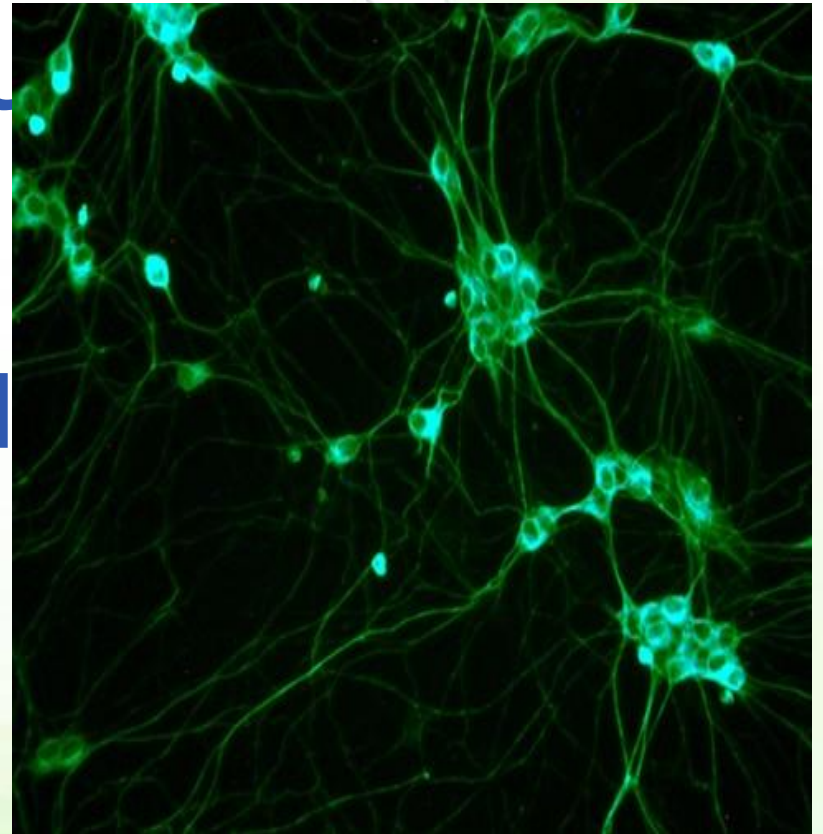


Культуры клеток и тканей в фармакологических медицинских исследованиях



Содержание

- Характеристика культуры клеток и тканей
- Культуры клеток и тканей в фармакологии
- Культуры клеток и тканей в медицине

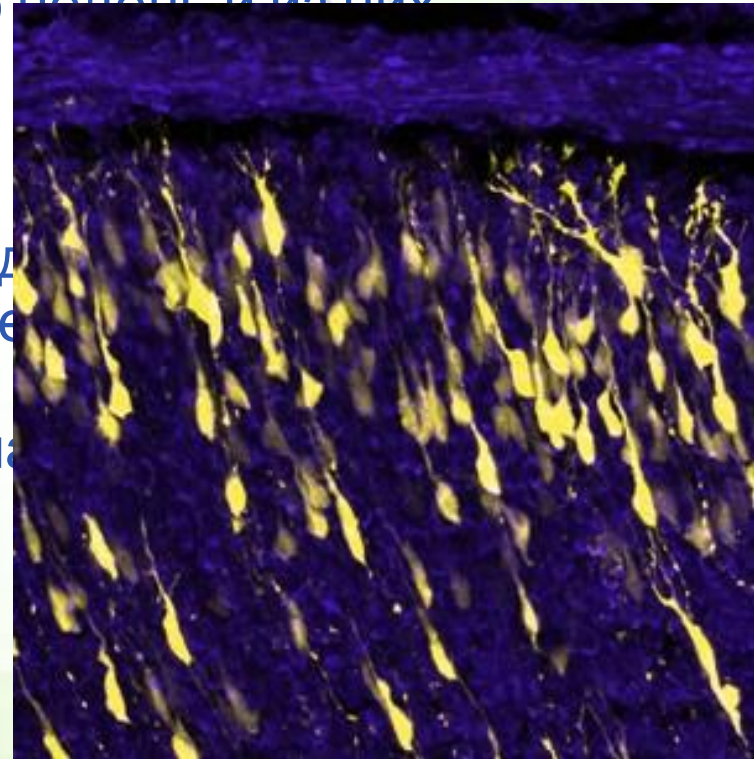
Характеристика культуры клеток и тканей

Культура клеток и тканей - метод длительного сохранения в жизнеспособном состоянии клеток, тканей, органов или их частей вне организма (*in vitro*). При культивировании клеток и тканей необходимым является создание условий, обеспечивающих питание, газообмен и удаление продуктов метаболизма, а также асептических условий.

Культуры животных клеток и тканей

Первые опыты по выращиванию животных клеток и тканей вне организма были сделаны в начале XX в. В 1907 американский учёный Р. Гаррисон поместив в каплю лимфы кусочек зачатка нервной системы зародыша лягушки, он выявил что клетки зачатка оставались живыми несколько недель и из них вырастали нервные волокна.

Культуру животных тканей применяют для изучения механизмов роста и дифференциации клеток, гистогенеза, межтканевых и межклеточных взаимодействий, обмена веществ и т. п.



Культуры животных клеток являются производителями многих клеточных продуктов, например, противовирусного агента интерферона. На них выращивают вирусы для их идентификации и получения вакцин.



Клеточные культуры часто применяются в тестировании и изучении механизма действия лекарственных и косметических средств, пестицидов, консервантов.

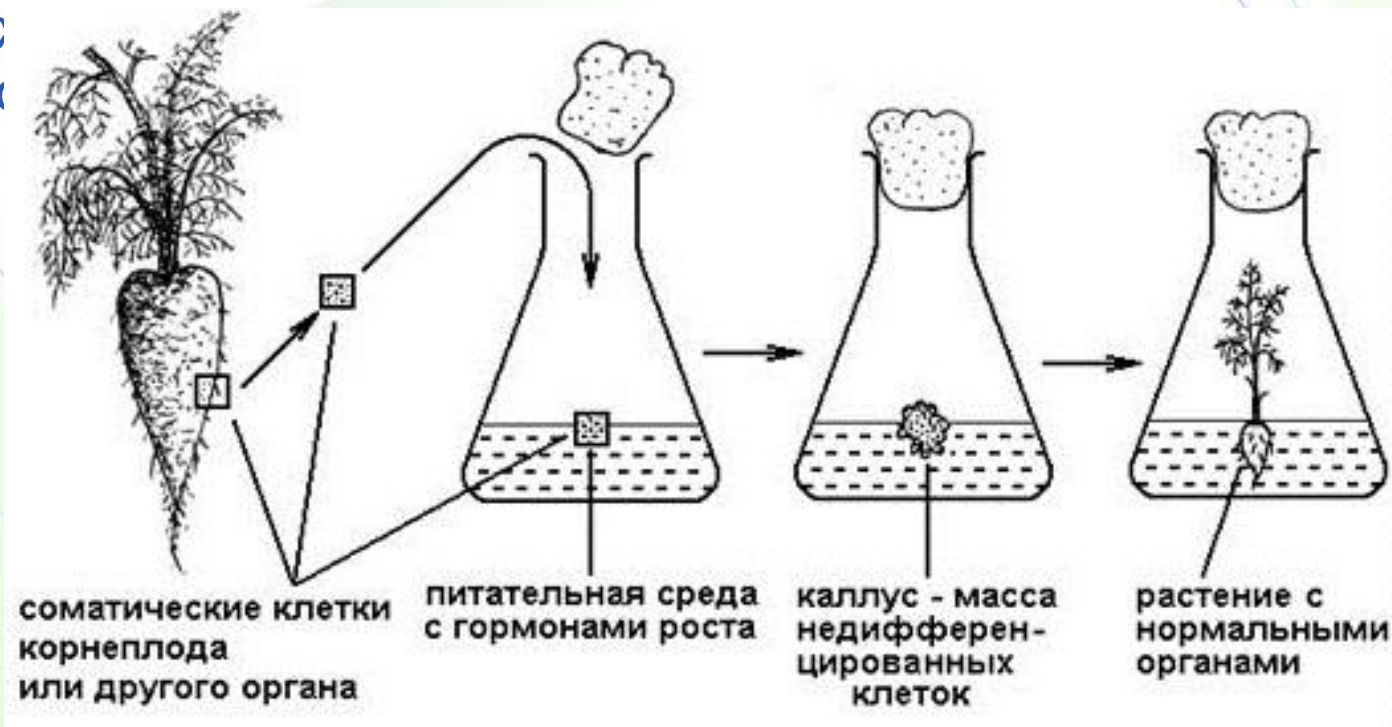


Культуры клеток и тканей растений

Появилась позднее – в 1958 г., но уже всего через 6 лет из единственной клетки, извлечённой из корня моркови, удалось в условиях культуры вырастить целое растение с дифференцированными тканями и органами.

Культивирование растительных клеток и тканей *in vitro* проводят на агаризованных либо жидких питательных средах,

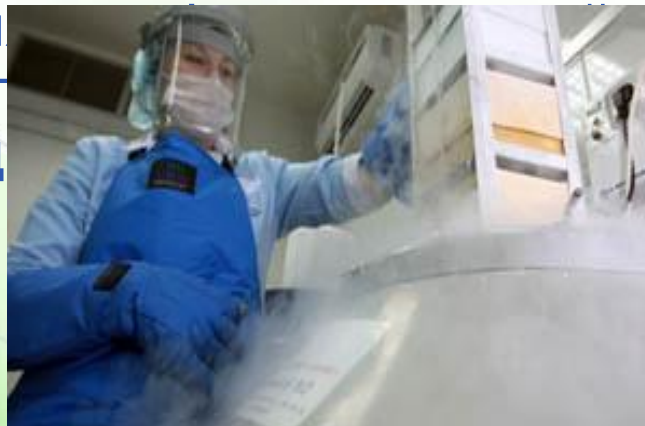
содержащих фитогормоны



Клетка из практически любой ткани растения, в отличие от животной клетки, способна в условиях *in vitro* к делению и дифференцировке с последующим формированием целого растения. Это направление широко применяется в селекции и биотехнологии. Культура клеток, тканей и органов растений используется для выращивания клеточной биомассы, прежде всего

лекарственных, с целью получения из нее ценных соединений, в генетико-селекционной работе для изучения фундаментальных проблем физиологии и генетики растений, фитопатологии, онтогенеза растений и др.

Для сохранения меристемных тканей используют криоконсервацию



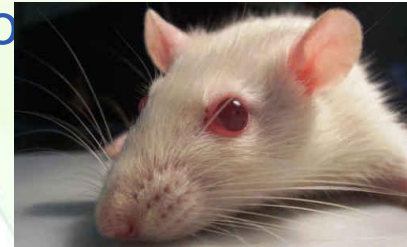
оздан
ловиях



усп
жив



Использование клеточных культур с
заменить опыты на лабо
следующим причинам:



1. Относительная дешевизна и доступность используемого материала, т.к. для выращивания клеточной культуры достаточно несколько животных, и полученная клеточная линия может использоваться в течение длительного периода в отличие от биомониторинга, в котором гибнут десятки и сотни животных.
2. Возможность быстрого получения результатов и возможность прижизненного наблюдения за моделью в течение всего эксперимента.
3. Высокая корреляция результатов *in vitro* и *in vivo*.

Клеточные культуры

```
graph TD; A[Клеточные культуры] --> B[Диплоидные (эмбриональные) культуры]; A --> C[Первичные культуры]; A --> D[Стабильные (перевиваемые) линии];
```

Диплоидные (эмбриональные) культуры- получаемые из эмбриональных тканей человека и животных, сохраняющие диплоидный набор хромосом до 50 пересевов.

Первичные культуры- могут быть получены практически из любого органа, однако даже при систематической смене питательной среды существуют лишь до первого пересева.

Стабильные (перевиваемые) линии- полностью адаптированные к существованию вне организма; их получают из нормальных и раковых тканей; размножаются неограниченно долгое время.

Культуры тканей могут подразделяться:

- по виду животного или растения, от которого они происходят
- по типу ткани-источника
- по состоянию ткани на момент извлечения (нормальные, опухолевые)
- по способу выращивания (монослойные, суспензионные, на микроносителях и т.п.)

В настоящее время практически любые клетки человека и животных могут быть введены в культуру и тем самым служить средством и объектом во многих медико-биологических исследованиях.

Наиболее часто культивируются следующие элементы:

- соединительной ткани – фибробласты, лимфоциты, моноциты, макрофаги;
- скелетной – кости и хрящи;
- мышечной – скелетные, сердечные и гладкие мышцы;
- эпителиальной – печень, легкие, кожа, мочевой пузырь, почки, молочная железа;
- нервной – глиальные клетки и нейроны (хотя они лишены способности к пролиферации);
- эндокринной системы – гипофиз, надпочечники, клетки островков

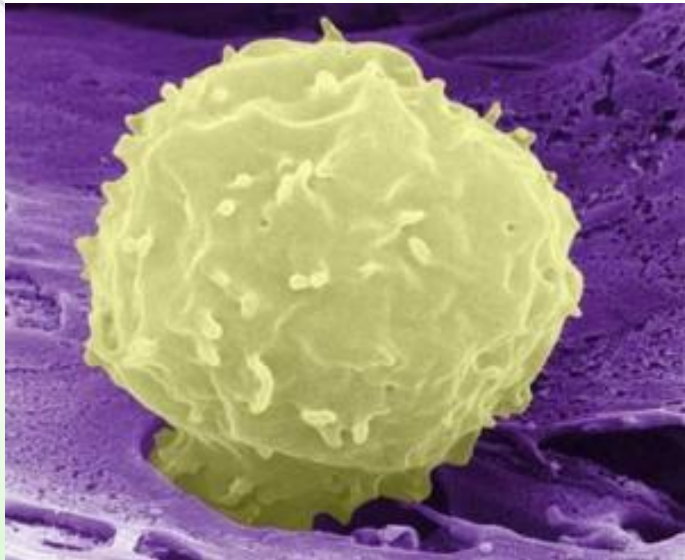
Возможности метода возросли после того, как научились
получать модифицированные



их

клетки из различных
обработки специальными
растворяющими

и



и

к,



е

Культуры клеток применяются для диагностики и лечения наследственных заболеваний, в качестве тест-объектов при испытании новых фармакологических веществ, а также для сохранения геноф исчезающих видов животных и растений.

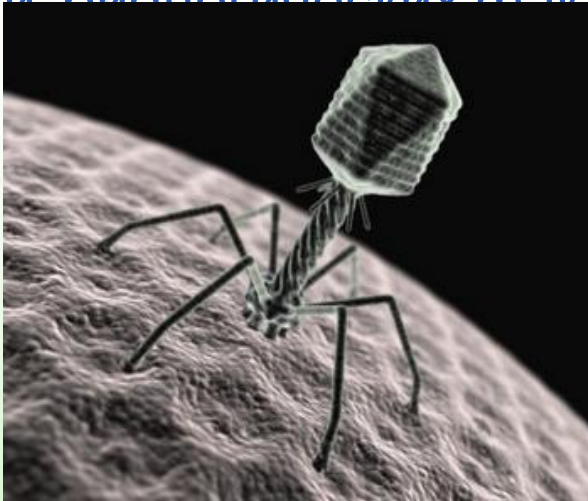


Клеточные культуры — прекрасный объект для изучения действия

физическ



и биологических факторов.



Таким образом, культура клеток и тканей применяется для решения как фундаментальных теоретических проблем (таких, напр., как клеточная дифференцировка), так и различных практических задач, особенно в области медицины. Клеточные культуры являются исходным материалом для создания клеток-продуцентов, используются в целях повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и для выведения новых сортов растений.



Культуры клеток и тканей в фармакологии

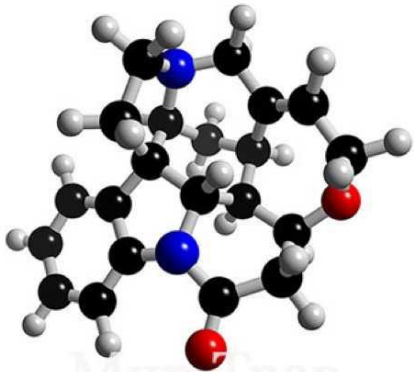
Применяются для изучения фармакологических свойств новых препаратов и прогнозирования безопасности их применения.

В фармакологических исследованиях в основном применяются культуры растительных клеток и тканей.

Растения с давних времен использовали не только в качестве источника питания, но и как поставщиков широкого набора химических соединений, включая лекарственные препараты, инсектициды, пищевые добавки, отдушки и красители.



Чаще всего основной интерес представляют *продукты вторичного метаболизма растений*. К веществам вторичного синтеза относят: алколоиды, стероиды, гликозиды, гормоны, и др.



Мир Трав

На выход вторичных продуктов в культурах растительных клеток влиятельны многие факторы, однако все способы регуляции вторичного метаболизма в культуре *in vitro* можно разделить на две группы: физиологические и генетические регуляции синтеза вторичных метаболитов. Знание этих закономерностей позволяет регулировать процессы получения ценных веществ.



В нашей стране заготавливаются десятки тысяч тонн ЛРС (лекарственные растительные средства). Однако потребность в БАВ (биологически активные вещества), содержащихся в растениях, с каждым годом возрастает, а природные запасы лекарственных растений снижаются. Указанные обстоятельства потребовали изыскания новых путей получения БАВ. Одним из них является принципиально новый метод получения этих веществ, основанный на использовании изолированных тканей и клеток в питательных средах.

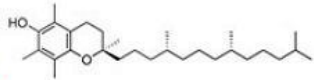
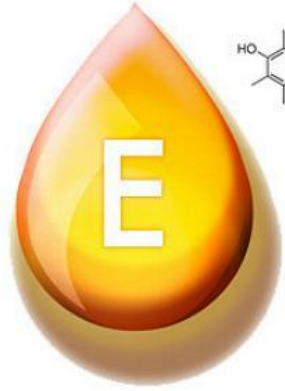


Доказано, что в этих условиях растительные клетки способны синтезировать различные БАВ подобно тому, как это происходит при выращивании самого растения.

Вещества, которые производит растение в природе, образуются в клеточной культуре, а некоторые из них — в больших количествах. Например, содержание сапонинов в

суспензионной культуре *Atragene speciosa* Weinm к 3-му поколению

Кроме того, клетки культуры тканей могут быть использованы для биотрансформации ряда БАВ. Все это дает возможность разработки технологии получения БАВ, обладающих различным фармакологическим действием.



уже получены стабильно растущие

растения, способные производить

физиологически активные

одобранные

условия для

их продукция

в клеточной

витамина E

тны г

уре тк

из л



Исследования в области культуры тканей и клеток различных растений проводятся в последние десятилетия во многих странах, особенно в США, Англии, Японии.

Основные направления исследований — получение штаммов культур лекарственных растений и скрининг выделяемых ими БАВ. полученных в условиях культуры тканей

растений, для выявления наиболее эффективных лекарственных веществ



В настоящее время получено более 30 видов различных изолированных клеточных культур лекарственных растений, продуцирующих БАВ либо на уровне соответствующего интактного растения, либо в количестве.

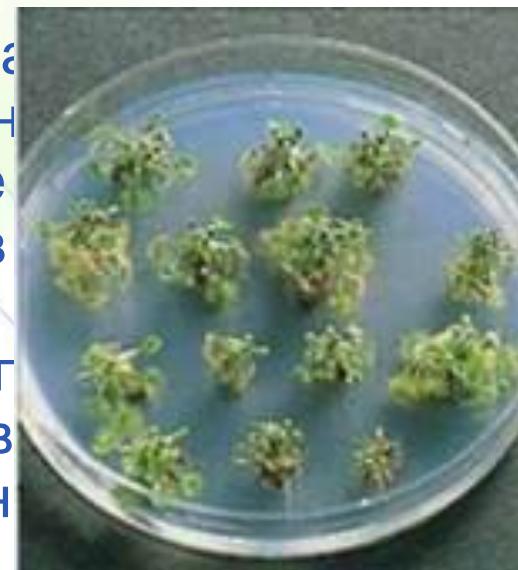
В настоящее время в клинической практике используются лекарственные средства, полученные на основе суспензионных культур клеток растений: шиконин (заболевания),

дигоксин (сердечно-сосудистые заболевания), берберин

(кишечные

(противозачаточное

(адаптогены,



Преимущества использования клеточных культур в фармакологии заключаются в следующем:

- Решается проблема дефицита исходного сырья, особенно ценных исчезающих видов растений, не поддающихся плантационному культивированию;
- Возможно получение фитомассы, полностью свободной от гербицидов, пестицидов, тяжелых металлов и др.;
- Имеется возможность получения новых веществ, не синтезируемых соответствующим целевым растением;
- Возможно управление биосинтезом целевых продуктов за счет условий культивирования, состава питательной среды и другими способами;
- Имеется возможность индустриализации и удешевления производства некоторых БАВ, синтез которых пока не разработан или очень дорог.

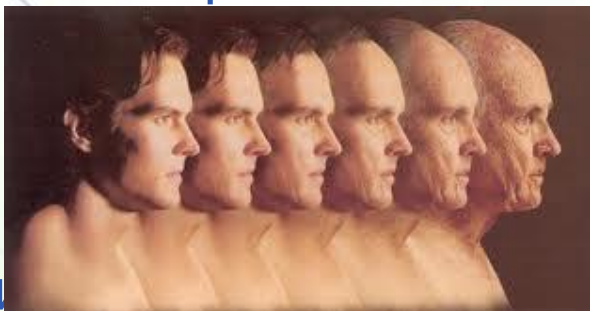
Культуры клеток и тканей в медицине

Представление о том, что клетки тканей можно выделить из организма и затем создать условия для роста и воспроизводства их возникла на базе концепции, принадлежащей Клоду Бернару: "Пробуждение уверенности, что животные живут в двух средах - milieu exterieur (внешняя среда), в которой существует организм и milieu interieur, в котором существуют тканевые элементы организма".

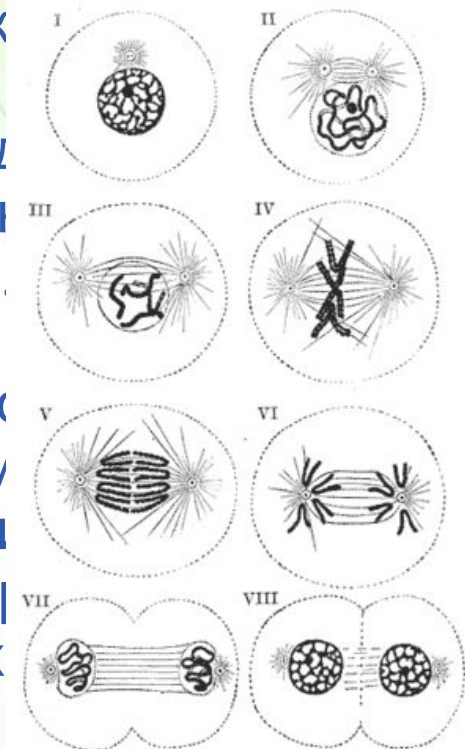


Впервые клоны клеток в культуре из одиночной клетки были получены Эрлом с сотрудниками в 1948 году. В настоящее время можно культивировать клетки практически всех тк

При культивировании частей органов выяснен ряд гистогенеза и генетических отношений между тка чувствительности их к разным воздействиям и др. и тканевые культуры используются для изучения закономерностей митоза и числа клеточных циклов у клеток разных типов и выяснения в связи с этим



«запрограммированного» процесса старения. Изучения механизмов клеточной



формирования

специализированных тканей и органов; при совместном культивировании влияния друг на друга клеток разных типов, а также для диагностики вирусов. Кроме того, они являются

субстратом для получения вакцин.

Клеточные и тканевые культуры позволяют исследовать такие важные для медицины проблемы, как перерождение нормальных клеток в опухолевые, всесторонние свойства, чувствительность клеток к физическим и химическим факторам

и факторам, а также определять потенциальную мутагенность и канцерогенность этих факторов, т. е. их способность вызывать мутации и о



Клеточные культуры служат также удобными объектами для изучения тканевой несовместимости и других иммунных реакций.

Совместное культивирование клеток разных



ной

соматических

привело к возникновению
важного раздела в
биологии – генетики

клет

гибр



Этот метод основан на слиянии совместно культивируемых клеток разных типов, образующих гибридные клетки со свойствами обоих родительских видов.

Для гибридизации могут использоваться клетки от людей, а также от человека и других животных.

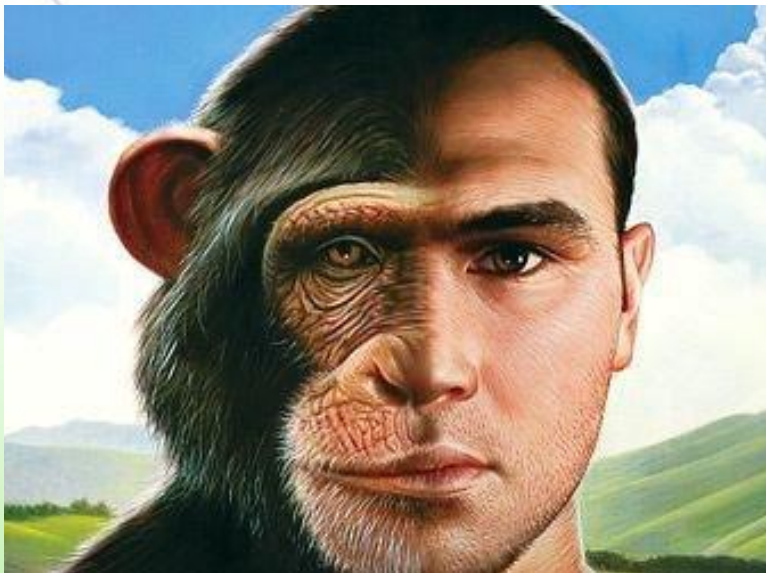
Гибридные клетки, содержащие два полных генома, при делении обычно «теряют» хромосомы предпочтительно одного из видов. Например, в гибридных клетках «человек-мышь» постепенно утрачиваются все хромосомы мыши

«человека» — все, кроме одной

хромосомы

сохраненной

хромосомы человека.



хромосом, что дает

Таким образом можно

желаемым набором

возможность изучать

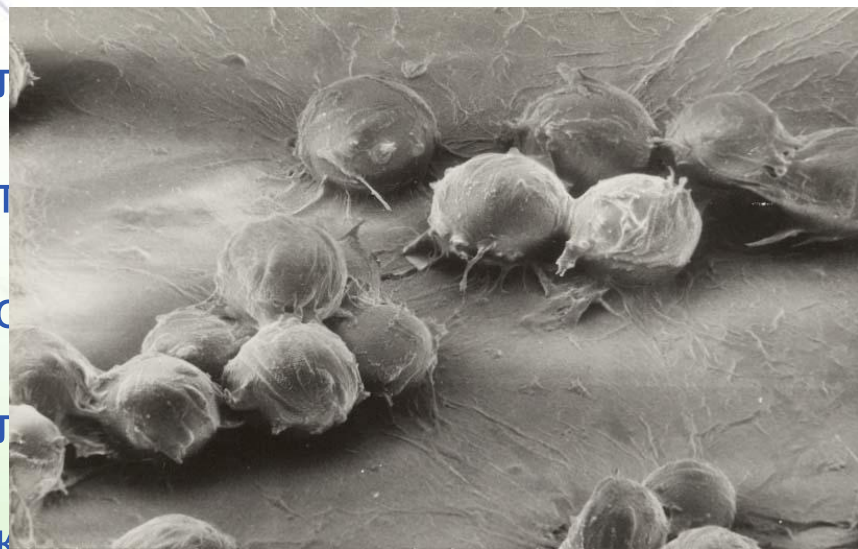
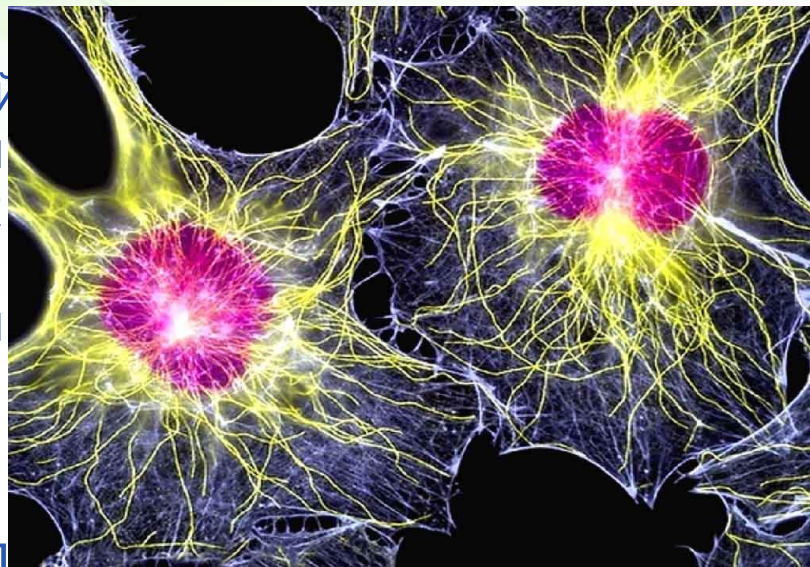
Методы культуры клеток нашли широкое применение для реконструкции различных тканей и органов. Так, культура клеток кожи используется для замест



На рис. лоскут эпидермальной ткани, выращенной из клетки кожи человека *in vitro*.

В последние годы стали активно изучать клетки (СК) как перспективный клеточный материал для трансплантации. *Плюри-* и *мультипотентность* стволовых клеток их идеальным материалом для трансплантационных методов клеточной терапии.

В настоящее время рассматриваются впечатляющие перспективы возможного применения уникальных свойств СК в клинической



костей и суставов. Наибольший

достигнут на сегодняшний день в

кого плана.

практике для

Широко

применения СК в

заболеваний

прогресс

Разработка методов длительного культивирования позволяет формировать банки клеточных линий, обладающих определёнными генетическими и био. На этой основе создаются методы криоконсервации (от греч. «криос» – холод) – сохранения в условиях глубокого охлаждения клеток, тканей и органов для трансплантации (пересадки), в качестве резервного генетического материала редких и исчезающих биологических видов, а также для других целей. С кон. 20 в. возникают банки, в которых хранятся замороженные клетки, используемые для лечения самых различных заболеваний.



используемые для лечения

Заключение

Главное преимущество культивируемых клеток, которое полностью используется исследователями, это возможность прижизненного наблюдения клеток с помощью микроскопа.

Культуры клеток представляют собой гомогенную генетически однородную популяцию клеток, растущих в постоянных условиях. Исследователь может изменять эти условия в определенных пределах, что позволяет ему оценивать влияние на рост клеток самых различных факторов - pH, температуры, концентрации аминокислот, витаминов, антропоэкологических факторов. Рост может быть оценен в течение короткого периода времени. Эти реальные преимущества по сравнению с исследованиями на животных, ставят клеточные культуры как экспериментальную модель в один ряд с культурами

Поскольку клетки в культуре легко доступны для различных манипуляций, то при работе с ними яды, гормоны, биостимуляторы, протекторы, вирусы и т.д. могут быть введены в заданной концентрации и в течение заданного периода времени. Концентрации этих агентов могут быть на порядок меньше, чем при эксперименте на животных. Исчезает необходимость учета метаболизма исследуемых соединений печенью, их экскреции почками, кумуляции в мышцах и жировой ткани.

В настоящее время методы клеточной биологии находят широкое применение в различных областях исследований. Их используют при решении таких проблем, как выяснение механизмов дифференцировки и пролиферации, взаимодействия клеток со средой, адаптации, старения, биологической подвижности, злокачественной трансформации и др. Культуры клеток и тканей растений являются источником синтеза веществ, необходимых для жизнедеятельности человека и позволяют решить проблему сохранения генофонда.

Применение стволовых клеток в различных областях медицины

Спасибо за

в

