

**А.В. Мошков\*, Е.С. Снигиревская**  
**ИЗМЕНЕНИЯ ФОРМЫ КЛЕТОК U937 ПРИ**  
**ГИПЕРОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ**

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

**A.V. Moshkov\*, E.S. Snigirevskaya**  
**U937 CELLS SHAPE CHANGES UNDER**  
**HYPEROSMOTIC STRESS**

*Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russia*

\*moshkov\_alexey@mail.ru

Изменение формы является одним из наиболее важных свойств апоптозной клетки. На ранней стадии апоптоза гиперосмотический стресс вызывает в клетках U937 образование апоптозных тел (АпТ), за которым следует апоптозное сжатие. Используя ТЭМ, мы изучили морфологию клеток после обработки их сахарозой (200 мМ, 4 ч) и разделения в градиенте плотности Перколла. АпТ и морфологически близкие им блябки обнаружены у клеток «легкой» фракции, тогда как в «тяжелой» фракции АпТ отделены от апоптозных клеток. Механизм образования бляббов, который включает создание внутри клетки положительного гидростатического давления объясняет наличие бляббинга в «легкой» фракции и его отсутствие в клетках, находящихся на стадии апоптозного сжатия, осмотическое давление в которых снижено в связи с потерей клеткой воды. Известно, что бляббы образуются за счет сокращения актомиозинового кортекса, что также может быть справедливо и для АпТ. Для выяснения механизма участия полимеризованного актина в образовании АпТ и бляббов мы провели окраску нефракционированных клеток Atto565-фаллоидином. Средняя флуоресценция клеток с выявленными при короткой инкубации (30 мин) бляббами была выше, чем у нормальных клеток. При 4-часовой инкубации средняя флуоресценция апоптозных клеток, напротив снижается. В отдельных клетках, образующих АпТ, также обнаружено снижение толщины слоя кортикального актина. Из этого следует, что роль актинового цитоскелета в образовании бляббов и АпТ различна. Подтверждением вывода о существенных перестройках цитоскелета в апоптозных клетках может служить изменение их формы. Показатель округлости, рассчитанный в программе ImageJ на оптических срезах в средней части апоптозных клеток, был ниже (0,74) чем обработанных неапоптозных (0,87) или контрольных клеток (0,89). При 30-минутной инкубации с сахарозой округлость клеток, образующих бляббы также снижается (0,79), а на их нижней поверхности наблюдается образование микровыростов. Выросты длиной 5–7 мкм, служащие для контакта клеток со стеклом близки к ламелле — уплощенному участку цитоплазмы на периферии клетки, которая формируется в процессе расплывания клетки на неадгезивном субстрате. Морфометрическое исследование с использованием СЭМ показало различия в развитии ламеллы у клеток, находящихся на двух изученных нами последовательных стадиях апоптоза. Так, наибольшее значение ширины ламеллы, рассчитанное как отношение ее средней площади к средней длине было выявлено у клеток «тяжелой» фракции (1,15 мкм), а в «легкой» фракции и в контроле этот показатель составил 0,73 и 0,33 мкм, соответственно.

**А.А. Наумова\*, А.С. Березовская,**  
**Е.А. Лаврова, М.В. Глазова**  
**АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ**  
**НЕЙРОНАЛЬНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК КРЫС**  
**ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ,**  
**ГЕНЕТИЧЕСКИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ**  
**К АУДИОГЕННЫМ СУДОРОГАМ**

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

**A.A. Naumova\*, A.S. Berezovskaya,**  
**E.A. Lavrova, M.V. Glazova**

**ANALYSIS OF NEURAL STEM CELL**  
**DIFFERENTIATION IN KRUSHINSKY-**  
**MOLODKINA RATS GENETICALLY PRONE**  
**TO AUDIOGENIC SEIZURES**

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS, St. Petersburg, Russia*

\*anaumova07@gmail.com

Развитие эпилепсии тесно связано с нарушениями процессов нейрогенеза в головном мозге. При этом данные о генетических аномалиях, связанных с эпилепсией, позволяют предположить, что aberrантный нейрогенез может являться не только следствием эпилептиформной активности, но и причиной наследственной эпилепсии.

Целью нашей работы являлся анализ дифференцировки нейрональных стволовых клеток (НСК) крыс линии Крушинского-Молодкиной (КМ), генетически предрасположенных к аудиогенным судорогам. Работа проводилась *in vitro* на культурах НСК, изолированных из гиппокампальной области мозга эмбрионов крыс на 18–19 день пренатального развития (E18–19). В качестве контроля были использованы НСК из эмбрионов крыс линии Вистар. НСК инкубировали в среде Neurobasal/B27 с FGFb и EGF. Для стимуляции глутаматергической дифференцировки НСК инкубировали 5 дней в среде Neurobasal/B27 с добавлением BDNF, GDNF, IGF1 и FGF7.

Полученные результаты показали, что при спонтанной дифференцировке, вызванной отменой ростовых факторов, в культуре НСК крыс Вистар преобладают GAD65/67-позитивные ГАМК-ергические клетки, в то время как в культуре НСК крыс КМ наблюдается повышенное содержание VGLUT1/2-позитивных глутаматергических нейронов. Также среди НСК КМ было повышено число клеток, позитивных по белку doublecortin — маркеру нейрональных предшественников, что свидетельствует о высоком пролиферативном потенциале культуры.

Стимуляция направленной глутаматергической дифференцировки НСК Вистар приводила к увеличению числа глутаматергических клеток и снижению числа ГАМК-ергических клеток по сравнению с не стимулированным контролем. Однако при аналогичной стимуляции НСК КМ содержание глутамат- и ГАМК-ергических клеток в культуре не изменялось. При этом глутаматергическая дифференцировка НСК Вистар, в отличие от НСК КМ, сопровождалась повышением активности протеинкиназы А (PKA). Напротив, в НСК крыс КМ введение BDNF, GDNF, IGF1 и FGF7 привело к активации протеинкиназ ERK1/2 и Akt. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о генетически детерминированных нарушениях молекулярных механизмов дифференцировки глутаматергических нейронов у крыс линии КМ, что может лежать в основе развития аудиогенной эпилепсии.