

расположенности весьма актуальна из-за возрастающего количества таких пациенток. В большинстве случаев сохранить свою репродуктивную функцию эти женщины могут с помощью методов ВРТ: криоконсервации ооцитов, эмбрионов, овариальной ткани. Выбор оптимальной стратегии индивидуален и зависит от множества факторов. Нами была проведена экспериментальная работа — культивирование ткани яичников *in vitro* — в условиях, в которых примордиальные фолликулы развивались и сохраняли свою жизнеспособность. В исследовании принимали участие 4 пациентки в возрасте от 18 до 40 лет со сниженным овариальным резервом различного генеза. При гистологическом исследовании кортикальный слой биоптатов яичников пациенток содержал кистозно-атрезирующиеся фолликулы, преантральные и антральные фолликулы обнаружены не были. Фрагменты овариальной ткани доставляли в лабораторию в день оперативного вмешательства в течение 2–3-х ч. в фосфатно-солевом буфере, измельчали скальпелем и выращивали на протяжении 34 дней в полной питательной среде RPMI-1640 с 10% FCS, эпидермальным фактором роста (EGF) и гормонами (инсулин, ФСГ). Каждый день проводили микроскопический анализ морфологии ткани яичников. Каждую неделю несколько фрагментов овариальной ткани подвергали окраске флуоресцентными красителями (PI, CAM, AlexaFluor 488 Annexin) для оценки жизнеспособности клеток и наличия апоптоза. Морфологический анализ показал наличие в образцах клеток гранулезы, фибробластов, атретических фолликулов в толще овариальной ткани. Со временем фибробласты сформировали монослой в некоторых лунках, клетки гранулезы в суспензии с 5–7 дня начинали активно пролиферировать, к 21 дню 20–30% клеток окрашивались на апоптоз, а к 34 дню процент мертвых клеток составил около 60%. На 10–14 дни культивирования были обнаружены фолликулы с антральной полостью или без неё. К 28 дню в лунках наблюдалось формирование отдельных фолликуло-подобных структур. Флуоресцентная микроскопия измельченных фрагментов ткани яичников показала хорошую выживаемость стромальных элементов на протяжении всего периода культивирования. При добавлении EGF и ФСГ сохранялись мелкие сосудистые образования. Показано, что жизнеспособность клеток ткани яичников при данных условиях культивирования сохраняется на протяжении 34 дней. Нами были получены фолликулы ранних стадий развития (преантральные и ранние антральные). Однако получить фолликулы, содержащие зрелые ооциты, не удалось. Требуются дополнительные исследования для выявления факторов, оказывающих воздействие на созревание примордиальных фолликулов у пациенток с ПНЯ.

Абдрахманов А.А.¹, Максимчик П.В.², Гогвадзе В.Г.^{2,3}, Животовский Б.Д.^{2,3}

¹ Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова

² Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова,

³ Каролинский институт, Отделение токсикологии, Факультет медицины окружающей среды alibek.aaa.94@gmail.com

ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ТЕРАПИИ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

Онкологические заболевания — основной вызов для человечества в XXI веке. На сегодняшний день самым эффективным средством против опухолей является комбинированное лечение радиотерапией и химиотерапией. Обратной стороной медали является цитотоксическое воздействие на организм данных методов. Опухолевые клетки отличаются от нормальных рядом особенностей, таких как неограниченное деление, уход от надзора иммунной системы, изменение экспрессии генов, перестройка метаболизма. В данный момент особое внимание уделяется метаболизму опухолевых клеток, который в значительной степени отличается от метаболизма нормальных. Еще с 20-х годов прошлого века Отто Варбургом было показано, что большинство опухолевых клеток даже в аэробных условиях используют гликолиз для снабжения клеток АТФ. При этом, активность митохондрий существенно снижена. Варбург полагал, что в основе развития опухоли лежит повреждение митохондрий, которые являются основным энергетическим компартментом клеток. В последнее время в противоопухолевой терапии в качестве мишени рассматривают именно электрон-транспортную цепь (ЭТЦ) митохондрий. Ингибирование различных комплексов этой цепи с помощью разных агентов способно вызывать образование активных форм кислорода (АФК), запускающих каскады реакций, приводящих к гибели клеток. Одним из таких агентов является теноилтрифторацетон (ТТФА) — ингибитор комплекса II (сукцинатдегидрогеназы) ЭТЦ. ТТФА взаимодействует с убихинон-связывающим участком субъединицы D сукцинатдегидрогеназы. В результате этого электроны, поступающие в комплекс в результате окисления сукцината, не передаются на убихинон, а высвобождаются из комплекса с образованием супероксидадикала. Поскольку большинство опухолей развивается в условиях гипоксии, целью данной работы было выявить, как в клетках нейроblastомы человека ингибирование дыхательной цепи с помощью ТТФА способно стимулировать гибель клеток в нормоксических и гипоксических условиях. В ходе работы были получены следующие результаты.

1) Добавление ТТФА, в комбинации с ДНК-повреждающим агентом — цисплатином, к клеткам нейроblastомы человека TET21N и SK-N-BE(2) значительно стимулирует клеточную гибель в условиях нормоксии, в то время как в гипоксических условиях клеточная гибель снижается.

2) ТТФА вызывает эндоплазматический стресс в клетках TET21N.

3) При совместном воздействии ТТФА с цисплатином, уровень АФК увеличивается.

4) Базальный уровень АФК при гипоксии выше, чем при нормоксии.

Таким образом, комбинирование препаратов, адресно действующих на митохондрии, с химиотерапией способно значительно повысить эффективность противоопухолевой терапии.

Финансирование исследования: *грант РНФ 14-25-00056.*

**Аверьянов А.В., Королева И.А.,
Конопляников М.А.**

*Федеральный научно-клинический центр
ФМБА России
ФГБУ «НИИ пульмонологии ФМБА России»
averyanovav@mail.ru*

**КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ
ЛЕЧЕНИЯ АЛЛОГЕННЫМИ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ
КЛЕТКАМИ КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫХ
БЫСТРОПРОГРЕССИРУЮЩИМИ ФОРМАМИ
ИДИОПАТИЧЕСКОГО ЛЕГОЧНОГО ФИБРОЗА**

Идиопатический легочный фиброз (ИЛФ) — редкое хроническое прогрессирующее заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся замещением паренхимы легких соединительной тканью, приводящее к развитию тяжелой дыхательной недостаточности. Как показали исследования последних лет традиционное лечение этого заболевания кортикостероидными или цитостатическими препаратами малоэффективно и приводит к развитию многочисленных осложнений. Современные антифиброзные препараты хотя и уменьшают скорость прогрессирования заболевания, но в силу их высокой стоимости практически недоступны для пациентов. В многочисленных экспериментальных исследованиях была показана эффективность мезенхимальных стволовых клеток (МСК) по сдерживанию развития фиброза легких. Целью нашего пилотного клинического исследования, проведенного в 2013–2016 гг., была оценка безопасности и эффективности терапии МСК костного мозга у пациентов с быстрым прогрессированием ИЛФ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. В исследование были включены 20 пациентов, 12 мужчин, 8 женщин в возрасте от 49 до 72 лет с подтвержденным диагнозом идиопатического легочного фиброза со снижением жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) или коэффициента диффузии (DLCO) более чем на 10% за 12 мес., предшествующих включению. Пациенты были рандомизированы в 2 группы по 10 пациентов в каждой, одна из которых в течение 1 года каждые 3 мес. получала 2 внутривенных инфузии суспензии донорских мезенхимальных стволовых клеток костного мозга по 200 млн клеток в каждой, а вторая внутривенные инфузии метилпреднизолона 125 мг в том же режиме. Оценивались нежелательные побочные явления и динамика функциональных и рентгенологических проявлений интерстициальных изменений в легких.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В течение исследования умерло 4 пациента от прогрессирования дыхательной недостаточности (по 2 из каждой группы). Из остальных больных в группе терапии МСК у двух пациентов наблюдалось дальнейшее прогрессирование заболевания, четверо демонстрировали стабильность функциональных показателей, а у оставшихся двоих в течение 12 мес. наблюдалось увеличение ФЖЕЛ до 27% и DLCO до 49%. В группе, получавшей ме-

тилпреднизолон, у всех выживших пациентов наблюдалось дальнейшее прогрессирование процесса и падение легочной функции. При компьютерной томографии высоких разрешений у выживших пациентов через 12 мес. лечения МСК не установлено существенной динамики признаков интерстициального поражения. Из нежелательных побочных эффектов у 50% больных, получавших МСК, зафиксированы головокружения, чувство жара, субфебрильная лихорадка в день проведения инфузий.

ВЫВОДЫ. Терапия аллогенными МСК костного мозга пациентам с быстро прогрессирующим течением ИЛФ в заявленных режимах продемонстрировала отсутствие серьезных нежелательных побочных эффектов и умеренную функциональную и клиническую эффективность без значимых изменений рентгенологических проявлений интерстициального процесса в легких.

Айдарова В.С., Бабийчук Г.А.

*Институт проблем криобиологии
и криомедицины НАН Украины
aidarova@karazin.ua*

**КРИОКОНСЕРВИРОВАННАЯ ПУПОВИННАЯ
КРОВЬ СПОСОБСТВУЕТ ИЗМЕНЕНИЮ
СТРУКТУРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС
ЛИНИИ SHR**

Объектом исследования были две группы 12-мес. спонтанно гипертензивных крыс линии SHR, являющихся удачной моделью для изучения нейродегенеративных заболеваний. Контролем была I группа крыс, II группе внутривенно однократно вводили криоконсервированные ядросодержащие клетки пуповинной крови (rЯСК ПК). Препараты головного мозга (ГМ) окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофусином по Ван-Гизону, толуидиновым синим по Нисслю. Морфометрически определяли значение нейронального индекса, плотность нейронов и глиоцитов в 1 мм² V слоя коры ГМ на микроскопе OlympusBX-41 с использованием программ OlympusDP-Soft (Version 3:1) и MicrosoftExcel. Микроскопически в препаратах ГМ крыс обеих групп в артериальных сосудах мягких мозговых оболочек и ГМ обнаруживались морфологические изменения, характерные для артериальной гипертензии: гипертрофия и гиперплазия гладких миоцитов, межмышечный склероз в артериях мышечного типа, плазматическое пропитывание и гиалиноз стенки артериол. У крыс I группы в некоторых артериальных сосудах белого вещества и подкорковых образований наблюдался очаговый или тотальный фибриноидный некроз стенки с развитием диапедезных или более крупных кровоизлияний разной степени давности. Во II группе признаков острой деструкции сосудов и свежих геморагий не выявлялось. Структурные изменения сосудов обуславливают развитие хронической ишемии вещества головного мозга, что в обеих исследуемых группах морфологически проявлялось дегенеративными изменениями нейронов в виде деформации и гиперхромии, образованием клеток-«теней» с их распадом и нейронофагией; образованием очагов разражения и запустения нейронами вещества мозга с реактивным глиозом и формированием глиальных узелков. В I группе во всех наблюдениях обнаруженные дегенеративные изменения нейронов носили распространенный характер с выраженным обеднением нервными клетками всех