известных онкогенов, широко использующихся в модельных экспериментах в канцерогенезе (ErbB2, SYT–SSX–1 и Bcl–2). Однако, такая трансформация не приводила к формированию опухолей в мышах, и только при Bcl–2 – индуцированном канцерогенезе опухоли появились лишь у 4 мышей из 12 через 4 месяца после трансплантации. Для подтверждения этих результатов опыты были повторены несколько раз. Авторами было показано, что основным механизмом образования саркомы Юинга является специфическая индукция белком EWS–FLI–1 экспрессии инсулин–подобного фактора роста (IGF) в мезенхимальных прогениторных клетках. Этот фактор и его рецептор играет важную роль в канцерогенезе СЮ [6].

Данное исследование представляет собой первую демонстрацию преобразования первичных мезенхимальных прогениторных клеток в саркому Юинга при индуцированном канцерогенезе. Интересно, что даже трансформация эмбриональных стволовых клеток *in vitro* не приводила к образованию опухолей у SCID–мышей.

Стволовые и прогениторные клетки взрослого организма является хорошими кандидатами для онкогенетической трансформации, поскольку для них достаточно небольшого числа мутаций. В данной работе одна мутации приводила к устойчивой злокачественной трансформации МРС. Результаты эксперимента подтверждают теорию канцерогенеза из взрослых стволовых клеток и впервые демонстрируют, что основным механизмом образования саркомы Юинга может быть IGF–индуцированная экспрессия в мезенхимальных (стромальных) клетках костного мозга.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Wicha M.S., Liu S., Dontu G. Cancer stem cells: an old idea – a paradigm shift. Cancer Res. 2006; 66(4): 1883–90.
2. Gudjonsson T., Magnusson M.K. Stem cell biology and the cellular pathways of carcinogenesis. APMIS 2005; 113(11–12): 922–9.
3. He X., Tsang T.C., Pipes B.L. et al. A stem cell fusion model of carcinogenesis. J. Exp. Ther. Oncol. 2005; 5(2): 101–9.
4. Li Z.–Y., Liu D.–P., Liang C.–C. New insight into the molecular mechanisms of MLL–associated leukemia. Leukemia 2005; 19: 183–90.
4. Delattre O., Zucman J., Plougastel B. et al. Gene fusion with an ETS DNA–binding domain caused by chromosome translocation in human tumours. Nature 1992; 35: 162–5.
5. Scotlandi K., Benini S., Nanni P. et al. Blockage of insulinlike growth factor–I receptor inhibits the growth of Ewing's sarcoma in athymic mice. Cancer Res. 1998; 58: 4127–31.

Подготовил А.Л. Поспелов
по материалам Cancer Res. 2006; 65: 11459–68

ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Сравнительный анализ клеточного материала для закрытия диафрагмальных дефектов в эксперименте

Актуальной проблемой современной детской хирургии остается закрытие тканевых дефектов у пациентов со значительными диафрагмальными грыжами. Диафрагмальные грыжи – порок развития диафрагмы, выражающийся в дефекте мышечной или мышечно–сухожильной ее части и проявляющийся синдромами дыхательных расстройств или непроходимостью кишечника в результате проникновения содержимого брюшной полости (печень, желудок, петли кишечника) в плевральную. Диагностика данного заболевания возможна еще в пренатальном периоде. Лечение данного порока развития – только оперативное. В тяжелых случаях, когда пластика грыжевых ворот местными тканями не представляется возможным, производят пластику дефекта синтетическими материалами (тефлон) или материалами на основе коллагенов (Тахокомб, SIS) [1, 5, 6]. Последние предпочтительней, так как они постепенно заселяются клетками и их производными, что позволяет создать в достаточной мере эффективный барьер между грудной и брюшной полостью. Однако процесс миграции, пролиферации, дифференцировки и функциональной активности (синтез внеклеточного матрикса и реорганизация коллагеновых материалов) клеток растянут во времени и зачастую не соответствует сроку резорбции материала, что может приводить к его разрывам и рецидивам. Применение тканеинженерных конструкций, содержащих функционально активные клетки, в достаточной мере снизило бы вероятность разрыва материала с течением времени и позволило бы сформировать не просто механическую, а биологическую мембрану между брюшной и плевральной полостью.

Для соблюдения принципа аутогенности в лечении пороков развития мезенхимальных тканей у новорожденных, возможно применения либо собственных фетальных тканей, полученных от ребенка путем биопсии на поздних сроках беременности (что с этической точки зрения недопустимо), либо мультипотентных мезенхимальных амниотических клеток (ММАК). Данные клетки могут быть получены из амниотической жидкости без повреждения плода. ММАК уже давно используются для выявления наследственных и генетических

заболеваний путём изучения кариотипа и генома плода [2]. В последнее время стали появляться работы по изучению фенотипа, свойств и дифферцировочного потенциала этих клеток *in vitro*. Так, было показано, что ММАК могут дифференцироваться во все производные мезенхимы и даже в глиальные клетки [7].

В Journal of Pediatric Surgery опубликована экспериментальная работа, в которой для замещения сформированного дефекта диафрагмы авторы использовали ММАК, нанесенные на биодеградируемый коллагеновый носитель.

Работа выполнена на новорожденных ягнятах. На сроке гестации 91–124 дней производилась пункционная биопсия (через беременную матку) мышцы задней конечности и забор достаточного количества амниотической жидкости. Из образцов мышечной ткани выделяли миобласты, а из амниотической жидкости ММАК. Миобласты в культуре характеризовались экспрессией тяжелой цепи миозина и десмина. ММАК метили зелёным флюоресцентным белком (GFP). Матрица носитель представляла собой тройной «сэндвич», где верхний слой был выполнен из децеллюлированной человеческой кожи (AlloDerm; LifeCell, Branchburg, NJ), нижний слой выполнен из SIS, а между ними заключался концентрированный коллагеновый гель. Культура клеток вносилась в коллагеновый гель «сэндвича». Сразу после формирования дефекта (6x7 см) в диафрагму ягнят первой группы животных производилась аутотрансплантация конструкции, содержащей ММАК, а второй группе – конструкции, содержащей миобласты. В группе контроля производилась имплантация только матрицы.

Животные выводились из эксперимента спустя 1–12 месяцев после трансплантации. Сразу после торакотомии производился забор биопсийного материала из места, куда производилась трансплантация. Изучение образцов ткани осуществлялся с помощью гистологических, иммуноцитохимических методов, а также было произведено изучение прочности ткани на разрыв.

В результате, «рецидив» (разрушение конструкции и проникновение органов брюшной полости в плевральную), произошел во всех группах. Однако, в 3-й группе – у 100% животных, а в 1-й и 2-й в среднем у четверти (25%) животных. При изучении прочности на разрыв лучшие результаты показали ткани из первой группы. В ней же была выявлена лучшая васкуляризация, большее количество клеток на единицу площади, большее содержание эластина, тогда как количество внеклеточного матрикса и гликозамингликанов было сопоставимо во всех группах. Все клетки первой группы имели «фибробласто-миофибробластоподобный» (виментин+, десмин+) фенотип. Клетки образцов тканей второй группы характеризовались низким уровнем экспрессии десмина и скелетного миозина и напоминали фибробласты-миофибробласты (виментин+). Миобласты, в условиях отсутствия стимулирующего влияния со стороны нервной системы, не сформировали мышечные пучки (пласты). Как и прежние работы, связанные с попыткой создания эквивалентов мышечной ткани, исследователи столкнулись с проблемой «анервационного синдрома».

Подводя итог работы, авторы обращают внимание, что вероятной причиной неудач могла стать и внеклеточная матрица. Исследователи не исключают какого-либо влияния SIS и Alloderm на клетки в конструкции. Тем не менее, авторы впервые показали возможность использования собственных клеток (ММАК и миобластов) для восстановления дефектов тканей мезенхимального происхождения у новорожденных. При дальнейшем изучении и усовершенствовании, такой подход сулит появление технологии для лечения дефектов диафрагмы у детей.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Dalla Vecchia L., Engum S., Kogon B. et al. Evaluation of small intestine submucosa and acellular dermis as diaphragmatic prostheses. J. Pediatr. Surg. 1999; 34: 167–71.
2. Fischer R.L., LaMotta J., McMorrow L.E., Hediger M.L. Effect of pre-amniocentesis uterine manipulation on amniocyte concentration and culture duration: a randomized, clinical trial. Prenat. Diagn. 1996; 16(7): 673–4.
3. Moss R.L., Chen C.M., Harrison M.R. Prosthetic patch durability in congenital diaphragmatic hernia: a long-term follow-up study. J. Pediatr. Surg. 2001; 36: 152–4.
4. Ramadwar R.H., Carachi R., Young D.G. Collagen-coated Vicryl mesh is not a suitable material for repair of diaphragmatic defects. J. Pediatr. Surg. 1997; 32: 1708–10.
5. Tsai M.S., Lee J.L., Chang Y.J., Hwang S.M. Isolation of human multipotent mesenchymal stem cells from second-trimester amniotic fluid using a novel two-stage culture protocol. Hum. Reprod. 2004; 19(6): 1450–6.

Подготовил А.В. Волков
по материалам J. Pediatr. Surg. 2006; 41; 1: 34–9