

слоев коры и подкорковых образований и развитием диффузно-очагового глиоза. Плотность нейронов по I группе составила  $1115,94 \pm 50,58$  экз/мм<sup>2</sup>, плотность глиоцитов –  $1839,65 \pm 87,19$  экз/мм<sup>2</sup>, значение нейроглиального индекса –  $1,65 \pm 0,05$ . Во II группе нейронная популяция неоднородна – наряду с нейронами обычного строения встречались группы клеток с дегенеративными изменениями. В 50% наблюдений кора ГМ и подкорковые образования с относительно равномерным распределением нейронов, в остальных случаях в них обнаруживались локусы ганглиозноклеточных разрежений и очаги повышенной плотности нейронов. В целом во II группе плотность нейронов ( $1300,31 \pm 61,76$  экз/мм<sup>2</sup>) и значение нейроглиального индекса ( $1,14 \pm 0,03$ ) достоверно превышали соответствующие показатели в I группе ( $p < 0,05$  и  $p < 0,001$ ), а плотность глиоцитов ( $1476,82 \pm 74,29$  экз/мм<sup>2</sup>) достоверно уменьшалась ( $p < 0,001$ ). Т.о. у крыс SHR в коре и подкорковых образованиях ГМ обнаруживаются морфологические признаки альтернативных изменений нейронной популяции с развитием реактивного глиоза, выраженность которых при введении КЯСК ПК значительно снижается.

Финансирование исследования. *Бюджетное финансирование темы НИР Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.*

**Акасов Р.А.<sup>1</sup>, Лео М.В.<sup>2</sup>, Буров С.В.<sup>2</sup>, Марквичева Е.А.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Институт молекулярной медицины, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова*

<sup>2</sup> *Институт высокомолекулярных соединений РАН*

<sup>3</sup> *Институт биорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН*  
roman.akasov@gmail.com

### **RGD-ЗАВИСИМАЯ АГРЕГАЦИЯ НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАК НОВЫЙ ПОДХОД ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

Поддержание высокой выживаемости трансплантируемых клеток, а также обеспечение их правильного фенотипа и дифференцировки является одной из важных задач тканевой инженерии. Ранее было показано, что культивирование нормальных клеток в мультиклеточных сфероидов способствует выживаемости клеток и сохранению их фенотипа. По сравнению с монослойными культурами, клетки в сфероидов также имеют повышенный регенеративный потенциал (Cesarzetal, 2016). При этом сфероиды можно рассматривать как строительные блоки для восстановления ткани, которые можно имплантировать как отдельно, так и в составе биодеградируемого полимерного матрикса. К настоящему времени разработано несколько способов формирования сфероидов, но все они обладают недостатками, в частности, трудоемкостью и малым количеством получаемых сфероидов. Ранее нами был разработан новый метод формирования сфероидов из опухолевых клеток с использованием циклических RGD-пептидов (Akasovetal, 2016). Целью настоящего исследования являлась разработка простого и универсального RGD-зависимого способа получения сфероидов из первичных культур нормальных клеток. Для работы в качестве модельных клеток использовали фибробласты, выделенные из кожи человека и мезенхимальные стволовые клетки (МСК),

полученные из жировой ткани. Клетки помещали в 96-луночный планшет (10,000 клеток на лунку) и добавляли циклический RGD-пептид непосредственно к монослойной культуре клеток в концентрации 1–100 мкМ. Было показано, что через 48–72 ч. клетки агрегировали с образованием сфероидов при концентрации пептида в интервалах 10–100 мкМ и 25–100 мкМ, соответственно. Меньшая концентрация, необходимая для формирования сфероидов из МСК, может свидетельствовать о различиях в уровнях экспрессии интегринов и/или гликозилирования, как это было показано нами ранее (Haqetal, 2017). При этом средние размеры полученных сфероидов были  $56 \pm 13$  мкм для МСК и  $50 \pm 10$  мкм для фибробластов. Высокая выживаемость клеток в сфероидов была подтверждена флуоресцентным тестом «живой-мертвый». Интересно, что удаление пептида из среды приводило к адгезии клеток к поверхности планшета в течение 24 ч. Также сфероиды включали в коллагеновый гель (95% коллагена I), имитирующий условия in vivo. При этом было обнаружено, что сфероиды в отсутствие RGD-пептида распадались на отдельные клетки, которые заселяли гель в течение 3–5 дней. Таким образом, был разработан новый метод получения сфероидов из нормальных клеток с помощью RGD-агрегации и показана обратимость процесса. Разработанные подходы можно использовать в качестве новой стратегии в тканевой инженерии, в том числе для заселения полимерных биодеградируемых матриксов.

#### *Литература:*

1. Cesarz Z. and Tamama K. Stem Cells Int. 2016. 2016:9176357.

2. Akasov R, Zaytseva-Zotova D, Burov S, Leko M, Dontenwill M, Chiper M, Vandamme T, Markvicheva E. Int. J. Pharm. 2016. 506(1–2): 148–157.

3. Haq S., Haxho F., Samuel V., Akasov R., Leko M., Burov S., Markvicheva E., Szewczuk M Onco Targets Ther. 2017 10:2427-2447.

**Габбасова Л.А.<sup>1</sup>, Койлю А.А.<sup>2</sup>, Сурина Е.Р.<sup>3</sup>, Маилян М.С.<sup>4</sup>, Тарасова Е.В.<sup>1</sup>, Акоюн Ж.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова*

<sup>2</sup> *Министерство здравоохранения Российской Федерации*

<sup>3</sup> *Институт регенеративной медицины МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова*

<sup>4</sup> *Философский факультет МГУ им. М.В. Ломоносова*  
lgabbasova@mail.ru

### **БИОМЕДИЦИНА И ПРАВО. ВОПРОСЫ ПРАВОВОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ДОНОРСТВА ОРГАНОВ (ТКАНЕЙ) ЧЕЛОВЕКА И ИХ ТРАНСПЛАНТАЦИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Согласие является краеугольным камнем всех медицинских вмешательств и в первую очередь с позиции соблюдения прав человека. Наиболее актуален этот вопрос для области биомедицины, которая развивается неимоверно стремительными темпами, а успехи порой противоречивы. Таким образом, важно упорядочить достижения медицины и биологии, расставив их по степени риска. К числу таких обсуждаемых тем относятся вопросы правового регулирования донорства органов, тканей, клеток.

«Руководящие принципы ВОЗ по трансплантации человеческих клеток, тканей и органов» (1987

г., ред. 2010 г.) оказали влияние на организацию и правовое регулирование процессов донорства органов и их трансплантации в более чем 60 странах Европы. Документ гласит, что «в зависимости от социальных, медицинских, культурных традиций каждой страны . . . , согласие на получение органов и тканей от умерших может быть «четко выраженным» (презумпция несогласия) или «предполагаемым» (презумпция согласия)».

В случае выражения согласия (или не согласия) информация о волеизъявлении вносится в национальные регистры, базы данных, доступ к которым имеют только специалисты, принимающие участие в каждом конкретном случае донорства и трансплантации органов. В ряде стран, например, во Франции, в регистр волеизъявлений собирают информацию только о несогласии на изъятие органов после смерти в целях трансплантации, в случае отсутствия такого волеизъявления в базе данных вступает в силу «презумпция согласия». В таких странах как Италия, Испания, которые являются лидерами в отношении донорства и трансплантации в Европе, законодательство основано на принципе «презумпции согласия». В то же время, в этих странах существует высокий уровень информированности граждан о донорстве органов, тканей и их трансплантации. На протяжении 20 лет при активном участии публичных деятелей, в том числе представителей католической церкви, через средства массовой информации формировалось общественное мнение о важности и значимости донорства органов и тканей в целях трансплантации.

В ряде стран, например, в США, информацию о согласии гражданина на донорство органов после смерти, внесенную в Национальный регистр волеизъявлений, дублируют в документах, подтверждающих личность гражданина или водительских правах. К такому решению они идут десятилетиями и для этих стран более характерно законодательство, в основе которого лежит «презумпция несогласия» (испрошенное согласие). Отметка в документе гражданина о донорстве органов, говорит о позитивном отношении к этой процедуре и является отражением сложившегося общественного мнения в отношении донорства органов.

Разнообразие подходов в вопросах получения и регистрации волеизъявления, связанного с донорством органов, тканей, клеток в различных странах связано с тем, что за определение порядка получения и регистрации согласия отвечают национальные органы власти. В то же время, в основе правового регулирования этой процедуры лежат единые, общепринятые международными актами, положения.

Финансирование исследования. *Выполнено в рамках государственного задания МГУ им. М.В. Ломоносова.*

**Акимов М.Г., Ашба А.М., Грецкая Н.М.,  
Безуглов В.В.**

*Институт биоорганической химии РАН  
akimovmike@yandex.ru*

### **N-АЦИЛДОФАМИНЫ – РЕГУЛЯТОРЫ ПРОЦЕССОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ**

N-Ацилдофамины (NADA) – конъюгаты дофамина и жирных кислот, чаще всего ненасыщенных. Эти вещества относятся к семействам эндоканнабиноидов и эндованилоидов. Они образуются в организме

как млекопитающих, так и более примитивных организмов и участвуют во многих процессах регуляции в организме и клетке. К известным мишеням NADA относятся GPCR CB1, CB2, не-CB1/CB2, ионный канал TRPV1 а также ряд других белков (дофаминовый рецептор, кальциевые и калиевые каналы). Участие NADA в процессах регенерации тканей практически не изучено. Цель данной работы – изучение действия NADA и их производных на пролиферацию и дифференцировку клеток в условиях длительного обращения, а также выяснение соответствующих механизмов. Поскольку большая часть известных эффектов NADA реализуется в рамках нервной системы, мы использовали в качестве модели линии клеток феохромоцитомы PC12, глиомы C6 и нейробластомы NT-22. Для каждой линии для набора NADA были определены LC50, после чего культуры инкубировали с разными концентрациями веществ две недели. Гибель клеток и её характер обнаруживали с помощью МТТ и LDH тестов, по активности каспаз и окрашиванию аннексином. Степень дифференцировки определяли по длине и числу отростков и по экспрессии мРНК ряда маркеров стволовых клеток, астроцитов, зрелых нейронов и их предшественников. Молекулярные мишени NADA и пути передачи сигнала внутри клетки определяли с помощью селективных ингибиторов, репортерных систем и нокдауна мРНК. Для NADA с остатками арахидоновой, олеиновой и докозагексаеновой кислот, а также амидов арахидоновой кислоты с тирамином и норадреналином в диапазоне 2–30 мкМ наблюдали 50% гибель клеток, а увеличение времени инкубации не приводило к возрастанию числа погибших клеток. Напротив, вещества в концентрации ниже 1 мкМ стимулировали пролиферацию, а в диапазоне от 1 мкМ до LC50 индуцировали рост отростков и сдвиг в сторону экспрессии нейрональных маркеров у PC12 и астроцитарных у C6. Для клеток NT-22 была зафиксирована только гибель. Молекулярной мишенью NADA на клетках PC12 был рецептор GPR55, который передавал сигнал через PLC, IP3R и кальций на CaMKIV и затем на фактор транскрипции CREB, который запускал экспрессию NO синтазы и, предположительно, секрецию IL-6; предполагается, что IL-6 обеспечивает запуск дифференцировки через путь JAK/STAT. Таким образом, на модели крысиных глиомы C6 и феохромоцитомы PC12 нам впервые удалось показать, что низкие концентрации N-ацилдофаминов (до 1 мкМ) стимулируют пролиферацию, промежуточные (1–20 мкМ) индуцируют дифференцировку, а более высокие ведут к апоптозу, опосредованному активацией специфического рецептора. Не исключено, что NADA могут быть одним из важных факторов в регенерации тканей после повреждений. Работа частично поддержана грантом РФФИ 16-04-00729а.

Финансирование исследования. *Работа частично поддержана грантом РФФИ 16-04-00729а.*