

## Історія лабораторії культивування тканин

Становлення методу тканинних культур в інституті почалося в 60-х роках. Ідея створення такої лабораторії належала акад. О.І.Арутюнову і проф. Б.С.Хоминському, що було обумовлено необхідністю отримати модель експериментального росту пухлин мозку з метою поглибленого вивчення їх гістобіологічних властивостей.

Т.П.Верхоглядова, у той час канд. мед. наук, успішно опанувала цей метод у Московському Інституті морфології людини під керівництвом А.Д.Тимофєєвського і в 1962 р. організувала лабораторію культивування тканин в інституті. З 1965 р. в лабораторії почала працювати лікар, науковий співробітник В.М.Семенова.

Перші результати ефективного росту астроцитарних пухлин у первинних культурах одержані в 1963 р. З часом під керівництвом проф. Т.П.Верхоглядової лабораторія стала серйозною базою для оригінальних експериментальних досліджень. Спочатку для культивування тканин було облаштовано невеликі бокси на території відділу нейропатоморфології. Згодом лабораторія отримала просторіше приміщення в суміжному одноповерховому корпусі, другу половину якого займала лабораторія біохімії, а з 1981 р. — розміщується в лабораторному корпусі інституту.

Протягом майже двох десятиліть головним напрямком досліджень, що проводилися в лабораторії, було вивчення гістобіологічних особливостей росту пухлин мозку в первинних культурах. Завдяки комплексу методичних прийомів (цитохімія нуклеїнових кислот, глікогену, ліпідів, ряду окисно-відновних і гідролітичних ферментів, цитоспектрофотометрія ДНК) були досліджені структурно-метаболічні властивості гліом різного генезу, а також активність їх росту залежно від ступеня злоякісності. При цьому встановлено здатність до цитотипічного диференціювання пухлинних клітин найбільш злоякісних серед гліом — гліобластом (Т.П.Верхоглядова, В.М.Семенова).

У 1967 р. у лабораторії вперше застосовано метод кінематографічної реєстрації росту культур, що дозволило спостерігати процеси прижиттєвого поділу пухлинних клітин, а також їх поведінкові реакції на вплив протипухлинних препаратів.

Результати 112 спостережень росту макрогліальних пухлин мозку у культурі тканин з характеристикою їх метаболізму і реакції на вплив ряду протипухлинних препаратів проаналізовані та узагальнені в докторській дисертації Т.П.Верхоглядової “Макрогліальные опухоли головного мозга (патоморфология, гистохимия, культура ткани)” (1970).

Матеріали тестування ряду протипухлинних препаратів на культурах гліом увійшли також в докторську дисертацію Ю.Д.Соснова “Комбинированное лечение злокачественных опухолей больших полушарий головного мозга (хирургическое вмешательство и химиотерапия)” (1981).

На основі досліджень, проведених у культурі тканин, обґрунтовано та розроблено спосіб контак-



Т.П.Верхоглядова

тної хіміотерапії гліом з використанням у післяопераційний період біосумісного полімерного плівкового депонатора з хіміопрепаратом. Ці розробки стали основою кандидатської дисертації А.М.Морозова “Контактная химиотерапия глиом головного мозга с применением полимерного пленочного депонатора” (1988).

У лабораторії були вивчені також особливості проліферації в первинних культурах рідкісних пухлин — епендимом, епендимоастроцитом, олігодендрогліом, медулобластом. Матеріали морфо-гістохімічних досліджень епендимом і епендимоастроцитом узагальнені в кандидатській дисертації В.М.Семенової “Эпендимомы и эпендимоастроцитомы центральной нервной системы (патоморфология, гистохимия, культура ткани)” (1971).

Дослідження Т.П.Верхоглядової ростових потенцій менінгеом і сарком у первинних культурах значно розширили уявлення про гістобіологічні особливості цих пухлин, що було відображено в монографії А.П.Ромоданова, В.Г.Станіславського і Т.П.Верхоглядової “Саркомы головного мозга” (1977).

У 1980–1984 рр. під керівництвом проф. Т.П.Верхоглядової була виконана кандидатська дисертація О.М.Жмарьової “Индукция и экспериментальное исследование опухолей головного мозга крыс” (1984). О.М.Жмарьова отримала перевивні лінії злоякісних гліом, які були індуковані інтрацеребральним введенням вірусу саркоми Молоні. Отримані штами використані для тестування антибластичних препаратів з різним механізмом дії. Лінії 35 і 2211 внесені до каталогу Всесоюзної колекції клітинних культур (1991).

Освоєння методу тимідинової гістоауторадіографії дозволило кількісно охарактеризувати швидкість росту культивованих гліом різного генезу та ступеня злоякісності, а також об'єктивізувати оцінку індивідуальної чутливості цих пухлин до тестованих протипухлинних препаратів (В.М.Семенова).

Результати паралельного визначення чутливості гліом до цих же препаратів на моделі субкапсулярної гетеротрансплантації (Г.М.Олійник, В.М.Семенова) підтвердили достовірність прогнозування реакції гліом на їх антибластичне лікування в експерименті. Отримані дані були враховані при побудові індивідуальних схем антибластичної терапії в клініці.

Ці експериментальні матеріали в поєднанні з морфологічною оцінкою ознак лікувального патоморфозу гліом на біопсійному матеріалі узагальнені в докторській дисертації В.М.Семенової “Экспериментально-морфологическая оценка эффективности антибластической терапии головного мозга” (1993).

У 1992 р. завідування лабораторією як самостійним науковим підрозділом було доручено В.М.Семеновій. Це було пов'язано з розробкою в інституті нових напрямків (нейротрансплантація, лазерна нейрохірургія, фотодинамічна терапія гліом, проблема епілептогенезу, ефект впливу на центральну нервову систему малих доз радіації тощо). У цей період лабораторія була оснащена сучасним обладнанням, розширився її штат. З 1992 р. в лабораторії працює молодший науковий співробітник Л.П.Стайно.

З появою потреби моделювання росту клітин нервової тканини як в експлантах, так і в дисоційованих культурах, були освоєні методи отримання дисоційованих культур з нервової тканини, а також клітинних фракцій, збагачених нейроцитами та гліальними клітинами, метод сумісного культивування ембріональних і пухлин-

них тканин. Придбання інвертованого мікроскопа з фотонасадкою дало можливість прижиттєвого спостереження культивованих клітин з фотографічною реєстрацією у динаміці росту культур.

У межах розробки проблеми нейротрансплантації культуру ембріональних нейробластів використали для субпіальної трансплантації на префронтальну кору мозку щурів з метою корекції порушеного метаболізму та поведінкових реакцій з еквівалентом гіпо- та гіперреактивності після біорбітальної лейкотомії. Отримано позитивний лікувальний ефект після нейротрансплантації таким тваринам культивованих нейробластів від ембріонів 12–14-добового віку. Культуру нейронів використовували також для нейротрансплантації експериментальним тваринам (щурам) з метою



*В.М.Семенова*

усунення у них агресивності, яка була спричинена двобічною септумектомією. Ці спостереження стали основою кандидатської дисертації Є.І.Слинька “Експериментальна нейрохірургічна корекція поведінкових порушень” (1993), а потім знайшли відображення в монографії В.І.Цимбалюка, Т.П.Верхоглядової, Є.І.Слинька “Нейрохирургическое лечение психических заболеваний” (1997).

Чорнобильська аварія на Україні зумовила особливу актуальність визначення реакції клітин мозку на вплив малих доз радіації. У лабораторії проведено серію експериментів, які моделювали вплив малих доз радіонукліда Cs 137 і прямого рентгенівського опромінення на культури нервової тканини з мозку новонароджених щурів та ембріонів пренатального періоду. Результати цих розробок були узагальнені в монографії “Хронічний вплив малих доз опромінення на нервову систему. Експериментальні дослідження та клінічні спостереження” (1998).

У зв'язку з експериментальним вивченням ролі гліального компонента у формуванні епілептогенного вогнища в лабораторії була відпрацьована методика отримання культур, збагачених гліальними клітинами з переважанням астроцитів, з різних відділів мозку експериментальних тварин. Ідентифікація клітин астроглії підтверджена імуноцитохімічним виявленням у них кислого фібрилярного білка — маркера астроцитів. Результати цих досліджень були включені в кандидатську дисертацію К.Р.Костюка “Вплив гетеротопічної алотрансплантації тканин гіпокампа на динаміку біоелектричної активності мозку та функціонально-морфологічної інтеграції імплантата з реципієнтом” (1999).

У межах проблеми дослідження імунних властивостей клітин головного мозку в онтогенезі в лабораторії вивчались реакції клітин гліом на вплив клітинних суспензій, збагачених нейрочитами та глією, а також їх супернатантів. Ці матеріали відображені в колективній монографії “Иммунная система головного мозга” (1999).

Протягом 1996–1999 рр. у лабораторії культивування тканин за участі проф. В.Д.Розуменка проводилися експерименти з відпрацюванням оптимальних режимів отримання ефекту фотодеструкції пухлинних клітин у первинних культурах гліом мозку (перевивний штам 101.8 анапластичної гліоми мозку щурів, гліоми людини



*Один з етапів роботи у боксі*

II–IV ступеня анаплазії). При цьому було тестовано активність різних фотосенсибілізаторів, включаючи фталоціанін, при різних схемах лазерного опромінення культур.

У межах проблеми вивчення цитокінового статусу хворих на пухлини головного мозку лабораторія досліджувала ефект прямого впливу  $\alpha$ -інтерферону на пухлинні клітини мозку в умовах короткострокових суспензійних культур.

Протягом останніх років лабораторія культивування тканин бере участь у комплексному дослідженні біологічних властивостей нейрональних стовбурових клітин ембріонального і постнатального мозку експериментальних тварин і людини.

На всіх етапах роботи лабораторії її провідні співробітники проф. Т.П.Верхоглядова та д-р мед. наук В.М.Семенова постійно брали участь у роботі патоморфологічного відділу в діагностиці біопсійного матеріалу, а також виконували морфологічні фрагменти наукової тематики згідно з проблемами, що розробляються в інституті.

Під керівництвом проф. Т.П.Верхоглядової виконані та захищені 23 дисертаційні роботи, серед яких 18 кандидатських і 5 докторських дисертацій. Проф. Т.П.Верхоглядова — автор більше ніж 150 наукових публікацій і співавтор 5 монографій.

Під керівництвом д-ра мед. наук В.М.Семенової виконані морфологічні фрагменти двох кандидатських дисертацій. Вона є автором 148 наукових публікацій і співавтором 2 монографій. Молодший науковий співробітник Л.П.Стайно є співавтором 37 публікацій. Результати розробки різних теоретичних і практичних питань експериментальної нейробіології та нейроонкології із залученням методу тканинних культур висвітлені у більше ніж 80 публікаціях і увійшли в 3 докторські, 7 кандидатських дисертацій та 4 монографії.