



ОАО «Институт стволовых клеток человека»

Гемабанк

ООО «Гемафонд» (Украина)

ThermoFisher Scientific

**Материалы  
III Международного Симпозиума  
«Актуальные вопросы клеточных технологий»**

Москва, 27 сентября 2010 г.

Контролем служили клетки, культивировавшиеся без гелевого препарата. Культуру клеток наблюдали с помощью инвертированного фазово-контрастного микроскопа Diavert (Nikon, Япония). Фотографии делали цифровой камерой Nikon D5000. Цифровое усиление контраста проводили с помощью программы Image J. Люминесцентную микроскопию проводили с помощью микроскопа Olympus BX61 (Япония). Использовали цифровую камеру CoolSNAP (США).

В результате проведенных исследований было выяснено, что оба вида ММСК для сохранения жизнеспособности требуют доступа к культуральному пластику. При микроскопическом наблюдении в течение нескольких дней стало ясно, что оба типа клеток прикрепляются к пластику в свободных от геля местах и сохраняют нормальную структуру и жизнеспособность по МТТ-тесту. Таким образом, можно полагать, что изучаемый материал не обладает выраженной цитотоксичностью, однако клетки не в состоянии использовать его как непосредственный субстрат для роста. Со временем такие неприкрепившиеся клетки погибают от апоптоза (апоптоз от невозможности прикрепиться).

Для определения влияния гелевого материала на пролиферацию клеток сначала высаживали клетки в лунки, а затем добавляли «Индост-гель+». В этих условиях клетки достаточно хорошо росли под гелем. Их количество после недели культивирования было сходным с контролем, что позволяет утверждать об отсутствии отрицательного влияния материала на пролиферацию.

При исследовании индукции дифференцировки в культуре положительный результат был получен после исключения аскорбата из состава индуцирующей среды и снижении количества добавляемого гелевого материала. В этом случае на 21-е сут. культивирования активность ЩФ в опыте была существенно выше ( $p < 0,05$ ), чем в контроле. Показателем стимулирования остеогенной дифференцировки было также более высокое отложение минерализованного матрикса. В тот же срок культивирования гелевый материал подвергается контракции в результате объединения клетками мелких частиц в более крупные образования с тем, чтобы компактизовать и изолировать гель. Похожее действие производят фибробласты при добавлении к ним гранул коллагена. По биологическому смыслу это действие *in vivo* направлено на очистку раны.

В.Н. Никандров, О.Н. Жук

#### **Компоненты перичеллюлярного протеолиза в биотехнологии клеток нервной ткани**

*Институт физиологии НАН Беларуси,  
Минск, Республика Беларусь*

V.N. Nikandrov, O.N. Juk

#### **The components of pericellular proteolysis biotechnology in cells of nervous tissue**

Обобщены результаты собственных исследований роли плазминогена и стрептокиназы в жизнедеятельности клеток нервной ткани в органотипических, диссоциированных культурах чувствительных и симпатических ганглиев, неокортекса, а также перевиваемых линий глиомы С6, нейробластомы IMR-32 и феохромоцитомы РС12.

В дефицитной по белкам сыворотки крови питательной среде плазминоген и стрептокиназа стимулировали жизнеспособность клеток, и в концентрации

$10^{-7}$ – $10^{-10}$  М защищали клетки чувствительных, симпатических ганглиев, неокортекса и перевиваемых линий от повреждающего действия  $H_2O_2$  (0,0001 М),  $NH_4Cl$  (0,01 М), глутамата, АТФ (0,001 М) в анионной форме и охлаждения. Даже кратковременная экспозиция (20 мин) клеток глиомы С6 или феохромоцитомы РС12 с этими белками в концентрации  $10^{-9}$  М вела к резким изменениям перичеллюлярного или внутриклеточного АТФ- или  $Ca^{2+}$ -активируемого протеолиза. В присутствии изучаемых белков активировались биосинтетические процессы в клетках нервной ткани, изменилась их энзиматическая активность.

Исследуемые белки в ряде случаев ускоряли созревание культур ткани, улучшали адгезивность, обеспечивали высокую жизнеспособность, увеличивали количество отростков и их арборизацию. Электронная микроскопия выявила характер структурных перестроек клеток нервной ткани, отражающих нейротрофические свойства плазминогена или стрептокиназы. Стрептокиназа способна регулировать водно-электролитный баланс клетки.

Обсуждается значение полученной совокупности результатов в фундаментальном и прикладном аспектах, включая проблемы биотехнологии нервной ткани.

А.В. Новицкая, А.А. Смикодуб, М.П. Демчук,  
И.В. Архипенко

#### **Фетальные стволовые клетки в лечении метаболического синдрома**

*Центр эмбриональных тканей «ЭмСелл»  
Киев, Украина*

infocenter@emcell.com

A.V. Novytska, A.A. Smikodub, M.P. Demchuk, I.V. Arkhipenko

#### **Fetal Stem Cells in Metabolic Syndrome**

Под наблюдением находились 12 пациентов (7 мужчин и 5 женщин, средний возраст  $58,0 \pm 6,3$  лет) с клиническими проявлениями метаболического синдрома. У всех пациентов была гипертония I-II степени, нарушения углеводного обмена: нарушение толерантности к глюкозе – 8 пациентов и сахарный диабет (СД) 2 типа легкой степени (утренняя гипергликемия, аглюкозурия) с гиперинсулинемией и повышением уровня С-пептида ( $4,7 \pm 1,6$  нг/мл) у 3-х пациентов. У всех пациентов имели место нарушения липидного обмена: повышение уровня холестерина, триглицеридов, повышенная концентрация липопротеидов низкой плотности (ЛНП), липопротеидов очень низкой плотности (ЛОНП), снижение концентрации липопротеидов высокой плотности (ЛВП) и абдоминальное ожирение (ИМТ –  $30,8 \pm 1,6$  кг/м<sup>2</sup>), обхват талии –  $94,8 \pm 2,3$ ,  $M-105,7 \pm 2,9$  см).

Всем пациентам проведена трансплантация фетальных гемопоэтических и негемопоэтических стволовых клеток (СК) мезенхимального и эндодермального происхождения, полученных из ростковых зон внутренних органов трупов фетусов человека 4–8 нед. гестации.

После введения пациенты наблюдались на протяжении 1–5 лет. Через 1–2 мес. после трансплантации отмечали постепенное снижение артериального давления с дальнейшей его стабилизацией в течение последующих 2–3 месяцев –  $135-140/80-90$  мм рт. ст. на фоне снижения дозы гипотензивных препаратов у 83% пациентов. Тест на толерантность к глюкозе, проведенный через 7–9 мес. после лечения, показал улучшение углеводного обмена у пациентов с нару-