіями мозку, що розвивається [2]. Встановлений також виражений цитотоксичний вплив ЕНТ щурів щодо клітин експериментальної перевивної гліоми щурів (штам 101.8) в умовах їх поєданого культивування з виникненням дистрофічних та некробіотичних змін у культивованих клітинах пухлин [5]. Таку саму активність щодо гліом виявляють гуморальні чинники, отримані з ЕНТ щурів [2].

Метою роботи було вивчення впливу супернатанту прогеніторних НК на активність росту гліальних пухлин в умовах культивування.

Матеріали і методи дослідження. Отримання супернатанту (фактору) прогеніторних нейроклі-

тин (ФНК). Використовували суспензію НК щура з ембріонів 12-16 діб гестації (E12-16). Нативну ЕНТ переносили в ізотонічний розчин натрію хлориду, звільняли від оболонок, вміщували в середовище DMEM (Sigma, Німеччина) і суспендували за допомогою шприца з товстою голкою. Життєздатність клітин у суспензії визначали шляхом фарбування трипановим синім і обчислення в камері Горяєва [4]. НК вміщували в стерильних умовах у середовище DMEM у концентрації $6,0 \times 10^6$ клітин в 1 мл, додавали конканавалін А (10 мкг/мл) та інкубували протягом 2 год в CO_2 -інкубаторі при температурі $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ за постійної вологості 95% і газового складу. По завершенні інкубації клітини осаджували шляхом центрифугування протягом 5 хв при швидкості 1500 об./хв, відмивали у середовищі DMEM, додавали свіже середовище DMEM і інкубували в тих самих умовах протягом 24 год. По завершенні інкубації клітини осаджували шляхом центрифугування протягом 5 хв при швидкості 1500 об./хв, відбирали супернатант, визначали концентрацію білка, стандартизували до концентрації 0,1 мг/мл, аліквотизували і зберігали при температурі $-(20 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

Вплив супернатантів НК щура (ФНК) E12-16 досліджували на дисоційованих культурах пухлин в концентрації 0,02 та 0,1 мг/мл.

Отримання культур з пухлин головного мозку. Як модель росту пухлин (гліом) головного мозку використані первинні дисоційовані культури, отримані за стандартною методикою [4].

Культивували фрагменти 12 пухлин головного мозку, видалених у хворих під час нейрохірургічних операцій. Відповідно до міжнародної морфологічної класифікації пухлин центральної нервової системи, яку найбільш часто використовують в сучасній нейроонкології [16], за даними гістологічного дослідження пухлин діагностовані 2 астроцитом та 1 олігоастроцитом II ступеня анаплазії, 4 астроцитом та 2 олігоастроцитом III ступеня анаплазії, 3 гліобластоми IV ступеня анаплазії.

Для отримання культури пухлину подрібнювали мікроножицями у середовищі DMEM, ретельно відмивали від крові, звільняли від судин та оболонок. Механічну дисоціацію здійснювали шляхом багаторазового піпетування фрагментів тканини пухлини. По 1×10^6 клітин наносили на покривні скельця, поперед-

ньо оброблені поліетиленіміном, з метою отримання адгезивного шару. Пухлини культивували на чашках Петрі в середовищі 199 та DMEM (1:1) з додаванням 10% ембріональної телячої сироватки, 4 г/л глюкози та 0,2 ОД/мл інсуліну. Культури пухлин утримували в умовах CO₂-інкубатора (37°C, 95% вологості, 5% CO₂), прижиттєво спостерігали в динаміці ріст в інвертованому мікроскопі Біолам П-3 (ЛОМО, Санкт-Петербург).

Після отримання ефективного росту відбирали культури з відносно рівномірною зоною росту і розподіляли на 3 групи: 1 — контрольна група культур; 2 — культури пухлин, які інкубували з препаратом ФНК протягом 24 год; 3 — культури пухлин, які інкубували з препаратом ФНК протягом 48 год. Концентрація препарату у групах 2 і 3 становила 0,02 і 0,1 мг/мл. Після інкубації з препаратом для гістологічного дослідження культури фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну і фарбували гематоксиліном Караччі.

Результати та їх обговорення. За даними прижиттєвого спостереження в культивованих гліомах контрольної групи відзначені послідовні етапи формування зони росту культур. В перші 3 доби культивування астроцитом II ступеня анаплазії під шаром еритроцитів відзначали міграцію біполярних і веретеноподібних фібробластів і гістіоцитів амeboїдної форми з численними заокругленими клітинами у стані спонтанної загибелі. На 3–5-ту добу культивування сполучнотканинної клітини поступово дегенерували: їх цитоплазматичні тіла заокруглювалися, втрачали відростки, накопичували ліпідні гранули та десквамувалися. Внаслідок цього на переважачій площі покривних скелець залишалися розріджені розростання клітин пухлин трикутної або біполярної форми з вираженими відростками. В подальшому (12–15-та доба) зона росту культур поступово розширювалася, вони набували характерних ознак астрогліального типу росту з утворенням сіткоподібних структур. Таким чином, в культурах астроцитом II ступеня анаплазії відзначали досить мономорфний склад клітин з ознаками їх астроцитарного диференціювання, клітини мали довгі, часто розгалужені відростки і продукували гліальні волокна. Серед клітин визначали також мультіполярні форми протоплазматичних астроцитів пухлини (**рис. 1 кольорової вкладки**). Важливо підкреслити, що в цих культурах клітини у стані мітотичного ділення не виявляли, що свідчило про повільний ріст цих пухлин в умовах культивування.

В контрольних культурах астроцитом та олігоастроцитом III ступеня анаплазії проявлялася досить уповільнена проліферація. Лише на 30–35-ту добу культивування цих гліом клітини утворювали поширену зону росту у вигляді моношарових розростань мономорфних низькодиференційованих гліоцитів з наявністю поодиноких мітозів. На поверхні таких ділянок виявлені окремі олігодендроцити пухлини (**рис. 2 кольорової вкладки**).

На відміну від культивованих анапластичних астроцитом та олігоастроцитом контрольні культури гліобластом, які є найбільш злоякісними гліомами, характеризувалися значним поліморфізмом клітин з наявністю атипичних та багатоядерних форм (**рис. 3 кольорової вкладки**). В ущільнених ділянках зони

росту культур часто виявляли клітини у стані мітозу, що свідчило про прискорену проліферацію гліобластом в умовах культивування, це відповідало гістобіологічним властивостям цих гліом *in vivo*. Таким чином, в дисоційованих первинних культурах гліом II ступеня анаплазії утворюється поширена зона росту клітин пухлини, які мігрують з мікроексплантатів, мають ознаки астроцитарного фенотипу та формують характерні сіткоподібні структури. В культурах гліом III–IV ступеня анаплазії відзначали збільшення поліморфізму клітин та посилення проліферації.

Результати, отримані в дослідних культурах гліом після інкубації їх з ФНК E12–16.

В дослідних культурах анапластичних астроцитом при інкубації протягом 24 год з препаратом ФНК (0,02 мг/мл) спостерігали значне розрідження моношарових розростань клітин внаслідок деструкції їх значної кількості з подальшою десквамацією (**рис. 4 кольорової вкладки**).

При збільшенні концентрації досліджуваного препарату ФНК (0,1 мг/мл) після інкубації протягом 24 год відзначене ще більше спустошення зони росту культур внаслідок відшарування деструктивно-змінених клітин пухлини (**рис. 5 кольорової вкладки**).

Таким чином, встановлений дозозалежний ефект посилення протипухлинної дії досліджуваного препарату ФНК за його інкубації протягом 24 год з культурами анапластичної астроцитомі.

В культурі анапластичної олігодендроастроцитомі після інкубації протягом 24 год з ФНК (0,02 мг/мл) спостерігали ретракцію моношарової зони росту з появою дистрофічних та некробіотичних змін у клітинах, що залишилися (**рис. 6 кольорової вкладки**).

В культурах гліобластом, інкубованих з препаратом ФНК (0,02 мг/мл) протягом 24 год, також виявлений значний деструктивний вплив препарату на клітини пухлини. Зона росту культур значно розріджена, містить тіні некробіотично-змінених клітин, що залишилися, з розпадом цитоплазматичних тіл. Лише окремі клітини зберегли загальні контури тіл та відростків (**рис. 7 кольорової вкладки**).

Під час тестування збільшеної концентрації препарату ФНК (0,1 мг/мл) за інкубації протягом 24 год в культурах гліобластом деструктивний вплив його помітно посилювався (**рис. 8 кольорової вкладки**), що також свідчило про дозозалежний цитотоксичний вплив дослідженого препарату на клітини пухлини.

У серії дослідів з подовженою до 48 год інкубацією культур з ФНК спостерігали посилення деструктивних змін клітин гліом незалежно від вихідної гістологічної будови.

Таким чином, за даними дослідження з тестування препарату ФНК з метою оцінки його впливу на первинні культури гліом різного ступеня анаплазії встановлено, що цей препарат на такій експериментальній моделі *in vitro* має тенденцію до протипухлинної активності. Після інкубації з препаратом ФНК спостерігали ознаки дозозалежного цитотоксичного впливу препарату, який спричиняв дистрофічні та некробіотичні зміни у більшості клітин пухлини з порушенням загальної структури їх зони росту, що посилювалися при збільшенні тривалості інкубації

до 48 год. Виявлено залежність ефекту препарату ФНК від ступеня анаплазії пухлин. Найбільший протипухлинний вплив препарату відзначали в культурах гліобластом.

Підсумовуючи отримані дані, слід припустити, що ФНК E12-16 щура справляє цитотоксичний та проапоптотичний вплив на клітини пухлин мозку. Передумовою такого впливу, можливо, є здатність ембріональних та прогеніторних НК до продукції цитокінів, що мають протипухлинну дію. Так, мультипотентні нейральні прогеніторні клітини людини експресують як прозапальні, так і супресорні цитокіни (IL-1 α , IL-1 β , TGF- β 1, TGF- β 2, ФНП- α) [15]. Нейральні прогеніторні клітини щура і миші також експресують деякі з них за тих самих умов. Нейральні прогеніторні клітини щура продукували всі ізоформи TGF- β [25]. За іншими даними, в суспензії НК плода людини 17-20 тижнів гестації виявляли сліди ФНП- α , тоді як концентрація IL-6 становила (36,64 \pm 4,64) пг/мл за відсутності IL-10 [1]. Крім того, біологічно активними молекулами, продукованими ЕНТ, можуть бути простагландин E2 (PGE2) і NO, секреція яких доведена для мезенхімальних СК [9, 19, 20].

НСК *in vivo* мають високу міграційну здатність і справляють супресивний вплив на проліферацію клітин гліоми (гліобластоми, медулобластоми) [6, 11, 12, 20-22, 28]. При введенні прогеніторних НСК тривалість життя тварин з гліомою збільшувалася, уповільнювався ріст пухлини [7, 24, 25]. Більше того, за генетичної модифікації СК терапевтичними цитокінами та лігандами (S-TRAIL, CXCR3) посилювався протипухлинний вплив і збільшувалася тривалість життя тварин-пухлиноносіїв [13, 14, 23]. Зокрема, НСК з трансфікованим геном IL-12, а також нейральні прогеніторні клітини, генетично сконструйовані до продукції IL-23, справляли виражений протипухлинний вплив: тривалість життя тварин-носіїв внутрішньомозкової та дисемінованої гліоми збільшувалася порівняно з такою при застосуванні несекретуючих НСК [10, 26, 27].

Дані щодо протипухлинної дії чинників, отриманих з ЕНТ, співпадають з результатами, одержаними під час дослідження інших експериментальних моделей, зокрема, запропонованих Лісяним М.І., Олейник Г.М. та співавторами (1996, 1997, 1999) моделі росту гліальних пухлин під капсулою нирки в експериментальних тварин [2]. Було встановлено, що нервові клітини новонароджених тварин та ембріонів (E6-17) гальмують ріст пухлин під капсулою нирки як людини, так і тварин. Гальмівна здатність нервових клітин дорослих тварин була значно меншою, ніж новонароджених та ембріонів, і реалізувалася шляхом продукування гуморальних чинників [2].

В наших дослідженнях доказовим є припущення, що протипухлинна дія розчинних у супернатанті продукованих факторів прогеніторних НК щура зумовлена прямим цитотоксичним впливом на клітини пухлин. Для встановлення механізму цитотоксичної та можливої проапоптотичної протипухлинної дії супернатанту НК E12-16 щура на культивовані клітини гліом необхідні подальші дослідження.

Результати проведених досліджень суттєво доповнюють одержані в експерименті факти щодо цитотоксичного впливу ЕНТ та препаратів з неї на гліоми головного мозку різного ступеня злоякісності.

Список літератури

1. Жусупова А.С., Сыздыкова Б.Р., Яушева Д.С. Динамика уровня цитокинов в сыворотке крови больных с сирингомиелией и травматической болезнью спинного мозга после трансплантации фетальных нейроцитов: Материалы XVI Всерос. конф. «Нейроиммунология», «Нейроимидж» и научн.-практ. конф. неврологов, (Санкт-Петербург, 2007) // Нейроиммунология. — 2007. — Т.5, №2. — С.47-48.
2. Имунная система головного мозга / Под ред. Н.И. Лисяного. — К., 1999. — 216 с.
3. Маркова О.В. Изучение некоторых механизмов цитотоксического действия клеток головного мозга *in vitro* // Имунная система головного мозга / Под ред. Н.И. Лисяного. - К., 1999. — С.147-156.
4. Руководство по культивированию нервной ткани. Методы. Техника. Проблемы / В.П. Божкова, Л.А. Брежестовский, В.М. Буравлев и др. — М.: Наука, 1988. — 318 с.
5. Семенова В.М., Цымбалюк В.И., Стайно Л.П. и др. Изучение противоопухолевых свойств различных популяций клеток головного мозга в культуре нервной ткани *in vitro* // Имунная система головного мозга / Под ред. Н.И. Лисяного. — К., 1999. — С.136-146.
6. Aboody K.S., Brown A., Rainov N.G. et al. Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence for intracranial gliomas // PNAS USA. — 2000. — V.100. — P.12846-12851.
7. Barresi V., Belluardo N., Sipione S. et al. Transplantation of prodrug-converting neural progenitor cells for brain tumor therapy // Cancer Gene Ther. — 2003. — V.10, N5. — P.396-402.
8. Beachy P.A., Karhadkar S.S., Berman D.V. Tissue repair and stem renewal in carcinogenesis // Nature. — 2004. — V.432. — P.324-331.
9. Cui L., Yin S., Liu W. et al. Expanded adipose-derived stem cells suppress mixed lymphocyte reaction by secretion of prostaglandin E2 // Tissue Eng. — 2007. — V.13, N6. — P.1185-1195.
10. Ehtesham M., Kabos P., Kabosova A. et al. The use of interleukin 12-secreting neural stem cells for the treatment of intracranial glioma // Cancer Res. — 2002. — V.62, N20. — P.5657-5663.
11. Hamada H., Kobune M., Nakamura K. et al. Mesenchymal stem cells (MSC) as therapeutic cytoreagents for gene therapy // Cancer Sci. — 2005. — V.96, N3. — P.149-156.
12. Heese O., Disko A., Zirkel D. Neural stem cell migration toward gliomas *in vitro* // Neuro Oncol. — 2005. — V.7, N4. — P.476-484.
13. Honeth G., Stafilin K., Kalliomäki S. et al. Chemokine-directed migration of tumor-inhibitory neural progenitor cells towards an intracranially growing glioma // Exp. Cell Res. — 2006. — V.312, N8. — P.1265-1276.
14. Jeon J.Y., An J.H., Kim S.U. et al. Migration of human neural stem cells toward an intracranial glioma // Exp. Mol. Med. — 2008. — V.40, N1. — P.84-91.
15. Klassen H.J., Imfeld K.L., Kirov I.I. et al. Expression of cytokines by multipotent neural progenitor cells // Cytokine. — 2003. — V.22, N3-4. — P.101-106.
16. Kleihouse P., Cavanee W.K. World Health Organisation Classifications of tumors: tumors of the nervous system — pathology and genetics. — Lyon, France: IARC Press, 2000 // Наведено за: Стандарты, рекомендации и опции в лечении глиальных опухолей головного мозга у взрослых. — М., 2005. — 30 с.
17. Kucia M., Reza R., Miekus K. et al. Trafficking of normal stem cells and metastasis stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF-1-CXCR4 axis // Stem cells. — 2005. — V.23. — P.879-894.
18. Noble M. Can neural stem cells be used to track down and destroy migratory brain tumor cells while also providing

- a means of repairing tumor-associated damage? // PNAS USA. — 2000. — V.97. — P.12393-12395.
19. Oh I, Ozaki K., Sato K. Interferon-gamma and NF-kappaB mediate nitric oxide production by mesenchymal stromal cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2007. — V.355, N4. — P.956-962.
 20. Pisati F., Belicchi M., Acerbi F. et al. Effect of human skin-derived stem cells on vessel architecture, tumor growth, and tumor invasion in brain tumor animal models // Cancer Res. — 2007. — V.67, N7. — P.3054-3063.
 21. Pisati F., Bossolasco P., Meregalli M. et al. Induction of neurotrophin expression via human adult mesenchymal stem cells: implication for cell therapy in neurodegenerative diseases // Cell Transplant. — 2007. — V.16, N1. — P.41-55.
 22. Schmidt N.O., Przylecki W., Yang W. et al. Brain tumor tropism of transplanted human neural stem cells is induced by vascular endothelial growth factor // Neoplasia. — 2005. — V.7, N6. — P.623-629.
 23. Shah K., Bureau E., Kim D.E. et al. Glioma therapy and real-time imaging of neural precursor cell migration and tumor regression // Ann. Neurol. — 2005. — V.57, N1. — P.34-41.
 24. Staffin K., Lindvall M., Zuchner T., Lundberg C. Instructive cross-talk between neural progenitor cells and gliomas // J. Neurosci. Res. — 2007. — V.85, N10. — P.2147-2159.
 25. Staffin K., Honeth G., Kalliomaki S. et al. Neural progenitor cell lines inhibit rat tumor growth in vivo // Cancer Res. — 2004. — V.64, N15. — P.5347-5354.
 26. 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. — V.23, N6. — P.381-389.
 27. Yuan X., Hu J., Belladonna M.L. et al. Interleukin-23-expressing bone-marrow-derived neural stem-like cells exhibit antitumor activity against intracranial glioma // Cancer Res. — 2006. — V.66, N5. — P.2630-2638.
 28. Ziu M., Schmidt N.O., Cargioli T.G. et al. Glioma-produced extracellular matrix influences brain tumor tropism of human neural stem cells // J. Neurooncol. — 2006. — V.79, N2. — P.125-133.

Исследование противоопухолевого действия супернатанта прогениторных нейроцитов крысы на клетки глиом в условиях культивирования

Семенова В.М., Любич Л.Д., Лисяний Н.И., Главацкий А.Я., Стаyno Л.П.

Целью работы было исследование влияния супернатанта прогениторных нейроцитов крысы E12-16 на активность роста глиальных опухолей в условиях культивирования. Установлен дозозависимый эффект усиления противоопухолевого действия исследованного препарата нейроцитов E12-16 при его инкубации в течение 24 ч с культурами анапластических глиом. После инкубации с препаратом нейроцитов E12-16 наблюдали дистрофические и некробиотические изменения в большинстве клеток опухоли с нарушением общей структуры зоны их роста, которые усугублялись при увеличении продолжительности инкубации до 48 ч. Выявлена зависимость действия препарата нейроцитов E12-16 от степени анаплазии опухоли. Наиболее значительное противоопухолевое действие препарата отмечено в культурах глиобластом.

Investigation of rat progenitor neural cells supernatant antitumor action on glioma cells in conditions of culture

Semenova V.M., Lyubych L.D., Lisyany N.I., Glavatskiy A.Ya., Stayno L.P.

The purpose was to investigate rat progenitor neurocells E12-16 supernatant action on the growth activity of glial tumors in conditions of culture. The dose-dependent effect of neurocells E12-16 supernatant antitumor influence intensification was registered following 24-hour incubation with anaplastic glioma cultures. After incubation with neurocells E12-16 supernatant the dystrophic and necrobiotic changes in most tumor cells with disturbance of general structure of the cells growth area were observed intensifying under prolonged incubation to 48 hours. Neurocells E12-16 supernatant effects depended on the degree of tumor anaplasia. The most significant antitumor effect of the neurocells supernatant was registered in glioblastoma cultures.

Коментар

до статті Семенової В.М., Любич Л.Д., Лісяного М.І., Главацького О.Я., Стайно Л.П. «Дослідження протипухлинної дії супернатанту прогеніторних нейроклітин щура на клітини гліом в умовах культивування»

Подана до публікації стаття присвячена актуальній темі пошуку нових підходів до мішеневої терапії гліом, які вважають найбільш поширеними первинними пухлинами мозку, що включають значну частку злоякісних форм з несприятливим прогнозом для життя пацієнтів. Це зумовлене ознаками інфільтративного росту та резистентністю цих пухлин до антибластичної терапії та радіотерапії. У роботі автори досліджують характер протипухлинного впливу супернатанту прогеніторних нейроклітин (НК) щура E12–16 (ФНК) на активність росту гліальних пухлин в умовах культивування.

Представлені дані, що наочно показують виникнення дистрофічних та некробіотичних змін в більшості клітин пухлини, інкубованих з супернатантом прогеніторних НК щура E12–16, на тлі порушення загальної структури зони росту культур. Виявлений протипухлинний ефект тестованого препарату посилюється при подовженні інкубації культур з препаратом та має дозозалежну дію. Виявлено також залежність ефекту препарату ФНК від ступеня анаплазії пухлин: найбільший деструктивний вплив спостерігали в культурах гліобластом.

Автори припускають, що супернатант, отриманий від НК E12–16 щура, справляє прямий цитотоксичний вплив на пухлинні клітини гліом, що пояснюється здатністю ембріональних та прогеніторних НК до продукування цитокінів, що мають протипухлинну дію.

Отримані результати щодо протипухлинного впливу факторів, отриманих з ембріональних НК, підтверджують дані, одержані раніше на інших експериментальних моделях, зокрема, при моделюванні Лісяним М.І., Олейник Г.М. та співавторами (1996, 1997, 1999) росту гліальних пухлин, трансплантованих під капсулу нирки мишей у поєднанні з суспензією НК з мозку новонароджених тварин та ембріонів (E6–17), які гальмували ріст пухлин.

Цілком слушним є зауваження, що для встановлення механізму цитотоксичної та можливої проапоптотичної протипухлинної дії супернатанту НК E12–16 щура на культивовані клітини гліом необхідні подальші дослідження, які сприятимуть поглибленню причин виявленого феномену.

Результати проведених авторами досліджень суттєво доповнюють існуючі експериментальні факти цитотоксичного впливу ембріональних НК та препаратів з них на гліоми головного мозку різного ступеня злоякісності. Робота має теоретичний та практичний інтерес.

*А.Т. Носов, доктор мед. наук, професор,
керівник лабораторії електронної мікроскопії
Інституту нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України*

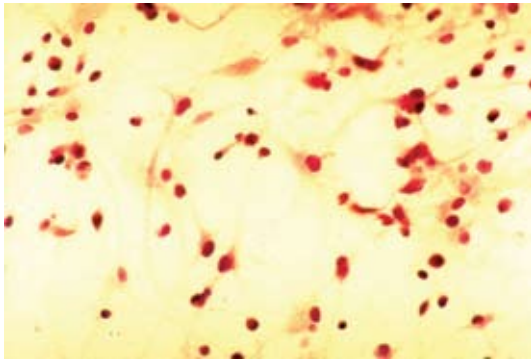


Рис. 1. Мікрофото. Культура анапластичної астроцитоми II ступеня анаплазії. Контроль. 14-та доба культивування. Забарвлення гематоксиліном Караччі. Зб.×400.

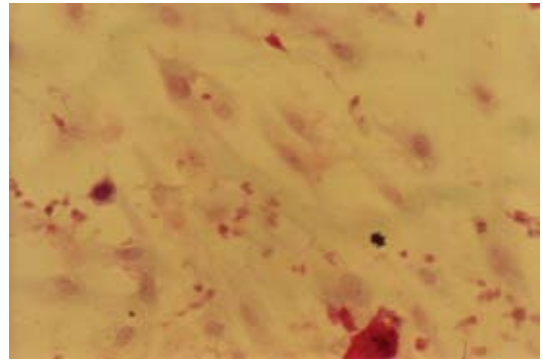


Рис. 2. Мікрофото. Культура анапластичної олігодендроастроцитоми. Контроль. 35-та доба культивування. Забарвлення гематоксиліном Караччі. Зб.×400.

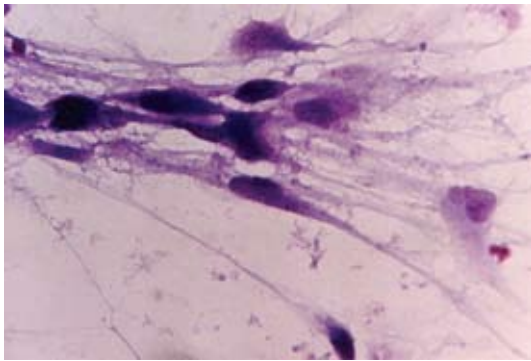


Рис. 3. Мікрофото. Культура гліобластоми. Контроль. 7-ма доба культивування. Забарвлення гематоксиліном Караччі. Зб.×800.

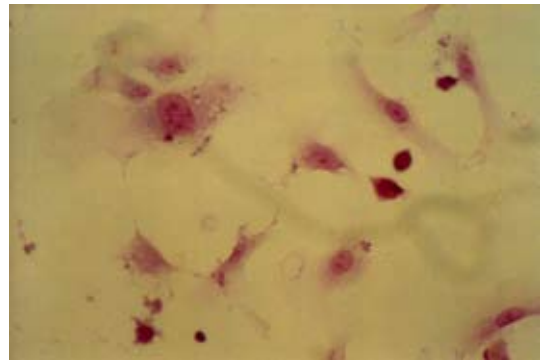


Рис. 4. Мікрофото. Культура анапластичної астроцитоми після інкубації з ФНК (0,02 мг/мл) протягом 24 год. 23-тя доба культивування. Забарвлення гематоксиліном Караччі. Зб.×400.

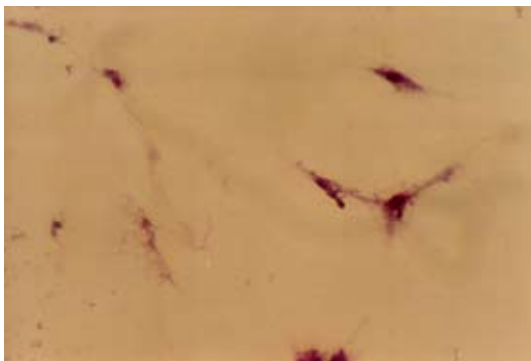


Рис. 5. Мікрофото. Культура анапластичної астроцитоми після інкубації з ФНК (0,1 мг/мл) протягом 24 год. 23-тя доба культивування. Забарвлення гематоксиліном Караччі. Зб.×400.

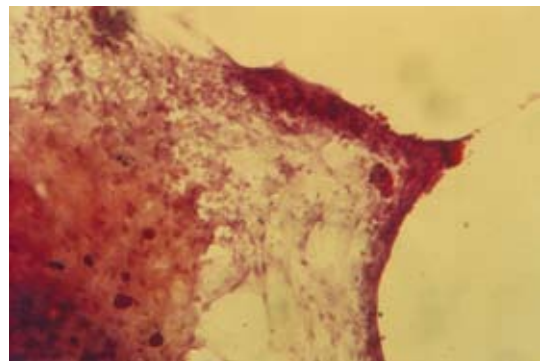


Рис. 6. Мікрофото. Культура анапластичної олігодендроастроцитоми після інкубації з ФНК (0,02 мг/мл) протягом 24 год. Забарвлення гематоксиліном Караччі. Зб.×200.

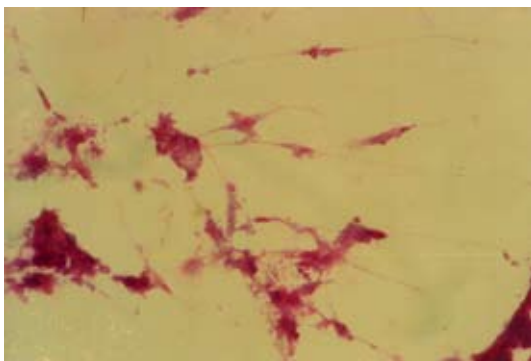


Рис. 7. Мікрофото. Культура гліобластоми. 7-ма доба культивування після інкубації з ФНК (0,02 мг/мл) протягом 24 год. Забарвлення гематоксиліном Караччі. Зб.×400.

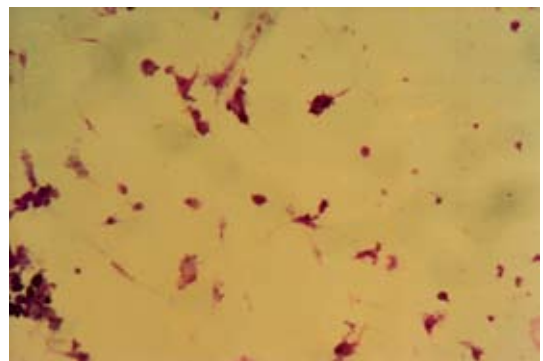


Рис. 8. Мікрофото. Культура гліобластоми після інкубації з ФНК (0,1 мг/мл) протягом 24 год. 37-ма доба культивування. Забарвлення гематоксиліном Караччі. Зб.×400.