

Матеріали з'їздів та конференцій

Обзор материалов

II Съезда Общества клеточной биологии и Юбилейной конференции, посвященной 50-летию Института цитологии РАН (16–19 октября 2007 г., г. Санкт-Петербург, Россия)

Семенова В.М.

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

16–19 октября 2007 г. в Санкт-Петербурге состоялись II Всероссийский съезд Общества клеточной биологии и Юбилейная конференция, посвященная 50-летию Института цитологии Российской Академии Наук. Организаторы — научный Совет по клеточной биологии и иммунологии, Институт цитологии РАН, Общество клеточной биологии РАН. В работе съезда и конференции приняли участие ученые более 20 научно-исследовательских учреждений и научно-практических центров Москвы, 22 учреждений Санкт-Петербурга, многих городов России и стран СНГ: Владивостока, Екатеринбурга, Нижнего Новгорода, Новосибирска, Казани, Пущино, Томска, Уфы, Киева, Петрозаводска, Тбилиси. Живой интерес к работе съезда проявлен учеными дальнего зарубежья (Великобритании, Бельгии, Германии, Голландии, Канады, Польши, США, Финляндии, Швеции).

Ведущие специалисты России и зарубежных стран сделали 69 докладов, посвященных результатам разносторонних исследований биологии клеток различного гистогенеза с применением современных методов молекулярной цитогенетики, биофизики, иммуноцитохимии, видеомикроскопии, флуоресцентной и электронной микроскопии. В материалах 157 стендовых докладов отражены научные и прикладные аспекты цитологических исследований на различных экспериментальных моделях *in vivo* и *in vitro* тканей человека, млекопитающих, насекомых и высших растений.

На пленарных заседаниях и симпозиумах обсужден широкий круг вопросов: регуляция клеточного цикла и канцерогенез, функциональная изменчивость ядерного хроматина, молекулярно-генетические механизмы внутриклеточной сигнализации и транспортных систем, реакция цитоскелета, органелл и рецепторного аппарата клеток на токсические и протекторные воздействия, особенности поведения культивируемых клеток в зависимости от типа адгезивных субстратов внеклеточного матрикса. В представленный обзор включены результаты исследований, представляющих научный, практический и методический интерес для нейронаук.

Одним из приоритетных, бурно развивающихся направлений в настоящее время является проблема биологии стволовых клеток (СК) и разработка новых методов клеточной терапии различных заболеваний. Современные исследования СК включают идентификацию клеточных популяций, выделение и анализ СК различного происхождения, моделирование

процессов тканевой регенерации, контроль условий пролиферации и дифференцировки. В связи с этим специальное заседание было посвящено результатам изучения морфофункциональной и молекулярно-генетической характеристики эмбриональных СК (ЭСК), которые рассматривают как уникальную экспериментальную модель для исследования фундаментальных клеточных механизмов, вовлеченных в регуляцию процессов раннего онтогенеза и гистогенеза млекопитающих, процессов репрограммирования генома соматических клеток и канцерогенеза. Подчеркнуто, что при получении постоянных линий ЭСК в культуре нарушается позиционная информация доимплантационного периода развития эмбриона, устанавливаются новые пространственно-временные закономерности дифференцировки плюрипотентных клеток. При этом определяющее значение приобретает сравнительное изучение механизмов формирования эмбрионидных тел эмбриональными СК, герминативными и тератокарциномными клетками в условиях культивирования. Исследование закономерностей «искусственного эмбриогенеза» позволяет создать уникальную тест-систему для изучения эмбриотоксичности и тератогенности новых лекарственных препаратов (О.Ф. Гордеева и соавт., Москва).

Наряду с этим, ЭСК представляют также рациональную модель для открытия новых генов и факторов, участвующих в дифференцировке определенного типа клеток, а также для применения в клеточной трансплантационной терапии. В частности, установлено, что ЭСК человека и приматов способны дифференцироваться *in vitro* в серотонинпродуцирующие нейроны. Созданная на мышах модель с инактивированным Trh2-энзимом, лимитирующим уровень синтеза серотонина в мозгу *in vivo*, позволяет изучать функциональную значимость системы серотонина и может быть использована для оценки функциональных возможностей серотонинэргических нейронов, полученных из ЭСК *in vitro* (Аленина и соавт., Берлин, Санкт-Петербург).

Неоднократно подчеркивалось, что при работе с культурами ЭСК важное значение имеет проблема стандартизации. На примере кариологического анализа ЭСК мыши линии E-14-IV установлена генетическая неоднородность клеточного состава на этапах пассирования культур: анеуплоидия, утрата некоторых хромосом или их копий, вариации набора и трисомия в части хромосом, а также появление дополнительного генетического материала (сверх-

мелких микрохромосом) и атипичных хромосом. Показано, что в длительных культурах этой линии происходит дестабилизация кариотипа адаптивного характера, что обуславливает гетерогенность популяции, свойственную трансформированным ЭСК. Поэтому во время культивирования ЭСК необходим периодический кариотипический контроль с использованием стандартных маркеров их плюрипотентности (CD34, MSX-1, C-Met) и пролиферации (K-67), поскольку наличие неконтролируемых генетических и эпигенетических модификаций генома в ЭСК может приводить к появлению клеток с неизвестными свойствами и потенциалом на любой стадии нормальной дифференцировки с последующим образованием тератом. Кроме того, на экспрессию маркерных генов ЭСК могут оказывать влияние условия культивирования, вызывая многовариантность дифференцировки (Т.М. Гринчук и соавт., Санкт-Петербург).

Чрезвычайно важным является также установление факта, что направление развития ЭСК в культуре можно регулировать с помощью активаторов и блокаторов кальциевых каналов, поскольку ЭСК чувствительны к изменениям в питательной среде ионного баланса свободного кальция — потенциального индуктора пролиферации и поддержания ЭСК *in vitro* в плюрипотентном состоянии (М.А. Осипенко и соавт., Пушино).

Большой интерес представляет сравнительный анализ дифференцировки нейральных СК (НСК) из 10-недельного мозга эмбрионов человека и сетчатки в культуре ткани, фрагменты которых культивировали в бессывороточной среде в присутствии митогенов FGF и EGF (М.А. Александрова и соавт., Москва). По данным цепной реакции с полимеразой нативный мозг и сетчатка имели сходный уровень экспрессии мРНК по маркерам дифференцировки (β -тубулину, KGFК, виментину), а также по факторам транскрипции (Pax6, Prox-1, Oct-4, Nagon). При этом НСК эмбрионального мозга проявляли потенции к самоподдержанию и мультипотентной дифференцировке в отличие от пигментных клеток из цилиарной области, которые проявляли способность к трансдифференцировке, а не к проявлению стволовых свойств (М.А. Александрова и соавт., Москва).

Интересно отметить, что даже из эпидермиса новорожденных мышей удалось выделить 3 независимые бессмертные клеточные линии плюрипотентных СК, которые, подобно клеткам из нервного гребня, способны генерировать клетки-предшественницы нейролеммоцитов, чувствительных нейронов, а также меланоцитов (Е.В. Sviderskaya, Санкт-Петербург). Предполагают, что эти клеточные линии могут иметь большую ценность при изучении клеточной детерминации, биологии меланом и, возможно, постнатальной регенерации нейронов.

В последние годы внимание ученых привлекают мезенхимные стромальные клетки (МСК) или стромальные клетки костного мозга (СККМ) как источник мультипотентных СК, способных к разнонаправленной дифференцировке: в остеобласты, адипоциты, хондробласты и другие типы клеток (Е.И. Полякова и соавт., Санкт-Петербург). Изучение механизмов мультипотентности является одним из приоритетных направлений в биологии СККМ в целях расширения возможности их применения в

регенерационной медицине. В нескольких докладах представлены результаты исследования биологических свойств этих клеток в зависимости от условий культивирования.

В настоящее время определены 3 основных критерия МСК: адгезия к пластику в стандартных условиях культивирования, экспрессия специфических поверхностных антигенов (фенотип), способность МСК к дифференцировке *in vitro* в разные типы клеток. При сравнительном изучении адгезивных и колониеобразующих свойств МСК установлена наиболее эффективная адгезия этих клеток к фибронектину (Э.И. Буеверова и соавт., Москва). Выявлен также стимулирующий эффект гипоксии (5% O₂) на усиление пролиферации, снижение гетерогенности и повышение устойчивости к аноксии культивируемых клеток МСК костного мозга крыс (Е.Б. Анохина, Л.Б. Буравкова, Москва).

В настоящее время большое внимание уделяют изучению возможностей дифференцировки СККМ в направлении кардиомиоцитов, подбору оптимальных условий их культивирования. Так, для обеспечения специфического микроокружения направленной цитодифференцировки апробировано культивирование СККМ совместно с клетками сердца взрослых крыс. Индукция признаков кардиомиоцитарной дифференцировки установлена с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции экспрессии маркеров мышечной ткани (α -актина, I и II тропонина) при совместном культивировании СККМ с клетками сердца и свежeweделенными мононуклеарами костного мозга (Г.Е. Левина и соавт., Санкт-Петербург). С этой же целью тестирован 5'-азоцитидин — специфический химический индуктор кардиомиогенной дифференцировки (Ю.В. Маленьких и соавт., Санкт-Петербург), а также совместное культивирование МСК с клетками линии A-549 и линии R1 с получением эффекта сократительной активности клеток подобно кардиомиоцитам.

Показано, что стромальные клетки жировой ткани могут быть использованы для восстановления сосудов и мышцы сердца после инфаркта миокарда, инсульта, а стромальные клетки костной ткани — при остеопорозе. Обсуждается возможность применения этих клеток также в лечении фиброза легких, при расстройствах ЦНС, нарушении остеогенеза, заболеваниях хрящевой ткани и суставов. Разрабатываются методы их использования в составе трехмерных тканевых эквивалентов и гистотипических конструкций, обогащенных тканеспецифическими СК на основе биологического матрикса, что позволяет существенно расширить возможности их применения для восстановления при различных тканевых повреждениях.

Исследованию нейральных СК (НСК) уделено значительно меньше внимания. Представляют интерес результаты, представленные в работе Д.Э. Коржевского и соавторов (Санкт-Петербург), которые установили, что через 7 нед после транзиторной общей ишемии головного мозга крыс утраченная популяция NeuN-позитивных нейронов в области СА1 гиппокампа полностью количественно не восстанавливается, хотя известно, что ишемия, как и другие патологические состояния в мозгу, сопровождается активацией эндогенных НСК, направленной на вос-

становление поврежденных нейронов с использованием собственных резервов нестинположительных и пролиферирующих НСК. Это свидетельствует об ограниченных возможностях собственных активированных эндогенных НСК (и клеток-предшественниц) адекватно пополнять утраченные популяции нейронов.

Представляет интерес также исследование молекулярных механизмов патогенеза некоторых нейродегенеративных заболеваний, в частности, хореи Хантингтона, возникающей вследствие мутации элонгации триплета, кодирующего глутамин в N-концевой части молекулы в протеине Хантингтона. Это способствует накоплению в нейронах мутантного белка и их апоптозу с селективной дегенерацией средних шиповатых нейронов (MSN). Установлено, что дофаминовые сигнальные пути играют важную роль в патогенезе этой болезни, а антагонисты дофамина (например, тетрабеназин) оказывают мощный нейропротекторный эффект при нейродегенеративной патологии и могут оказаться эффективным терапевтическим средством для лечения нейродегенеративных заболеваний наряду с «симптоматическими» средствами (I. Bezprozvanny, Dallas, США).

В области экспериментальной онкологии в настоящее время изучаются закономерности течения промоторной стадии канцерогенеза, свойства

рекомбинантных производных антител для адресного воздействия на клетки опухоли (С.М. Деев, Москва), проводится сравнительное цитогенетическое исследование глиобластомы человека линии GL-6 (251-MG) после длительного срока хранения в жидком азоте с оценкой профиля хромосомных нарушений в клетках опухоли и их жизнеспособности (Г.Р. Михайлова, Р.Я. Подчеряева, Москва).

Следует указать на высокий методический уровень представленных работ, из которых более половины выполнены при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и фонда Президиума РАН по программе «Молекулярная и клеточная биология», фонда Президента РФ по поддержке ведущих научных школ, фонда по программе фундаментальных исследований «Фундаментальная наука — медицине».

Работа Института нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины представлена презентацией «Получение глиально-обогащенной популяции для внутримозговой нейротрансплантации» (В.М. Семенова и соавт., Киев).

В обсуждении докладов и дискуссии высказано единодушное мнение о высокой научно-практической значимости проведенных съезда и конференции, наметивших перспективные пути дальнейшего развития цитологических наук.