

ВЛИЯНИЕ ММСК НА ОСНОВНЫЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕЛЕЗЕНКИ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ И ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ

Булмага И.И., Хрушев С.А.

ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России
Кафедра патологической физиологии
Россия, г.Екатеринбург

Контактный e-mail: igorek.om@mail.ru

Стволовые клетки, давно привлекают к себе повышенное внимание, как со стороны экспериментальных исследователей, так и практических врачей. Наибольший интерес для исследователей представляют мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК). ММСК широко исследуются, активно применяются в клинических испытаниях, поскольку их относительно легко выделить из аспирата костного мозга, они быстро образуют колонии и за 10 недель культивирования происходит до 50 удвоений популяции клона, полученного из одной клетки, однако множество вопросов относительно клеток *in vivo* по-прежнему остаются нерешенными.

Для ликвидации нежелательных проявлений при острой кровопотери, снижение реактивности организма, возможно использовать ММСК, которые забираются у индивидуума, выращиваются и дифференцируются в необходимые, а после вводятся обратно, это способствует ускорению продукции зрелых эритроцитов, что проявляется хорошей компенсацией острой кровопотери.

Потребность организма в мезенхимальных стромальных клетках (МСК) значительно изменяется с возрастом. Мезенхимальные ткани эмбриона формируются из предшественников, которые относительно плотно размещены в жидком экстраклеточном матриксе. По мере роста и развития организма клетки-предшественники дифференцируются. экстраклеточный матриксе уплотняется, соотношение клетки-матрикса в тканях изменяется от высокого до низкого и относительное количество МСК резко уменьшается. Этот процесс продолжается и в постнатальном периоде. Поэтому, если у ребенка до 5 лет с высоким содержанием МСК в организме поврежденная мезенхимальная ткань регенерирует, то в 20-летнем возрасте та же самая ткань репарируется в основном за счет образования фиброзного рубца. Из этого следует, что для регенеративной репарации мезенхимальных тканей требуется увеличение числа МСК в месте повреждения, что может быть достигнуто различными способами, в зависимости от возраста и состояния здоровья индивида.

Трансплантированные внутривенно ММСК в человека могут мигрировать через эндотелиальный барьер, несмотря на свои довольно крупные размеры, и приживаться в различных тканях, включая селезенку, тимус, сердце, мозг и легкие, не вызывая при этом иммунный ответ. Отсутствие иммунной реакции объясняется отсутствием у ММСК экспрессии антигенов HLA класса II.

Цель исследования - изучение влияния ММСК на основные морфометрические показатели селезенки в физиологических условиях и при острой кровопотере.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 28 белых лабораторных крысах-самцах возраста 6-8 месяцев, массой 200-250 г. Эксперименты по получению культуры ММСК выполнены на 8 лабораторных животных крысах-самцах возраста 3-4

месяца, массой 150 - 170 г, срок гестации 18 дней, в институте медицинских клеточных технологий СО ГУЗ.

Манипуляции с экспериментальными животными выполнялись в соответствии и положениями Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, методическими рекомендациями по их выведению из опыта и эвтаназии. Для изучения обзорной гистологической картины и морфометрического анализа во всех сериях экспериментов для исследования производилась аутопсия селезенки.

Лабораторные животные были разделены на две группы. Первая группа – лабораторные животные, не подвергшиеся воздействию экстремального фактора. Вторая группа - лабораторные животные, у которых была вызвана острая постгеморрагическая анемия.

В каждой группе были выделены две подгруппы: опытная и контрольная, в каждой из которых по 7 экспериментальных животных. Лабораторным животным опытной подгруппы в хвостовую вену вводились ММСК из расчета 6 млн. кл/кг, суспендированных в растворе хлорида натрия 0,9 % 0,5 мл. Лабораторным животным контрольной подгруппы в хвостовую вену вводился раствор хлорида натрия 0,9 % 0,5 мл. Массивную кровопотерю вызывали кровопусканием из хвостовой вены крысы в объеме 2 % от массы тела, что составляет 25 - 35 % от объема циркулирующей крови.

Результаты исследования и их обсуждение

В физиологических условиях на 5 сутки после трансплантации ММСК при определении диаметра лимфоидного фолликула, расстояния между центрами фолликулов селезенки, при подсчете апоптотического индекса клеток лимфоидных фолликулов, при подсчете общей клеточности красной пульпы, при определении содержания эритроцитов и лейкоцитов в красной пульпе не установлено достоверных отличий в опытной подгруппе относительно контроля [2,4].

На 5 сутки после острой постгеморрагической анемии (Таблица 1) в контрольной подгруппе при определении диаметра лимфоидных фолликулов установлено достоверное увеличение изучаемого показателя относительно контроля ($352,71 \pm 10,04$, $p < 0,05$). Этот эффект может быть обусловлен как повышением пролиферативной активности клеток фолликулов селезенки, так и усиленным хоумингом КОЕс в селезенку и последующим усилением экстрамедуллярного кроветворения.

При определении расстояния между центрами фолликулов, отмечено существенное увеличение сравниваемого показателя ($436,57 \pm 8,49$, $p < 0,05$) относительно интактных животных. Это увеличение обусловлено повышением клеточности красной пульпы, как за счет эритроидных элементов ($166,00 \pm 5,43$, $p < 0,05$), так и за счет клеток белой крови ($171,14 \pm 4,16$, $p < 0,05$). Выраженность апоптоза клеток лимфоидных фолликулов была существенно выше, по сравнению с контролем. Повышение запрограммированной гибели клеток может быть обусловлено выбросом в кровь гормонов первой и второй стадии стресса: катехоламинов и глюкокортикоидов соответственно.

Таблица 1.

Данные морфометрического исследования селезенки лабораторных животных в условиях острой постгеморрагической анемии.

	Диаметр лимфоидного фолликула, мкм	Расстояние между центрами фолликулов, мкм	АН клеток лимфоидных фолликулов, мкм	Общая клеточность красной пульпы в 0,01мм ²	Содержание эритроцитов в красной пульпе в 0,01мм ²	Содержание лейкоцитов в красной пульпе в 0,01мм ²
NaCl	352,71±10,04	436,57±8,49	3,14±0,78	317,57±9,92	166,00±5,43	171,14±4,16
ММСК	368,57±5,06	449,00±12,00	2,43±0,78	334,00±7,14	181,14±7,02	169,14±5,31

Выводы

1. Трансплантированные ММСК в физиологических условиях не приводят к изменению размеров фолликулов селезенки, не влияют на межфолликулярное пространство, запрограммированную гибель клеток в фолликулах селезенки, общую клеточность красной пульпы, а также на содержание эритроцитов и клеток белой крови в красной пульпе.

2. Трансплантированные ММСК при острой постгеморрагической анемии не приводят к изменению размеров межфолликулярного пространства, выраженности апоптоза, общей клеточности красной пульпы, содержания лейкоцитов в красной пульпе.

3. Трансплантированные ММСК при острой постгеморрагической анемии вызывают увеличение размеров фолликулов селезенки, а также повышение содержания эритроидных элементов в красной пульпе.

Литература

1. Волков А.В. Использование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для стимуляции регенерации. Материалы Artif Organs, 2004 год.

2. Huang Weitao. Интерлейкин-17 А: фактор роста Т-клеточного происхождения мезенхимальных стволовых клеток человека и мыши. Журн. «Физиологическая биология: молекулярная и клеточная иммунология» 2008 №9.

3. Leung V.Y., Chan D., Cheung K.M. Regeneration of the intervertebral disc by mesenchymal stem cells: potentials, limitations, and future directions. Eur. Spine J. 2006; 15: S406-13.

tations, and future directions. Eur. Spine J. 2006; 15: S406-13.

4. Richardson S.M., Hoyland J.A., Mobasheri R. et al. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: opportunities and challenges for articular cartilage and intervertebral disc tissue engineering. J. Cell. Physiol. 2010; 222(1): 23-32.

THE INFLUENCE OF MMSC ON THE MORPHOMETRIC FEATURES OF SPLEEN IN PHYSIOLOGICAL CONDITIONS AND IN THE CONDITION OF ACUTE BLOOD LOSS

Bulmaga I.I., Chrushev S.A.

Department of pathological physiology of the Ural State Medical Academy.

Russia, city Ekaterinburg

Stromal cells attract much attention from experimental investigators and from practical doctors. The most interesting one for the doctors are multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC). MMSC are widely investigated as they are easily extracted from the aspirate of bone marrow. They rapidly form a colony and in a period of 10 weeks cultivation 50 doubling of clone population from one cell takes place. MMSC are shown to differentiate in to osteoblasts, adipocytes, chondrocytes, myocytes, astrocytes, oligodendrocytes and neurons.

ИЗМЕНЕНИЕ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА И ГОРМОНАЛЬНОГО ФОНА В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ПОДКОРМКИ «БЕЛЫЙ ШЛАМ» В РАЦИОНЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Буханцев В.А., Ошурков П.А., Филимонова П.А.

*ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздрава России
Лаборатория молекулярных медицинских технологий Средне-Уральского научного центра РАМН
и Правительства Свердловской области
Кафедра медицинской биологии и генетики*

Контактный e-mail: oshurkov.p@gmail.com

В ранее выполненных исследованиях нами был показан стимулирующий эффект белого шлама (БШ) в отношении синтеза белка и, тем самым, способность активировать процессы, приводящие к клеточной гипертрофии, проявляющейся весовыми прибавками в группах опытных животных.

Наряду с этим продемонстрировано снижение проницаемости клеточных мембран для жирных кислот и глюкозы, что свидетельствует о повышении резистентности к глюкозе и активации процессов клеточного липолиза. В связи с этим, нами была предпринята попытка поиска дополнительного регуляторного звена БШ-обусловленных процессов.

С целью поиска возможного механизма, приводящего к гипертрофии, нами исследовался уровень соматотропного гормона (СТГ) как наиболее вероятного претендента на роль ключевого звена наблюдаемой картины благодаря

характерному липолитическому эффекту, сопровождающему СТГ-индуцируемую гипертрофию.

В то же время повышение молокоотдачи нельзя в полной мере объяснить СТГ-индуцируемой гипертрофией, для чего была предпринята попытка изучения параметров рецепторов к пролактину, как гормона, регулирующего лактацию.

Цель исследования - изучение состояния рецепторного аппарата клеток к соматотропному гормону (СТГ) и пролактину (ПЛ) в условиях применения белого шлама в качестве добавки в рацион сельскохозяйственных животных.

Материалы и методы исследования

Концентрацию СТГ определяли методом усиленной хемилюминесценции на аппарате «Amerlit» с использованием тест-системы фирмы Amersham Biosciences (UK).

Исследование проводилось на культуре стромальных механоцитов костного мозга КРС, выделенных на основа-