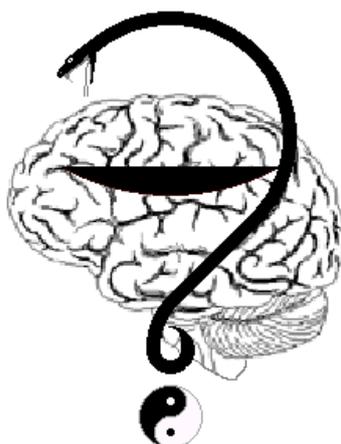


ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ИМ. И.П. ПАВЛОВА
ФГБУН ИНСТИТУТ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ РАН
ГУ НИ ИНСТИТУТ НОРМАЛЬНОЙ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. П.К. АНОХИНА РАМН
ФГБУН ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ РАН
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ И САНОКРЕАТОЛОГИИ АН МОЛДОВЫ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ



Одиннадцатый международный междисциплинарный
конгресс

НЕЙРОНАУКА ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И ПСИХОЛОГИИ

в рамках подготовки к XXIII Съезду Российского
Физиологического Общества им. И.П. Павлова
(Санкт-Петербург, 2017), посвященному 100-летию создания
этого общества
Иваном Петровичем Павловым

Судак, Крым, Россия, 2-12 июня 2015 года

декстран, карбоксидекстран, полиэтиленгликоль, полистирол или других материалов), придающая конструкции стабильность, растворимость, а также препятствующая агрегации частиц друг с другом. На поверхности оболочки могут быть закреплены различные функциональные группы, в том числе флуоресцентные метки, облегчающие при необходимости выявления клеток при помощи флуоресцентной микроскопии. В многочисленных исследованиях было показано, что мечение МСК магнитными наночастицами не влияет на их основные физиологические характеристики в условиях *in vitro*, а именно: на уровень пролиферации МСК, степень их спонтанной гибели в культуре, а также на способность этих клеток к нейрогенной трансдифференцировке. Для выявления миграции и хоуминга меченых МСК в головном мозге при помощи МРТ чаще всего используют импульсные последовательности на основе градиентного эхо. Меченые МСК визуализируются как гипоинтенсивные зоны на T2- и T2*-взвешенных изображениях, что обусловлено способностью наночастиц оксида железа создавать локальную неоднородность магнитного поля, тем самым ускоряя время спин-спиновой релаксации. Также для контроля миграции меченых МСК может быть использован сравнительно недавно появившийся в лабораторной и клинической практике МР-режим SWI (изображения взвешенные по магнитной восприимчивости). SWI более чувствителен к локальным неоднородностям магнитного поля, а следовательно, и к меченым наночастицами оксида железа МСК, что позволяет улучшить их обнаружение в головном мозге реципиентов. Было показано, что при всех описанных режимах выявляемость МСК зависит от количества меченых клеток. Наиболее чувствительным является режим SWI: с его помощью можно визуализировать от 10 меченых клеток. Важно отметить, что SWI позволяет отчетливо визуализировать вены и микрокровоизлияния, которые необходимо дифференцировать с мечеными МСК. Вышеописанные методы маркировки клеток и их визуализации делают возможным *in vivo* контроль за миграцией и хоумингом МСК после их трансплантации в головной мозг реципиентов.

MRI TRACKING OF MESENCHYMAL STEM CELLS IN RAT BRAIN

Namestnikova D.D.¹, Gubsky I.L.², Gubsky L.V.¹, Yarygin K.N.³

¹ The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russian Federation; ² Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Department of Radiology, Radiotherapy and Medical Physics, Moscow, Russian Federation; ³ V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation.

Transplantation of mesenchymal stem cells (MSCs) for regenerative medicine has been shown promising therapeutic results in animal models of neurodegenerative diseases of the central nervous system and ischemic brain injury, and even in humans during first clinical trials. For evaluation of the therapeutic effects and mechanisms of biological action *in vivo* visualization of MSCs in the brain of recipients is required. In laboratory and clinical practice magnetic resonance imaging is commonly used for such visualization. For *in vivo* MRI of MSCs cells labeling with MR-contrast agents is necessary. Usually for this purpose superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIO) are used. There are commercially available micro- and nanoparticles of iron oxide, which consist of the core (iron oxide III and sometimes a small amount of iron oxide II) and the shell (consisting of dextran, carboxydextran, polyethylene, polystyrene, or other materials); later makes the structure stable, soluble and also prevents aggregation of particles with each other. On the surface of the shell can be attached a variety of functional groups, including fluorescent marks, which allow the detection of MSCs by fluorescence microscopy. It has been shown that labeling of MSC with SPIO has no effect on cells proliferation, their level of spontaneous death in culture and the ability of MSCs to neurogenic transdifferentiation. For MRI tracking of labeled MSCs in the brain are commonly used pulse sequence based on the gradient echo. Labeled MSCs are visualized as hypointense area on T2 and T2*-weighted images, due to the ability of iron oxide nanoparticles to create local inhomogeneity of the magnetic field and to enhance the spin-spin relaxation. Recently available in laboratory and clinical practice susceptibility weighted MR-imaging can also be used for MSCs tracking. SWI is more sensitive to local inhomogeneities of the magnetic field and hence is more sensitive to iron oxide labeled cells and can improve their traceability. It has been shown that in all pulse sequences the detection of MSCs depends on the number of labeled cells. SWI is the most sensitive pulse sequence: it can be used to visualize up to 10 labeled cells. It is worth noting that except iron accumulation SWI allows good visualization of veins and cerebral microhemorrhages, which must be differentiated from the accumulation of labeled MSCs. Described methods of cells labeling and MRI tracking make possible *in vivo* visualization of MSCs migration and homing after transplantation into the brain of recipients.

МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ МЕЧЕННЫХ КЛЕТОК В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Наумова А. В.

кандидат биологических наук,
доцент департамента радиологии университета Вашингтона (Сиэтл, США),
ведущий научный сотрудник лаборатории нейробиологии НИИ Биологии и Биофизики Томского государственного университета (Томск, Россия). nav@uw.edu

Острое повреждение мозга (инсульт) или хронические нейродегенеративные заболевания (например, болезнь Паркинсона) являются преобладающими заболеваниями стареющего общества. Поскольку мозг не обладает способностью регенерации, трансплантация стволовых клеток является многообещающей областью биомедицины. Магнитно-резонансная томография (МРТ) незаменима для мониторинга пересаженных клеток и для оценки регенерации тканей [1]. Стволовые клетки могут быть доставлены в паренхиму мозга с помощью стереотаксических методов [2-4]. Для МРТ визуализации клетки должны быть помечены суперпарамагнитными наночастицами (СПН) либо с помощью модификации ДНК. Была показана возможность МРТ мониторинга миграции аутологичных клеток мозга меченых СПН в зону травмы у

пациентов с открытой травмой мозга [5]. Была показана возможность визуализации повреждений паренхимы с помощью МРТ на магните 3 Тесла, а также мониторинг миграции меченых клеток в течении 21 дня после имплантации с последующим исчезновением СПН сигнала через 7 недель после имплантации [5]. Внутривенное введение является наиболее распространенным способом доставки клеток при остром повреждении мозга сопровождающееся терапевтическими результатами [6]. В то время как прямое мечение клеток с помощью СПН дает значительный МРТ контраст в ранний период после трансплантации, основным ограничением этого метода является невозможность различить живые меченые клетки от мертвых [7]. СПН также не позволяют получить информацию об эффективности клеточной терапии и интеграции пересаженных клеток с тканями хозяина [8]. Методы непрямой метки основаны на модификации клеточного генома стимулирующее наработку специфических белков, например железо-секвенирующего белка ферритина. Преимущества и недостатки каждого из методов метки клеток для МРТ визуализации будут представлены и обсуждены на конференции.

Ссылки: [1]. Naumova A.V., et al. Nat Biotechnol. 2014;32(8):804-18. [2] Donovan T., et al. Br J Neurosurg 2003;17,443-449. [3] Kondziolka D., et al. Cell Transplant 2004;13,749-754. [4] Muir K.W., et al. Transl Stroke Res 2011;2,266-271. [5] Zhu J., et al. New Eng J Medicine 2006;355,2376-2378. [6] Pawelczyk E., et al. PloS One 2009;4,e6712. [7] Terrovitis J., et al. Circulation 2008 ;117,1555-1562. [8] Gupta N., et al. Science Transl Med 2012 ;4,155ra137.

Благодарность Российскому научному фонду (проект №14-45-00040).

MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF THE LABELED CELLS IN CENTRAL NEURAL SYSTEM

Anna V. Naumova

Ph.D. Research Assistant Professor, Department of Radiology, University of Washington, Seattle, WA, USA. Lead Scientist, Laboratory of Neurobiology, Research Institute of Biology and Biophysics, Tomsk State University, Russia, nav@uw.edu

Acute brain injury, such as a stroke, and chronic neurodegenerative disease, such as Parkinson disease, are prevalent in our aging society. There is no regeneration per se in the brain; therefore, stem cell transplantation holds a great promise for regeneration. Imaging plays an irreplaceable role in transplanted cell tracking in the evaluation of tissue regeneration [1]. Using image-guided stereotactic delivery, exogenous cells can be delivered directly into the brain parenchyma [2-4]. Cells have to be labeled with superparamagnetic nanoparticles (SPIOs) or be genetically modified prior transplantation to enable MRI tracking. It has been shown that by labeling autologous brain-derived cells with SPIO nanoparticles prior to re-implantation into a patient with an open brain trauma it was possible track implanted cells and determine the extent of migration in the damaged brain [5]. MRI at 3T was able to delineated the damaged parenchyma, the implantation site of the labeled cells and migration of the label over a period of 21 days with the reported disappearance of the hypointense voxels by seven weeks post implantation [5]. Intravenous cell injection is the most common route of delivery for acute brain injury with evidence of therapeutic efficacy [6]. While particle-based (direct) labeling gives strong signals in the early period after transplantation, a key limitation is that direct labeling typically cannot distinguish live vs. dead cells [7]. Particles also do not provide information on treatment efficacy or how cells integrated within the host microenvironment [8]. Indirect cell labeling methods are based on modification of cellular genome to produce specific reporter proteins, for example, iron storage protein ferritin. Reporter genes get incorporated into DNA; therefore, the imaging signal is propagated by daughter cells and is stoichiometrically related to live cell mass. Advantages and disadvantages of each cell labeling method will be presented and discussed at the conference.

References: [1]. Naumova A.V., et al. Nat Biotechnol 2014;32(8):804-18. [2] Donovan T., et al. Br J Neurosurg 2003;17,443-449. [3] Kondziolka D., et al. Cell Transplant 2004;13,749-754. [4] Muir K.W., et al. Transl Stroke Res 2011;2,266-271. [5] Zhu J., et al. New Eng J Medicine 2006;355,2376-2378. [6] Pawelczyk E., et al. PloS One 2009;4,e6712. [7] Terrovitis J., et al. Circulation 2008 ;117,1555-1562. [8] Gupta N., et al. Science Transl Med 2012 ;4,155ra137.

Acknowledgments: Russian Scientific Foundation (project №14-45-00040).

ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА НА УРОВЕНЬ ГАМК И АМИНОКИСЛОТ-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ МОНОАМИНОВ В КРОВИ МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС

А.В. Невоя, Т.С. Бешетя, П.П. Павалюк, А.И. Мантоптин, Г.И. Вармарь, А.В. Лозовану
Институт физиологии и санокреатологии, АНМ, Кишинев, Молодова; nevoia.angela@gmail.com

Стрессовые воздействия стимулируют нейромедиаторную активность мозга. Норадренергические нейроны инициируют и поддерживают стресс-реакцию. Серотонинергическая и ГАМК-ергическая системы обеспечивают развитие адаптации и предотвращают дистресс. Активность этих систем, по данным литературы, проявляется изменением концентрации ГАМК и аминокислот - предшественников моноаминов в крови. Исследование концентраций фенилаланина (phe), тирозина (tyr), триптофана (trp) и ГАМК при воздействии стресс - факторов представляет практический интерес в аспекте определения адаптивных возможностей и функциональных резервов организма подверженного влиянию стресса, особенно, в наиболее уязвимые периоды индивидуального развития. Исследования проводились на молодых (20-дневных) и старых (2-годичных) крысах-самцах Wistar в условиях острого стресса (жесткая иммобилизация в течение 6 часов). Контролем для каждой группы служили крысы соответствующего возраста. Концентрацию свободных аминокислот в плазме крови и эритроцитах определяли методом жидкостной ионообменной хроматографии. Результатом воздействия иммобилизационного стресса явилось увеличение в плазме крови крыс концентрации аминокислот- предшественников катехоламинов, более выраженное у старых животных (phe в 2,8 раза, tyr – в 2,5 раза), по сравнению с молодыми (phe в 2,1раза, tyr – в 2 раза), и повышение их уровня в эритроцитах (в 2 раза) у животных обеих групп. Изменения концентрации предшественника серотонина - (trp) в плазме и в эритроцитах носили разнонаправленный