

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

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

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

ДУ "Інститут нейрохірургії ім.акад.А.П.Ромоданова НАМН України" (вул.Платона Майбороди, 32, Київ, 04050, Україна)

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ СУПЕРНАТАНТУ ПРОГЕНІТОРНИХ НЕЙРОКЛІТИН ЩУРА НА КЛІТИНИ КУЛЬТИВОВАНИХ ГЛІОМ ЛЮДИНИ

Резюме. Мета роботи полягала в оцінці впливу супернатанту прогеніторних нейроклітин (СНК) щура 12-16 доби гестації (Е12-16) на клітини гліом людини у короткострокових та довгострокових первинних культурах. Встановлено, що СНК цитотоксично впливав на 56-73% зразків гліом людини (ЦІ 30-34%). Цитотоксичний вплив СНК посилювався зі збільшенням концентрації від 0,02 до 0,10 мг/мл. Після інкубації з СНК в первинних культурах гліом людини спостерігались ознаки дозозалежного цитотоксичного впливу (ретракція і розрідження зони росту, дистрофія, некробіоз пухлинних клітин, достовірне зниження мітотичного індексу), що посилювались при подовженні тривалості інкубації.

Ключові слова: прогеніторні нейроклітини щура, супернатант, гліоми людини, цитотоксичний індекс.

Вступ

Гліоми - первинні пухлини мозку, що характеризуються інфільтративним ростом та резистентністю до лікування. Новітні лікувальні підходи для боротьби з гліомами засновані на використанні здатності нейрогенних стовбурових та прогеніторних клітин (НСК та НПК) мігрувати до місць патології у ЦНС, інтегруватись у локальне нейральне оточення та стабільно експресувати гени, заміщуючи уражену тканину і запускаючи регенерацію ЦНС [Ito et al., 2010; Kim et al., 2010; Kim, 2011; Ahmed et al., 2012; Bovenberg et al., 2013]. Через унікальну тропність до пухлинних клітин генетичні конструкції на основі НСК використовують для цільової доставки в пухлини цитолітичних вірусів, генів, що кодують проти-пухлинні цитокіни (IL-4, IL-12, IL-2, IL-23, GM-CSF, IFN- β); проапоптотичних генів (TRAIL, FASL), ферментів, які конвертують лікарські засоби в активну форму, нейротрофічних факторів [Ito et al., 2010; Kim et al., 2010; Kim, 2011; Ahmed et al., 2012; Bovenberg et al., 2013].

Застереженням у цьому плані є можливість ризику онкогенної трансформації НСК: існування СК пухлин мозку, які мають характерні особливості, схожі з НСК, свідчить на користь гіпотези клонального походження ряду пухлин головного мозку з НСК/НПК [Лисяний, Лисяний, 2011; Achanta et al., 2010]. Раніше нами показано протипухлинні властивості НПК щура *in vivo* на експериментальній моделі гліоми 101.8A у щурів [Лисяний та ін., 2008].

Ризику онкогенної трансформації, на наш погляд, можна уникнути, якщо використовувати не самі НСК безпосередньо, а речовини, отримані з них. Метою роботи було дослідити протипухлинні властивості гуморальних факторів НПК щура стосовно клітин гліом людини *in vitro*.

Матеріали та методи

Матеріалом для культивування слугували фрагменти пухлин головного мозку, видалених у хворих під час оперативного втручання (n=37). При гістологічній верифікації [Kleihouse, Savanee-Lyon, 2000] зразків пухлин згідно з міжнародною патоморфологічною класифікацією пухлин центральної нервової системи діагностовано: 9 гліом 2 ступеня злоякісності (ст.зл.), 16 гліом 3

ст.зл., 12 гліобластом (4 ст.зл.).

Супернатант нейроклітин (СНК) отримували із суспензії, виготовленої з цільної тканини мозку щура на 12-16 добу гестації (Е12-16) [Лисяний та ін., 2008]. 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 ("Merck", Німеччина) [Божкова и др., 1988]. 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 CO₂-інкубаторі при температурі (37,0 \pm 0,5) °C, постійній вологості 95% та 5% CO₂. Після інкубації клітини осаджували центрифугуванням протягом 5 хв при 1500 об/хв, відмивали у середовищі DMEM, до осаду клітин додавали свіже середовище DMEM, ресуспендували та інкубували в тих же умовах протягом 24 год. Після інкубації клітини повторно осаджували центрифугуванням протягом 5 хв. при 1500 об/хв., відбирали супернатант, визначали у ньому концентрацію білка, стандартизували до концентрації 0,1 мг/мл, аліквотизували і зберігали при (-20 \pm 0,5) °C.

Склад отриманого препарату СНК досліджували за допомогою електрофорезу у 1,5% ПААГ [Остерман, 2002]. За даними електрофореграми, препарат СНК містив дві основні переважаючі фракції білків: 67 кДа - 55%; 46 кДа - 44%.

Отримання суспензій свіжовиділених клітин пухлин. Тканину пухлини поміщали в середовище DMEM ("Sigma", Німеччина), подрібнювали мікроножицями і ресуспендували за допомогою шприца з товстою голкою. Клітини осаджували центрифугуванням протягом 5 хв. при 1500 об/хв., відмивали у середовищі DMEM, до осаду клітин додавали свіже середовище DMEM та ресуспендували.

Життєздатність клітин у суспензіях визначали за проникністю плазматичної мембрани для 0,2% трипанового синього ("Merck", Німеччина) [Божкова и др., 1988].

Вивчення дії СНК у короткострокових культурах гліом. СНК (0,02, 0,10 мг/мл) додавали до суспензії свіжовиділених клітин із зразків пухлин та інкубували 24 год в

CO₂-інкубаторі при температурі (37,0±0,5)°C, постійній вологості 95% та 5% CO₂. У суспензіях визначали кількість життєздатних клітин до та після інкубації.

Цитотоксичну дію СНК оцінювали за цитотоксичним індексом (ЦІ):

$$ЦІ = \frac{ЖКп - ЖКп_{\pm СНК}}{ЖКп} \cdot 100\%,$$

де ЖКп - кількість життєздатних клітин у початковій суспензії, ЖКп_{±снк} - кількість жит. клітин у суспензії після інкубації з СНК.

Первинні культури з пухлин головного мозку отримували за протоколом [Божкова и др., 1988]. Тканину пухлини звільняли від судин та оболонок, подрібнювали мікроножицями в середовищі DMEM і механічно дисоціювали багатократним піпетуванням. Клітини в кількості 1x10⁶ наносили на покривні адгезивні скельця, покриті поліетиленіміном ("Sigma", Німеччина), які поміщали у чашки Петрі. Культивування проводили в чашках Петрі в середовищі 199 і DMEM (1:1) з додаванням 10% ембріональної телячої сироватки, 400 мг/мл глюкози та 0,2 од/мл інсуліну. Культури пухлин тримали в CO₂-інкубаторі (37°C, 95% вологості та 5% CO₂) та при життєво спостерігали в інвертованому мікроскопі (Биолам П-3, ЛОМО, С.-Петербург).

Вивчення дії СНК у первинних культурах з пухлин головного мозку. Відбирали культури з рівномірною зоною росту, додавали СНК (0,02, 0,10 мг/мл) та інкубували протягом 24 та 48 год. Для кожного зразка пухлини аналізували контрольну культуру (без додавання СНК) та культури після 24 та 48 год інкубації з СНК (0,02, 0,10 мг/мл). Для гістологічного дослідження культури фіксували 10% формаліном і фарбували гематоксиліном Караччі.

У гістологічних препаратах культур аналізували частоту мітотичних поділів пухлинних клітин з оцінкою патології мітозів і визначенням мітотичного індексу (МІ). Підрахунок мітозів проводили в 3-х спостереженнях культур кожного зразка в 10 випадково вибраних полях зору мікроскопу (x400), виведених на монітор цитоаналізатора зображення IBAS-2000 (Німеччина). У кожному препараті підраховували не менше 1000 клітин.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету статистичних програм "Statistica 6,0", достовірність різниці оцінювали із застосуванням t-критерію Стьюдента.

Результати. Обговорення

Вивчення впливу СНК у короткострокових культурах гліом. Зі збільшенням концентрації СНК щура з 0,02 до 0,10 мг/мл зростав відсоток зразків гліом людини, на які СНК впливав цитотоксично, з 56,8% до 72,9% відповідно (табл. 1). Дозозалежно збільшувався відсоток зразків з ЦІ₂₅ та ЦІ₅₀. В той же час достовірних дозозалежних відмінностей між середніми показниками ЦІ не виявлено (ЦІ становив 30 - 34%).

Значними виявилися індивідуальні відмінності у досліджених зразках пухлин людини: розмах коливань ЦІ становив (5,3 - 69,0)%. На частину зразків СНК не чинив цитотоксичної дії: частка культур клітин гліом з відсутністю ефекту складала 43,2% при тестуванні концентрації препарату 0,02 мг/мл та 27,1% - при 0,10 мг/мл відповідно.

У культурах гліом 2 ст.зл. із збільшенням концентрації СНК від 0,02 до 0,10 мг/мл ЦІ достовірно зростав з 9,80% до 30,79% (p<0,0046) (табл. 1). Найбільш значущий цитотоксичний вплив СНК щура отримано стосовно гліом 3 ст. зл.: препарат виявляв цитотоксичну дію на 75 - 81% досліджених зразків, ЦІ складав 33 - 38%. Концентрація СНК 0,02 мг/мл виявила достовірно вищий цитотоксичний вплив на клітини гліом 3 ст.зл., ніж на клітини гліом 2 ст.зл. (p<0,00067). У культурах гліобластом препарат виявляв цитотоксичну дію на 50,0 - 66,7% досліджених зразків, цитотоксичний ефект мав тенденцію до зростання із збільшенням концентрації СНК; 33,3% досліджених культур гліобластом виявились нечутливими до впливу СНК.

Отже, виявлена тенденція до посилення цитотоксичного впливу СНК із збільшенням концентрації від 0,02 до 0,10 мг/мл. СНК щура (0,10 мг/мл) демонстрував протипухлинні властивості in vitro стосовно 72,9% досліджених зразків гліом людини, цитолітично впливаю-

Таблиця 1. Показники впливу СНК щура (E12-16) на клітини гліом людини в короткострокових культурах.

Гістологічний тип	Концентрація препарату, мг/мл	ЦІ, %				
		Середній показник (M±m)	% зразків з цитотоксичним ефектом	% зразків з ЦІ ₂₅	% зразків з ЦІ ₅₀	% зразків з відсутністю ефекту
Гліоми людини (n=37)	0,02 мг	30,06±14,68	56,8	24,3	8,1	43,2
	0,10 мг	34,30±11,60	72,9	48,6	13,5	27,1
Гліоми 2 ст. зл. (n=9)	0,02 мг	9,80±3,40 *1,2	66,7	-	-	33,3
	0,10 мг	30,79±10,94 *1	77,8	44,4	11,1	22,2
Гліоми 3 ст. зл. (n=16)	0,02 мг	33,40±5,60 *2	75,0	56,3	18,8	25,0
	0,10 мг	38,30±13,49	81,3	62,5	18,8	18,8
Гліоми 4 ст. зл. (n=12)	0,02 мг	25,00±9,70	50,0	25,0	8,3	50,0
	0,10 мг	35,20±15,15	66,7	41,7	8,3	33,3

Примітки: * - достовірність різниці між групами: *1 (p<0,0046); *2 (p<0,00067).

Таблиця 2. Динаміка зміни мітотичного індексу (MI) у первинних культурах гліом людини за умов впливу СНК щура (E12-16).

Гістологічний тип гліом	Контроль	Концентрація препарату, мг/мл			
		0,02		0,10	
		24 год	48 год	24 год	48 год
Гліоми 3 ст. зл. (n=16)	2,43±0,09* _{1,2,3,12}	1,90±0,23	1,82±0,06* _{1,4}	1,78±0,08* _{2,5}	1,22±0,09* _{3,4,5}
Гліоми 4 ст. зл. (n=12)	3,84±0,08* _{6,7,8,9,12}	1,91±0,14* _{6,10,11}	0,73±0,10* _{7,10}	1,08±0,15* _{8,11}	0,28±0,04* ₉

Примітки: * - достовірність різниці між групами: *_{4'} *_{5'} *₆ (p<0,05); *_{1'} *_{2'} *_{3'} *_{7'} *_{8'} *_{9'} *_{10'} *_{11'} *₁₂ (p<0,01).

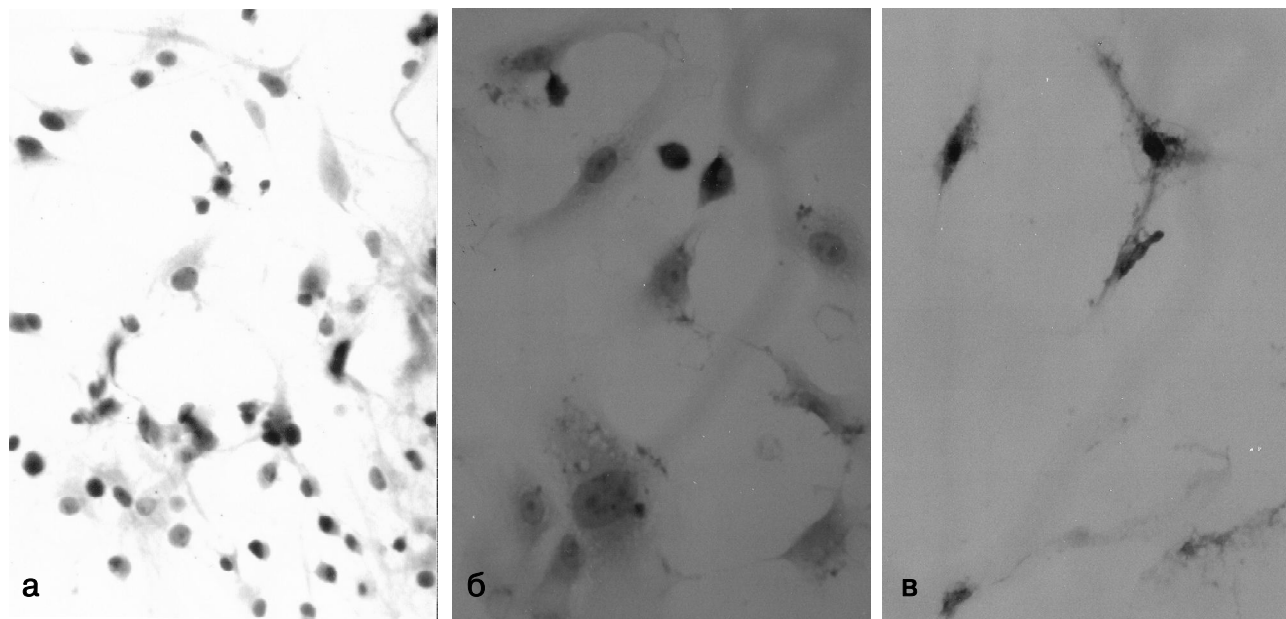


Рис. 1. Культура анапластичної астроцитоми 2 ст. зл. 14 доба культивування. Фарбування гематоксилином Караччі. Х400. а - контроль; б - після інкубації з СНК (0,02 мг/мл) 24 год.; в - після інкубації з СНК (0,10 мг/мл) 48 год.

чи на 30 - 38% клітин гліом у короткострокових суспензійних культурах. Найбільш значущий цитотоксичний вплив СНК щура мав стосовно гліом 3 ст.зл., дещо менший - стосовно гліом 2 ст.зл. та гліобластом. Очевидно, це пояснюється надзвичайно великою гетерогенністю гліом людини за гістобіологічними ознаками [Лисяний, 2011].

Вивчення впливу СНК у первинних довгострокових культурах гліом людини. Прижиттєві спостереження культивованих гліом та їх вивчення на гістологічних препаратах показало, що в цих умовах відтворюються гістотипові ознаки росту, характерні для гістоструктури цих пухлин *in vivo*. На стадії сформованої зони росту культур (8-10 діб) спостерігали розрощування фенотипово характерних гліальних пухлинних клітин різного ступеня анаплазії.

На 3-5 добу культивування в зоні росту астроцитом 2 ст. зл. переважали сіткоподібні розрощення пухлинних астроцитів трикутної або біполярної форми з довгими відростками. На 12-15 добу зона росту культур значно розширювалася і набувала характерних ознак диференційованого астрогліального росту фібрилярних та протоплазматичних пухлинних астроцитів при відсут-

ності клітин у стані мітотичного ділення (рис. 1а), що відображає повільний ріст цих пухлин в умовах культивування.

В культурах анапластичних астроцитом 3 ст. зл. переважали моношарові розрощення низькодиференційованих пухлинних гліоцитів з наявністю патологічних мітозів (MI складав 2,43±0,09%) (табл. 2).

Зона росту культивованих гліобластом відрізнялася значною щільністю та клітинним поліморфізмом з наявністю атипичних одноядерних та багатоядерних форм і чисельних патологічних мітозів (рис. 2а, 3а). Виявлялись такі патологічні типи мітотичного поділу, як: моноцентрична метафаза, відщеплення хромосом або їх розсіювання в метафазі, порожниста метафаза (К-мітоз). Показник мітотичної активності пухлинних клітин (MI=3,84±0,08%) перевищував аналогічний показник в культурах анапластичних астроцитом. Наявність підвищеного вмісту клітин, що діляться, в культурах гліобластом відображає прискорену проліферацію цих пухлин відповідно до їх гістоструктури та гістобіологічних властивостей *in vivo*.

В дослідних культурах астроцитом 2 ст. зл. 24-год інкубація з СНК (0,02 мг/мл) викликала значне розрід-

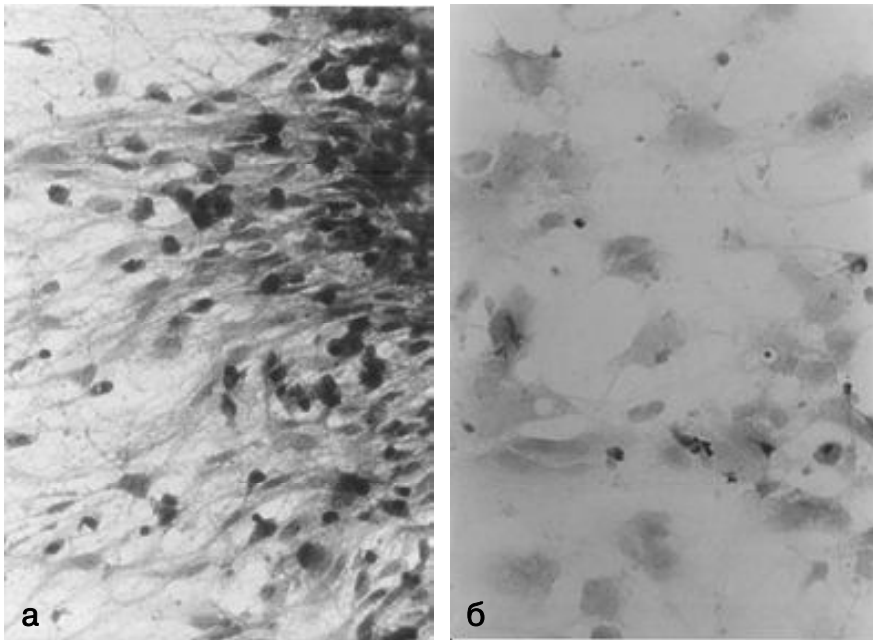


Рис. 2. Культура гліобластоми. 9 доба культивування. Забарвлення гематоксилином Караччі. Х400. а - контроль, б - після інкубації з СНК (0,02 мг/мл) 24 год.

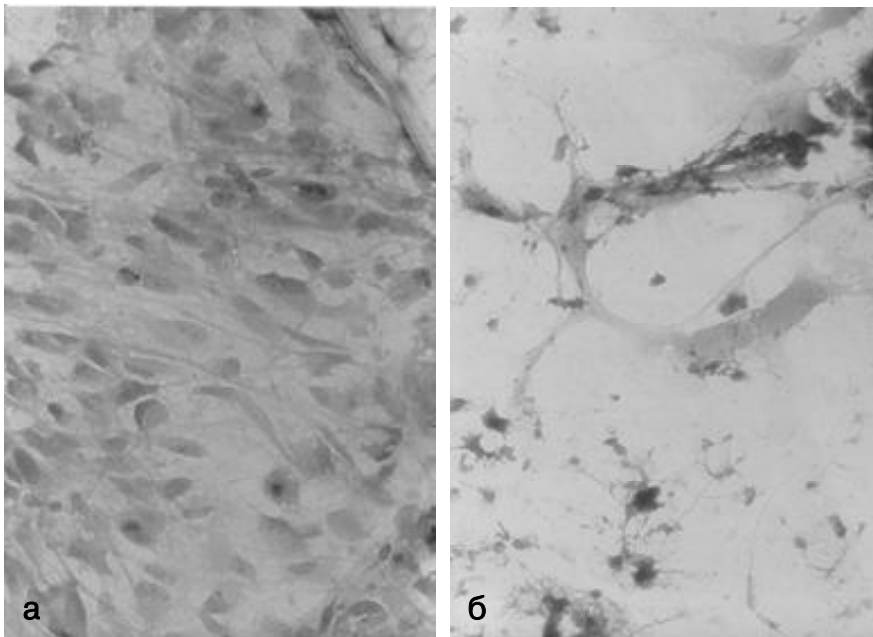


Рис. 3. Культура гліобластоми. 14 доба культивування. Забарвлення гематоксилином Караччі. Х400. а - контроль, б - після інкубації з СНК (0,10 мг/мл) 48 год.

ження клітинних моношарових розрощень за рахунок деструкції значної частки клітин з подальшою їх десквамацією (рис. 1б). Збільшення концентрації СНК (0,1 мг/мл) та тривалості інкубації до 48 год індувало ще більше спустошення зони росту культур за рахунок відшарування загиблих клітин (рис. 1в).

В дослідних культурах анапластичних астроцитом 3 ст. зл. за умов впливу СНК (0,02 мг/мл) через 24 год в моношарових ділянках зони росту культур відбувалась десквамація дистрофованих пухлинних клітин. У збе-

режених ділянках зони росту виявлялись фігури мітотичного поділу, середній МІ знизився до $(1,90 \pm 0,23)\%$. Збільшення концентрації СНК (0,1 мг/мл) за умов такої ж тривалості інкубації індувало нарощування вмісту пошкоджених пухлинних клітин, МІ складав $(1,78 \pm 0,08\%)$. Із зростанням тривалості інкубації цих культур з СНК (0,1 мг/мл) до 48 год зменшувалась мітотична активність клітин (МІ складав $1,22 \pm 0,09\%$).

У культурах гліобластом, інкубованих з СНК (0,02 мг/мл) протягом 24 год, деструктивний ефект дії препарату проявлявся значним розрідженням та фрагментацією зони росту з появою змінених клітин у стані розпаду цитоплазми та ядер (рис. 2б), мітотична активність зменшувалась (МІ складав $1,91 \pm 0,14\%$). Зі зростанням тривалості інкубації культивованих гліобластом з СНК (0,02 мг/мл) до 48 год частка пошкоджених клітин наростала, МІ зменшувався до $(0,73\% \pm 0,10)$. При збільшенні концентрації СНК (0,1 мг/мл) та тривалості інкубації до 48 год виникали поширені зони спустошення внаслідок десквамації загиблих клітин, збільшувалась частка клітин з редукцією відростків у стані дистрофії і некробіозу (рис. 3б). На підлощі залишались збереженими лише невеликі комплекси пухлинних клітин з одиничними мітозами (МІ складав $0,28 \pm 0,04\%$).

Отже, після інкубації первинних культур гліом різного ступеня анаплазії з СНК спостерігаються ознаки дозозалежного цитотоксичного впливу препарату, який індукує дистрофічні та некробіотичні зміни у переважній частині пухлинних клітин

з порушенням загальної структури клітинної зони росту, що посилюються при подовженні тривалості інкубації до 48 год. У культурах гліом величина МІ поступово знижується зі збільшенням концентрації СНК та тривалості інкубації культур з препаратом. В культурах гліобластом спостерігається більш значуще (статистично достовірне у порівнянні з контролем, $p < 0,05$) зменшення МІ.

Підсумовуючи отримані результати, можна стверджувати, що СНК фетального мозку щура проявляє цитотоксичну дію як в умовах короткотермінових, так і

первинних довгострокових культур гліом головного мозку різного ступеня анаплазії. Ми вважаємо, що такі властивості обумовлені здатністю НСК та НПК до продукції розчинних факторів з протипухлинною дією. Зокрема, показано, що мультипотентні НПК людини, щура і миші експресують як прозапальні, так і супресорні цитокіни (IL-1 α , IL-1 β , TGF- β 1, TGF- β 2, TNF- α), продукують TNF- α ; IL-6, IL-10, TGF- β 1, TGF- β 2 [Klassen et al., 2013; Liu et al., 2013]. Не виключено, що крім названих, у активну дію фракцію СНК входять також інші молекули з протипухлинною цитотоксичною дією. Заданими [Chen et al., 2010], супернатант від НСК містив підвищені рівні LIF, який залучається у регуляторний LIF/JAK/STAT сигнальний шлях.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. СНК щура (E12-16), що являє собою суміш пере-

важаючих фракцій з молекулярною масою 46 та 67 кДа, виявив цитотоксичні властивості стосовно клітин гліом людини *in vitro*.

2. Цитотоксичний вплив СНК посилювався зі збільшенням концентрації від 0,02 до 0,10 мг/мл: ЦІ досягав, у середньому, 30-38% у 72,9% досліджених зразків гліом людини.

3. Після інкубації з СНК щура (E12-16) у первинних культурах гліом людини спостерігаються ознаки дозозалежного цитотоксичного та антипроліферативного впливу (ретракція і розрідження зони росту, дистрофія, некробіоз пухлинних клітин, достовірне зниження мітотичного індексу), котрі посилюються при подовженні тривалості інкубації до 48 год.

Отримані результати дають можливість стверджувати, що препарат СНК можна рекомендувати для подальшого дослідження з метою встановлення механізмів протипухлинної та антипроліферативної дії.

Список літератури

- Лисяний Н.И. Иммунология и иммунотерапия злокачественных глиом головного мозга /Лисяний Н.И.- Киев: "Интерсервис".- 2011.- 239с.
- Лисяний Н.И. Стволовые клетки злокачественных глиом и их взаимодействия с клеточным окружением ткани мозга /Н.И.Лисяний, А.Н.Лисяний //Укр. нейрохірургічний журнал.- 2011.- №2.- С.9-14.
- Лісяний М.І. Дослідження протипухлинної дії прогеніторних нейроклітин (НСК) при експериментальній гліомі головного мозку у щурів /М.І.Лісяний, Л.Д.Любич, А.Г.Хохлов //Имунологія та алергологія.- 2008.- №3.- С.61-66.
- Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот /Л.А. Остерман.- М.: МЦНМО, 2002.- 248с.
- Руководство по культивированию нервной ткани. Методы. Техника. Проблемы /В.П.Божкова, Л.А.Брежневский, В.М.Буравлев [и др.]- М.:Наука, 1988.- 318с.
- Achanta P. Gliomagenesis and the use of neural stem cells in brain tumor treatment /P.Achanta, N.I.Sedora Roman, A.Quinones-Hinojosa // Anticancer Agents Med.Chem.- 2010.- Vol.10(2).- P.121-30.
- Maintaining and loading neural stem cells for delivery of oncolytic adenovirus to brain tumors /A.U.Ahmed, I.V.Ulasov, R.W.Mercer [et al.] //Methods Mol Biol.- 2012.- Vol.797.- P.97-109.
- Bovenberg M.S. Advances in stem cell therapy against gliomas /M.S.Bovenberg, M.H.Degeling, B.A.Tannous //Trends Mol. Med.- 2013.- Vol.19, №5.- P.281-291.
- Expression of cytokines by multipotent neural progenitor cells /H.J.Klassen, K.L.Imfeld, I.I.Kirov [et al.] //Cytokine.- 2003.- Vol.22, №3-4.- P.101-106.
- Human neural stem cells transduced with IFN-beta and cytosine deaminase genes intensify bystander effect in experimental glioma /S.Ito, A.Natsume, S.Shimato [et al.] //Cancer Gene Ther.- 2010.- Vol. 17 (5). - P. 299-306.
- from embryonic stem cells and fetal nervous system present differences in immunogenicity and immunomodulatory potentials *in vitro* /J.Liu, C.Glitherström, M.Forsberg [et al.] // Stem Cell Res.- 2013.- Vol.10(3).- P.325-337.
- Stereological analysis on migration of human neural stem cells in the brain of rats bearing glioma /J.H.Kim, J.E.Lee, S.U.Kim [et al.] //Neuro-surgery.- 2010.- Vol. 66(2).- P.333-342.
- Kim S.U. Neural stem cell-based gene therapy for brain tumors /S.U.Kim // Stem Cell Rev.- 2011.- Vol.7(1)-P.130-140.
- Kleihouse P. World Health Organisation Classifications of tumors: tumors of the nervous system - pathology and genetics /P.Kleihouse, W.K.Cavanee.- Lyon.- France: IARC Press, 2000.- 30 p.
- Neural stem cells secrete factors that promote auditory cell proliferation via a leukemia inhibitory factor signaling pathway /H.C.Chen, H.I.Ma, H.K.Sytwu [et al.] //J. Neurosci. Res.- 2010.- Vol.88(15).- P.3308-3318.

Любич Л.Д., Семенова В.М., Стайно Л.П., Главатский О.Я.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ СУПЕРНАТАНТА ПРОГЕНИТОРНЫХ НЕЙРОКЛЕТОК КРЫСЫ НА КЛЕТКИ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ ГЛИОМ ЧЕЛОВЕКА

Резюме. Цель работы состояла в оценке действия супернатанта прогениторных нейроклёток (НСК) крысы 12-16 суток гестации (E12-16) на клетки глиом человека в суспензионных и диссоциированных культурах. Установлено, что СНК цитотоксически влиял на 56-73% образцов глиом человека (ЦИ 30-34%). Цитотоксическое действие СНК усиливалось с увеличением концентрации от 0,02 до 0,10 мг/мл. После инкубации с СНК в первичных культурах глиом человека наблюдались признаки дозозависимого цитотоксического действия (ретракция и разрежение зоны роста, дистрофия, некробіоз опухолевых клеток, достоверное снижение митотического индекса), усиливающиеся при увеличении длительности инкубации.

Ключевые слова: прогениторные нейроклётки крысы, супернатант, глиомы человека, цитотоксический индекс.

Lyubich L.D., Semenova V.M., Stayno L.P., Glavatskiy O.Ya.

STUDY OF RAT PROGENITOR NEURAL CELLS (NC) SUPERNATANT ACTION ON CULTIVATED HUMAN GLIOMA CELLS

Summary. The purpose of the study was to evaluate the antitumor effect of rat progenitor neural cells supernatant (RPNS)

gestation day 12-16 (E12-16) on human glioma suspensions and primary cultures. RPNS influenced on 56-73% samples of human glioma (CI 30-34%). Cytotoxic action of RPNS increased with elevating concentration from 0,02 to 0,10 mg/ml. After incubation in presence of RPNS in primary cultures of human glioma the signs of dose-dependent cytotoxic effect were observed (retraction and thinning of growth areas, tumor cells dystrophy, necrobiosis, a significant decrease in the mitotic index), which aggravated by increasing the duration of incubation.

Key words: *rat progenitor neurocells, supernatant, human glioma, cytotoxic index.*

Стаття надійшла до редакції 11.12.2013р.

Любич Лариса Дмитрівна - к. біол. н., ст. н. сп., старший науковий співробітник віділу нейроімунології ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044 483-36-84; Lyubichld@gmail.com

Семенова Віра Михайлівна - д. мед. н., професор, завідувач лабораторії культивування тканин ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044 483-92-08; seveme22@rambler.ru

Стайно Лариса Петрівна - науковий співробітник лабораторії культивування тканин ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044 483-92-08;

Главацький Олександр Якович - д. мед. н., лікар-нейрохірург відділення внутрішньомозкових пухлин ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044-483-92-19 (відділення внутрішньомозкових пухлин)
