

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

**ОЦІНКА ВПЛИВУ СУПЕРНАТАНТУ ПРОГЕНІТОРНИХ НЕЙРОКЛІТИН ЩУРА НА ЕКСПРЕСІЮ АНТИГЕНІВ CD25 ТА CD95 КЛІТИНАМИ ГЛІОМ ЛЮДИНИ**

ЛЮБИЧ Л.Д.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім.акад.А.П.Ромоданова АМН України»

Актуальним залишається пошук новітніх лікувальних підходів для боротьби з гліомами – найбільш загальними первинними пухлинами мозку з несприятливим прогнозом життя пацієнтів. Як відомо, нейрогенні стовбурові клітини (НСК) володіють великим потенціалом міграції до місць патології у ЦНС [1,2]. При імплантації у хвору або уражену нервову систему НСК можуть долати велику відстань і вбудовуватись у місця уражень, інтегруватись у локальне нейральне оточення та стабільно експресувати гени, а завдяки плюрипотентності - заміщувати уражену тканину, запускаючи захист і регенерацію нервових шляхів реципієнта. Вказані характеристики НСК роблять їх ідеальними чинниками для генно-клітинної терапії різноманітних патологій ЦНС, особливо пухлин мозку [3]. Унікальна властивість тропності НСК до злоякісних пухлин мозку, їх здатність «знаходити» пухлинні клітини [4-6] під впливом мікрооточення [7], супроводжувана доставкою бажаних генних продуктів, робить НСК обнадійливим інструментом терапії пухлин мозку. Генетичні конструкції на основі НСК використовують для цільової доставки в пухлини цитолітичних вірусів, генів, що кодують протипухлинні цитокіни (IL-4, IL-12, IL-2, IL-23, GM-CSF, IFN- $\beta$ ); проапоптотичних генів (TRAIL, FASL), ферментів, які конвертують лікарські засоби в активну форму, різноманітних нейротрофічних факторів тощо [4-9].

Метою роботи було дослідити можливість впливу гуморальних факторів прогеніторних нейроклітин щура на експресію поверхневих антигенів CD25 (рецептор  $\alpha$ -ланцюга IL-2) та CD95 (FAS-рецептор) клітинами гліом людини *in vitro*.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**

Матеріалом слугували фрагменти пухлин головного мозку, видалених у хворих під час оперативного втручання (n=37). Згідно з міжнародною патоморфологічною класифікацією пухлин центральної нервової системи [10] при гістологічному дослідженні пухлин на нашому матеріалі діагностовано: 9 гліом 2 ступеня злоякісності, 16 гліом 3 ступеня злоякісності, 12 гліобластом.

*Отримання супернатанту прогеніторних нейроклітин щура (СНК).* Для отримання СНК використовували суспензію, виготовлену з тканини мозку щура 12-16 доби гестації (E12-16). Нативну тканину мозку у фізіологічному розчині

звільняли від оболонки, переносили в середовище DMEM (Sigma, Німеччина) і ресуспендували за допомогою шприца з товстою голкою. Життєздатність клітин у суспензії визначали у стандартному цитотоксичному тесті з 0,2% трипановим синім ("Merch", Німеччина) [11]. До отриманої клітинної суспензії (з концентрацією клітин  $6,0 \times 10^6$ /мл) додавали конканавалін А (0,10 мг/мл) та інкубували 2 год в  $CO_2$ -інкубаторі при температурі  $(37,0 \pm 0,5)^\circ C$ , постійній вологості 95% та 5%  $CO_2$ . Після інкубації клітини осаджували центрифугуванням протягом 5 хв при 1500 об/хв, відмивали у середовищі DMEM, ресуспендували, додавали свіже середовище DMEM і інкубували в тих же умовах протягом 24 год. Після інкубації клітини вторинно осаджували центрифугуванням протягом 5 хв при 1500 об/хв, відбирали супернатант, визначали в ньому концентрацію білка, стандартизували до концентрації 0,1 мг/мл, аліквотизували і зберігали при  $(-20 \pm 0,5)^\circ C$ .

*Вивчення дії СНК на клітини гліом *in vitro*.* Клітинні суспензії гліом отримували з пухлин (n=37), видалених у хворих під час оперативного втручання, шляхом суспендування за допомогою шприца з товстою голкою, потім клітини двічі відмивали забуференим фізрозчином (ЗФР) рН 7,2-7,4. Життєздатність клітин у суспензії визначали у стандартному цитотоксичному тесті з 0,2% трипановим синім ("Merch", Німеччина) [11]. СНК у концентрації 0,02 та 0,10 мг/мл додавали до суспензії свіжовиділених клітин із зразків пухлини та інкубували протягом 24 год.

*Визначення апоптичних клітин цитофлуориметричним методом за допомогою пропідіума йодиду (PI).* Використовували PI (0,05 мг/мл) і проводили дослідження та аналіз на проточному імуноцитофлуориметрі FACS Calibur (США) згідно рекомендацій [12]. Клітинні суспензії гліом людини аналізували перед початком та після інкубації з СНК та вираховували різницю показників ( $\Delta PI^+$  клітин, %).

*Дослідження експресії антигенів.* Експресію антигенів CD25 та CD-95 на клітинах визначали непрямим імунофлуоресцентним методом за допомогою моноклональних антитіл (ООО «Сорбент», Москва). Клітинні суспензії гліом людини аналізували перед початком та після інкубації з СНК та вираховували різницю показників ( $\Delta CD^+$ , %). Аналіз проводили на проточному іму-

ноцитофлуориметрі FACS Calibur (США) згідно рекомендацій [12].

Визначення експресії мРНК генів FASR та FASL. Експресію мРНК генів FASR та FASL визначали за допомогою методу RT-PCR. Для цього із суспензій клітин пухлини ( $5 \times 10^6$  клітин у пробі) виділяли РНК за допомогою набору "Trizol RNA Prep 100" (ООО "Лаборатория Изоген", Росія), переводили РНК (із розрахунку 1 мкг на пробу) у кДНК в реакції зворотної транскрипції («GenePack RT-PCR Core», ООО "Лаборатория Изоген", Росія). Чистоту отриманих препаратів РНК перевіряли за допомогою PCR із використанням праймерів, специфічних до гена  $\beta$ -актина людини, вносячи в реакцію РНК без попереднього етапу зворотної транскрипції (прямий 5'-AGGCCAACCGCGAGAAGATGAC-3', зворотний 5'-TCGGCCGTGGTGGTGAAGC-3'). При наявності домішки ДНК проводили її інактивацію за допомогою ДНКаз (DNase I, «Fermentas», Литва). PCR проводили з використанням кДНК, 0,2 мкМ праймерів (синтетичних олігонуклеотидів ("SYNTOL", Росія): FASR прямий 5'-AGACTGCGTGCCCTGCCAAG-3', зворотний 5'-AGAAGACAAAGCCACCCCAAGTTA-3'; FASL прямий 5'-CACCCTGCCTCCACTACCGCTG-3', зворотний 5'-CAGAGGCATGGACCTTGAGTTGAC-3') та набору реагентів «GenePack RT-PCR Core» (ООО «Лаборатория Изоген», Росія) протягом 40 циклів з параметрами: 95°C – 15с, 58-62°C – 20с, 72°C – 15с в ампліфікаторі "Терцик" ("ДНК-технология", Росія). Результати PCR аналізували за допомогою електрофорезу у 1,5% агарозному гелі з використанням спеціалізованої системи для обробки відеозображень "Biotest-A". Наявність мРНК вважали доведеним у тих зразках, у яких в результаті електрофорезу в 1,5% гелі спостерігалась світна смуга заданої довжини при відсутності такої смуги у негативному контролі. З метою стандартизації отриманих результатів

проводили RT-PCR з використанням праймерів, специфічних до гена  $\beta$ -актина людини, що експресується конститутивно. Кількісну обробку отриманих зображень проводили за допомогою програми "Biotest-A"; кількісне значення позитивної проби розраховували як світність даної проби, поділену на світність аналогічної проби амплікону  $\beta$ -актина, приймаючи останню за 1, та виражали в умовних одиницях (ум.од.).

Статистичну обробку даних проводили із використанням пакету статистичних програм "Statistica 5,0", достовірність різниці оцінювали із застосуванням t-критерію Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що у суспензіях свіжовиділених клітин гліом кількість CD25+клітин, що експресують рецептор  $\alpha$ -ланцюга IL-2, становила в середньому 22%; при цьому в суспензіях гліом 2 ступеня злоякісності їх кількість була дещо вищою (в середньому 29%), ніж у суспензіях гліом 3 та 4 ступеня злоякісності (20%)(табл.1). За умов впливу СНК в обох концентраціях через 24 год кількість CD25+клітин у суспензійних культурах гліом дещо зростала. При аналізі показників в залежності від ступеня злоякісності пухлини (табл.1) встановлено, що СНК щура у концентрації 0,02 мг/мл збільшував кількість CD25+ клітин у суспензійних культурах гліом 2 ступеня злоякісності (в середньому на 4,6%), тоді як у концентрації 0,10 мг/мл – зменшував (в середньому на 10%); обидві тестовані концентрації СНК збільшували кількість CD25+ клітин у суспензійних культурах гліом 3 і 4 ступеня злоякісності. Стосовно гліом 4 ступеня злоякісності зафіксована достовірна пропорційна залежність збільшення рівня CD25+клітин із зростанням концентрації СНК ( $p < 0,041$ ); крім того, в концентрації 0,10 мг/мл СНК достовірно підвищував відсоток CD25+клітин у суспензійних культурах гліобластом у порівнянні з культурами гліом 2 ступеня злоякісності ( $p < 0,031$ ).

Таблиця 1.

Вплив СНК на експресію CD25 клітинами пухлин головного мозку людини

Гістологічний тип гліом	Концентрація препарату, мг/мл	CD25+ , %		
		початковий показник	+ СНК	$\Delta$ , %
Гліоми (n=37)	0,02 мг	21,68+4,74	24,42+5,80	2,74+4,51
	0,10 мг		23,73+4,97	2,05+6,02
гліоми 2 ст.зл. (n=9)	0,02 мг	28,63+6,73	33,25+8,88	4,62+2,71
	0,10 мг		18,50+2,80	-10,13+4,52 *1
гліоми 3 ст.зл. (n=16)	0,02 мг	20,77+4,91	24,02+5,69	3,24+4,48
	0,10 мг		22,97+6,11	2,20+5,21
гліоми 4 ст.зл. (n=12)	0,02 мг	20,16+3,69	21,44+4,21	1,28+4,52 *2
	0,10 мг		25,86+3,71	5,70+5,23 *1*2

Примітка: \* - достовірність різниці між групами: \*<sub>1</sub> ( $p < 0,031$ ); \*<sub>1</sub> ( $p < 0,041$ ).

Таким чином, різноспрямованість впливу СНК щура на експресію рецептора  $\alpha$ -ланцюга IL-2 клітинами гліом людини дає нам змогу констатувати лише можливість такого впливу, але не надає підстав для його однозначного трактування.

СНК в обох досліджених концентраціях демонстрував тенденцію до незначного проапоптичного впливу: у присутності препарату кількість PI+ клітин в суспензійних культурах злоякісних гліом зростала в середньому на 2-7% (табл.2). Кількість CD95+клітин під впливом СНК суттєво не змінювалась. Як відомо, експресія CD95+ свідчить лише про готовність клітин до апоптозу, а барвник PI виявляє гіподиплоїдні клітини на термінальних стадіях апоптозу та некрозу з втратою частини ДНК [13].

Аналіз показників в залежності від гістологічного типу гліом виявив, що у суспензіях свіжовиділених клітин гліом кількість PI+ клітин пропорційно зменшувалась по мірі наростання ступеня злоякісності пухлини (табл.2): суспензії свіжовиділених клітин гліобластом містили достовірно меншу кількість PI+ клітин (клітин,

що перебувають на термінальних стадіях апоптозу), ніж суспензії свіжовиділених клітин гліом 2 ступеня злоякісності ( $p < 0,012$ ). Виявлену залежність можна пояснити відомими даними про те, що чим більш злоякісна пухлина, тим менше вона підлягає апоптозу завдяки численним механізмам уникання апоптозу [14]. Інший характер мав розподіл CD95+клітин: у суспензіях свіжовиділених клітин гліом 2 ступеня злоякісності кількість клітин, що експресують FAS-рецептор, становила 10%; цей показник збільшувався у суспензіях гліом 3 ступеня злоякісності (до 14,5%) та зменшувався у суспензіях гліобластом (до 7%), достовірно відрізняючись між групами гліом 3 та 4 ступеня злоякісності ( $p < 0,024$ ). Таким чином, гліобластоми містили найменшу кількість PI+ та CD95+клітин у порівнянні з гліомами 2 та 3 ступеня злоякісності, тоді як гліоми 2 ступеня злоякісності – найбільшу кількість клітин у термінальній стадії апоптозу, а гліоми 3 ступеня злоякісності – найбільшу кількість клітин із експресованим FAS-рецептором, тобто клітин у стані апоптичної готовності.

Таблиця 2.

**Оцінка впливу СНК на рівень апоптозу в пухлинних клітинах у хворих з гліомами різного ступеня анаплазії, %**

Гістологічний тип гліом	Концентрація препарату, мг/мл	PI+			CD95+		
		початково-вий показник	+ СНК	$\Delta$ , %	початково-вий показник	+ СНК	$\Delta$ , %
Гліоми (n=37)	0,02 мг	35,72+21,75	36,87+17,70	2,11+7,26	10,23+3,82	10,56+2,71	0,33+4,82
	0,10 мг		42,43+23,34	7,01+5,17		9,92+2,67	-0,31+4,48
гліоми 2 ст.зл. (n=9)	0,02 мг	56,19+11,54	60,33+7,07 <sup>*<sub>2,3</sub></sup>	2,77+6,86	10,02+1,32	10,92+3,74	0,90+4,73
	0,10 мг		53,38+13,53 <sup>*<sub>5</sub></sup>	-3,39+5,70		8,43+0,69	-1,58+2,01
гліоми 3 ступеня анаплазії (n=16)	0,02 мг	35,42+19,19	35,71+16,43 <sup>*<sub>3</sub></sup>	0,29+4,15	14,54+6,20 <sup>*<sub>6</sub></sup>	11,63+2,52	-2,91+8,25
	0,10 мг		49,95+25,58 <sup>*<sub>4</sub></sup>	12,61+11,46		10,33+1,89 <sup>*</sup>	-4,21+6,62 <sup>*</sup>
Гліобластоми (4 ступінь анаплазії) (n=12)	0,02 мг	24,66+14,32	30,22+11,79 <sup>*<sub>2</sub></sup>	5,56+6,63	7,07+1,39 <sup>*</sup>	9,98+2,20 <sup>^<sub>1</sub></sup>	2,92+2,34
	0,10 мг		27,17+14,46 <sup>*<sub>4,5</sub></sup>	2,11+7,26		10,12+3,78 <sup>^<sub>2</sub></sup>	3,06+3,12 <sup>*<sub>7</sub></sup>

Примітка: \* – достовірність різниці між групами: \*<sub>1</sub> ( $p < 0,012$ ); \*<sub>2</sub> ( $p < 0,011$ ); \*<sub>3</sub> ( $p < 0,025$ ); \*<sub>4</sub> ( $p < 0,022$ ); \*<sub>5</sub> ( $p < 0,026$ ); \*<sub>6</sub> ( $p < 0,024$ ); \*<sub>7</sub> ( $p < 0,026$ ); ^ – достовірність різниці у порівнянні з початковим показником: ^<sub>1</sub> ( $p < 0,05$ ); ^<sub>2</sub> ( $p < 0,01$ ).

За умов впливу СНК у концентрації 0,02 мг/мл у суспензійних культурах гліом 2 ступеня злоякісності дещо збільшувалась кількість PI+ клітин, достовірно перевищуючи цей показник у суспензійних культурах гліом 3 ступеня злоякісності та гліобластом ( $p < 0,025$  та  $p < 0,011$  відповідно); кількість CD95+клітин суттєво не

змінювалась. За умов впливу концентрації 0,10 мг/мл кількість PI+ та CD95+клітин у суспензійних культурах гліом 2 ступеня злоякісності дещо зменшувалась.

У суспензійних культурах гліом 3 ступеня злоякісності за умов впливу концентрації СНК 0,02 мг/мл кількість PI+ клітин не змінювалась, а част-

ка CD95+клітин дещо зменшувалась. За умов впливу концентрації препарату 0,10 мг/мл кіль-

кість PI+клітин у культурах зростала на 12%; тоді як кількість CD95+клітин зменшувалась (на 4%).

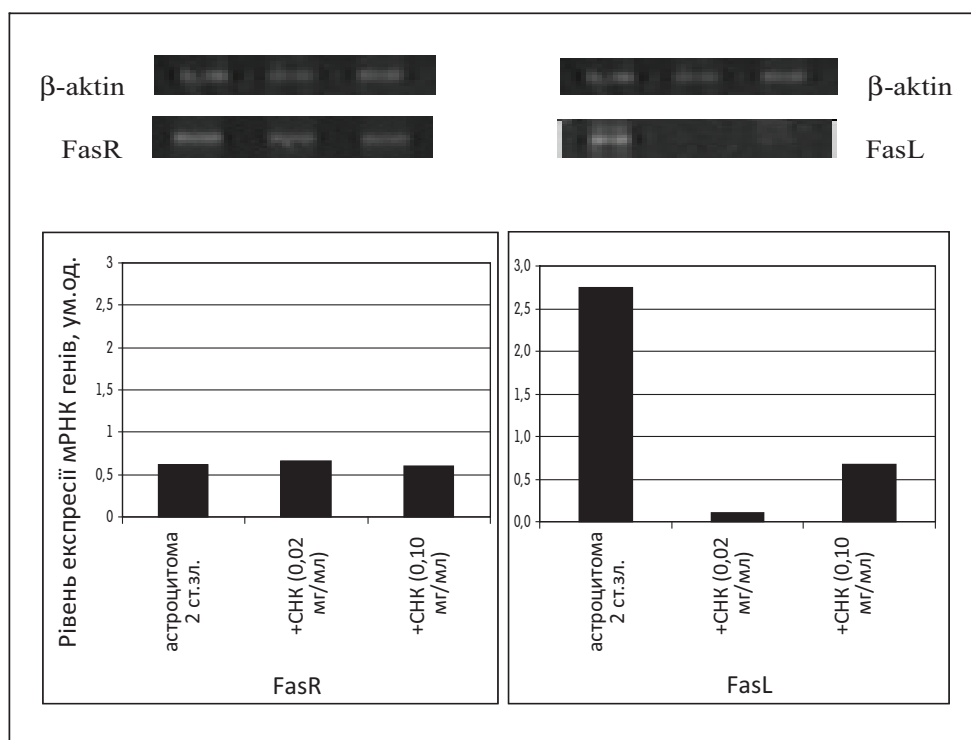


Рис. 1. Напівкількісний ЗТ-ПЛР-аналіз експресії мРНК FasR і FasL у клітинах астроцитому 2 ступеня злоякості за умов впливу CHK

У суспензійних культурах гліобластом за умов впливу обох досліджених концентрацій CHK збільшувалась кількість PI+клітин (в середньому на 6% та 2% відповідно) та достовірно зростала частка CD95+клітин ( $p < 0,05$  та  $p < 0,01$  відповідно при концентраціях 0,02 та 0,10 мг/мл). При цьому кількість PI+клітин у суспензійних культурах гліобластом після інкубації з CHK в концентрації 0,10 мг/мл залишалась достовірно меншою, ніж у суспензійних культурах гліом 2 та 3 ступеня злоякості ( $p < 0,026$  та  $p < 0,022$  відповідно).

Крім того, при дослідженні впливу CHK на експресію мРНК FasR та FasL у клітинах пухлин головного мозку методом RT-PCR (рис.1) в 3 зразках зафіксовано зміну експресії мРНК. В 1 випадку (зразок астроцитому 2 ступеня злоякості) – знижувалась експресія FasL; у 2 випадках (зразки гліобластом) – підвищувалась експресія FasR, що може бути ілюстрацією проапоптотичного впливу CHK на клітини гліом.

Таким чином, під впливом CHK зростала кількість клітин у термінальній стадії апоптозу (PI+) у суспензійних культурах анапластичних астроцитом (при дії концентрації 0,10 мг/мл) та гліобластом, а також кількість CD95+ клітин (що несуть FAS-рецептор апоптозу) у суспензійних культурах гліобластом, що, на нашу думку, може роз-

цінюватись як показник позитивного проапоптотичного впливу препарату. Можна припустити, що в певній частині клітин пухлин CHK запускав реалізацію механізмів апоптичної загибелі (кількість апоптичних PI+клітин зростала в середньому на 2-3%). Можливо також, що вплив CHK на клітини гліом реалізується не тільки за участю CD95/CD95L- системи, але також із залученням інших сигнальних шляхів апоптозу: рецепторно-незалежних (сигнальні шляхи активації каспази 9) і рецепторно-залежних (при активації інших рецепторів “регіона клітинної смерті” TNFR1, CAR1, DR3, DR4, DR5, p75-NGF та ін.).

Передумовою такого впливу, можливо, є здатність ембріональних та прогеніторних нейроклітин до продукції розчинних факторів з протипухлинною дією. Зокрема, відомо, що мультипотентні нейральні прогеніторні клітини людини, щура і миші експресують як прозапальні, так і супресорні цитокіни (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, TNF- $\alpha$ ) [15], продукують TNF- $\alpha$ , IL-6, всі ізоформи TGF- $\beta$  [16]. Не виключено, що крім названих, у активну діючу фракцію CHK входять також інші молекули з протипухлинною цитотоксичною дією, зокрема, лейкемія-інгібуючий фактор (LIF) [17], що реалізує свою дію через регуляторний LIF/JAK/STAT сигнальний шлях.

## ВИСНОВКИ

ЧНК шура продемонстрував тенденцію до збільшення кількості клітин у термінальній стадії апоптозу (PI+) у суспензійних культурах анапластичних астроцитом та гліобластом, а також кількості CD95+ клітин (що несуть FAS-рецептор апоптозу) у суспензійних культурах гліобластом.

**Подяка:** Автор висловлює щиру вдячність лікарю-нейрохірургу, д.мед.н. Главацькому О.Я. за люб'язно надані для дослідження зразки пухлин мозку.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Mueller F.J., McKercher S.R., Imitola J., Loring J.F., Yip S., Khoury S.J., Snyder E.Y.* At the interface of the immune system and the nervous system: how neuroinflammation modulates the fate of neural progenitors in vivo // *Ernst Schering Res. Found Workshop.* - 2005.-(53).- P.83-114.
2. *Schmidt N.O., Koeder D., Messing M., Mueller F.J., Aboody K.S., Kim S.U., Black P.M., Carroll R.S., Westphal M., Lamszus K.* Vascular endothelial growth factor-stimulated cerebral microvascular endothelial cells mediate the recruitment of neural stem cells to the neurovascular niche // *Brain Res.* 2009;1268:24-37.
3. *Yip S., Shah K.* Stem-cell based therapies for brain tumors. *Curr Opin Mol Ther.* 2008, 10(4):334-42.
4. *Kim S.U.* Neural stem cell-based gene therapy for brain tumors // *Stem Cell Rev.* 2011;7(1): 130-40.
5. *Ito S., Natsume A., Shimato S., Ohno M., Kato T., Chansakul P., Wakabayashi T., Kim S.U.* Human neural stem cells transduced with IFN-beta and cytosine deaminase genes intensify bystander effect in experimental glioma // *Cancer Gene Ther.* 2010;17(5):299-306.
6. *Kim J.H., Lee J.E., Kim S.U., Cho K.G.* Stereological analysis on migration of human neural stem cells in the brain of rats bearing glioma // *Neurosurgery.* 2010;66(2):333-42.
7. *Gutova M., Najbauer J., Frank R.* uPA and uPAR Mediate Human Stem Cell Tropism to Malignant Solid Tumors. *Stem Cells Express*, published online April 10, 2008.
8. *Aboody K.S., Najbauer J., Danks M.K.* Stem and progenitor cell-mediated tumor selective gene therapy // *Gene Ther.* 2008, 15(10):739-52.
9. *Shah K., Bureau E., Kim D.E., Yang K., Tang Y., Weissleder R., Breakefield X.O.* Glioma therapy and real-time imaging of neural precursor cell migration and tumor regression // *Ann Neurol.* - 2005.-Vol.57(1).-P.34-41.
10. *Kleihouse P., Cavanee W.K.* World Health Organisation Classifications of tumors: tumors of the nervous system – pathology and genetics.-Lyon, France: IARC Press, 2000 // Цитовано по: Стандарты, рекомендации и опции в лечении глиальных опухолей головного мозга у взрослых.-М., 2005.-30 с.
11. Руководство по культивированию нервной ткани. Методы. Техника. Проблемы / В.П.Божкова, Л.А.Брежестовский, В.М.Буравлев и др.- М.:Наука, 1988.-318 с.
12. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека / Пособие для врачей-лаборантов // Сост.:Пинегин Б.В. и др.-М., 2001.- С.48-53.
13. *Циклаури М.В.* Нарушение функции иммунной системы и апоптоза лимфоцитов при травме и осложнений стафилококком / М.В.Циклаури, Н.В.Гогебашвили // *Імунологія та алергологія.* – 2003. – №4.– С.37-38.
14. *Лисяний Н.И.* Иммунология и иммунотерапия злокачественных глиом головного мозга.- Киев: "Интерсервис".-2011.-239с.
15. *Klassen H.J., Imfeld K.L., Kirov I.I., Tai L, Gage FH, Young MJ, Berman MA.* Expression of cytokines by multipotent neural progenitor cells // *Cytokine.*-2003.-22(3-4).-P.101-106.
16. *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 Всероссийской конференции «Нейроиммунология», «Нейроимидж» и научно-практ. конференции неврологов, г.Санкт-Петербург, 2007.- Нейроиммунология.-2007.-Т.5, № 2.- С.47-48.*
17. *Chen H.C., Ma H.I., Sytwu H.K., Wang H.W., Chen C.C., Liu S.C., Chen C.H., Chen H.K., Wang C.H.* Neural stem cells secrete factors that promote auditory cell proliferation via a leukemia inhibitory factor signaling pathway // *J.Neurosci Res.* 2010; 88(15):3308-18.

РЕЗЮМЕ

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СУПЕРНАТАНТА  
ПРОГЕНИТОРНЫХ НЕЙРОКЛЕТОК КРЫСЫ  
НА ЭКСПРЕССИЮ АНТИГЕНОВ CD25 И CD95  
КЛЕТКАМИ ГЛИОМ ЧЕЛОВЕКА**

*Любич Л.Д.*

ДУ «Институт нейрохирургии им.акад.А.П.Ромоданова  
НАМН Украины»

Цель работы - исследовать возможность влияния супернатанта прогениторных нейроклеток (СНК) крысы на экспрессию поверхностных антигенов CD25 и CD95 клетками глиом человека *in vitro*. Материалом служили фрагменты опухолей головного мозга, удаленных у больных во время оперативного вмешательства (n=37).

СНК крысы продемонстрировал тенденцию к увеличению количества клеток в терминальной стадии апоптоза (PI+) в суспензионных культурах анапластических астроцитом и глиобластом, а также количества CD95+ клеток (несущих FAS-рецептор апоптоза) в суспензионных культурах глиобластом.

**Ключевые слова:** прогениторные нейроклетки крысы, супернатант, глиомы, CD25, CD95.

SUMMARY

**EVALUATION OF RAT PROGENITOR NEURAL CELLS  
SUPERNATANT ACTION ON EXPRESSION OF CD25  
AND CD95 BY HUMAN GLIOMA CELLS**

*Lyubich L.D.*

SI «Acad.A.P.Romodanov Institute of Neurosurgery  
Nat.Acad.Med.Sci. of Ukraine», Kyiv

Purpose of paper – to study the possibility of rat progenitor neurocell (E12-16) supernatant (RPNS) action on the surface antigens CD25 and CD95 expression by cells of human glioma *in vitro*. The material were the samples of brain tumors, removed in patients during an operations. RPNS demonstrated tendency to the increase of amount of cells in terminal stage of apoptosis (PI+) in suspension cultures of anaplastic astrocytoma and glioblastoma as well as CD95+cell (bearing the FAS-receptor of apoptosis) amount in suspension cultures of glioblastoma.

**Key words:** rat progenitor neurocells, supernatant, glioma, CD25, CD95.

**ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ И ПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА МЕЗЕНХИМЫ  
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

*I.C.RA, KANG S.K., SHIN S.*

21 век характеризуется интенсивным изучением эффективности новых методов лечения целого ряда incurable заболеваний, таких как инфаркт миокарда, аутоиммунная патология, онкология. Среди этих новых методов лечения особое место занимает клеточная терапия. способная восстанавливать или регенерировать ткани, подвергшиеся изменениям вследствие возраста или болезней. В частности, большое внимание уделяется мезенхимальным стволовым клеткам (МСК), которые усиленно изучаются и уже апробированы при этих видах заболеваний (1-3). Однако, отсутствие оптимальных клинических протоколов как получения и стандартизации этих клеток, так и их методов применения являются существенным тормозом к широкому клиническому их применению. Остаются также до конца не изучены многие вопросы, такие как происхождение и пролиферативная активность МСК, их регенеративный потенциал, антигенность МСК, состояние органа или ткани, на который направлена клеточная терапия МСК, и т.д. (Sang (0)

Физиологическая роль МСК связывается с их локализацией в синусоидальных кровяных сосудах взрослого костного мозга и осуществлении контроля между периферией и костным мозгом – это своеобразный «хранитель ворот» костного мозга, поддерживающий гомеостаз в костном мозге.

При трансплантации МСК они оказывают эти и другие иммунопатологические функции в зависимости от микроокружения и экспрессии своих антигенов и поверхностных молекул.

Среди этого многообразия вопросов, которые предстоит решить, большое внимание уделяется МСК, полученных из жировой ткани, так называемым жировым мезенхимальным стволовым клеткам (ЖМСК), которые более доступны для получения чем костномозговые МСК и уже имеется ряд протоколов их получения. (4). Как известно, МСК, в том числе ЖМСК, способны к самоподдерживанию, а также к дифференциации в различные типы тканей мезенхимального и другого происхождения, включая остеоциты, хондрициты, гепатоциты, адипоциты, нейро-