

бидно скомпрометированном по отношению к ЧМТ головном мозге при травматическом разрыве сосуда рядом с очагом бывшего ишемического инсульта или прямо в данном очаге формируется, как правило, большая внутримозговая гематома, что, разумеется, значительно осложняет течение патологического процесса и отягощает прогноз. Лечение здесь практически всегда хирургическое, затем – длительное долечивание в условиях стационара, и только потом – перевод на амбулаторное наблюдение и лечение. Показаны повторные реабилитационные курсы в условиях стационара, причем часто уже через 2-4 месяца после окончания первого срока госпитализации. Далее – повторные курсы лечебно-восстановительных мероприятий также в условиях стационара дважды в год.

Особым вариантом патологии, на наш взгляд, являются сочетания ишемического инсульта и ЧМТ, а также геморрагического инсульта и ЧМТ, происшедших одновременно или почти одновременно в период времени, отдаленный от первого ишемического инсульта. Как показала наша практика, подобного рода варианты травматическо-сосудистой или сосудистотравматической церебральной патологии, когда трудно определить, какая из двух нозологий предшествовала другой во времени, не единичны. Нами наблюдались 28 (16,1%) такого рода больных. Такой больной может быть доставлен в травматологическую клинику с улицы, из подъезда дома, после дорожно-транспортного происшествия без отчетливых указаний на детали происшедших событий, практически без анамнеза. При имеющихся внешних повреждениях диагноз ЧМТ, как правило, не оставляет сомнений, и только при тщательном обследовании с использованием нейровизуализационных методов определяется второй вариант нозологии – сосудистый. И здесь бывает очень и очень трудно определить как последовательность двух церебральных катастроф – травматической и сосудистой, так и приоритеты лечебной тактики в отношении каждого конкретного пациента.

Патогенетически взаимоотношения травматического и сосудистого процессов, развивающихся в головном мозге при ЧМТ, полученной после ишемического инсульта, представляются достаточно сложными, и самое неблагоприятное видится здесь в том, что известные сосудистые патогенетические моменты ЧМТ начинают активно воздействовать на уже пораженный ишемическим инсультом головной мозг. Совершенно понятно, что при этом в значительной степени увеличивается вероятность развертывания клинически тяжелой формы сочетанной церебральной патологии и неблагоприятного прогноза.

Известно, что с возрастом и по мере развития атеросклероза, артериальной гипертензии посттравматическая энцефалопатия постепенно «перерастает» в дисциркуляторную [1,2,4]. Но у нас на сегодняшний день нет данных о том, что дисциркуляторная энцефалопатия, тем более у лиц, уже перенесших ишемический инсульт, «перерастает» в посттравматическую после перенесенной в постинсультном периоде ЧМТ. Сосудистые нарушения, развивающиеся далее по хроническому варианту, являются во всех случаях абсолютно преобладающими, и это необходимо учи-

тывать при дальнейшем решении вопросов лечения, реабилитации. При успешном решении проблем консервативного или хирургического лечения в остром периоде ЧМТ сосудистая патология вновь выступает на первый план, и именно она требует дальнейших лечебно-восстановительных мероприятий. По отношению к стратегии и тактике ведения подобного рода больных это представляется очень важным, так как четко определяет приоритеты сосудистой патологии по отношению к травматической, но никак не наоборот даже в случаях достаточно тяжелых в клиническом отношении вариантов ЧМТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мякотных В.С. Патология нервной системы у ветеранов Афганистана. – Екатеринбург: УИФ «Наука», 1994. – 272 с.
2. Мякотных В.С. Патология нервной системы у ветеранов современных военных конфликтов. – Екатеринбург: Изд. УГМА, 2009. – 324 с.
3. Мякотных В.С., Спектор С.И. Травматические внутричерепные кровоизлияния у больных, перенесших ишемические инсульты // Мат. I съезда нейрохирургов Российской Федерации: Тезисы докладов. – Екатеринбург, 1995. – С. 106-107.
4. Мякотных В.С., Стариков А.С., Хлызов В.И. Нейрососудистая гериатрия. – Екатеринбург: УИФ «Наука», 1996. – 320 с.
5. Мякотных В.С., Чурсин С.А., Боровкова Т.А., Матвеева О.Н. Вопросы взаимоотношений ишемического инсульта и черепно-мозговой травмы у больных пожилого и старческого возраста // Успехи геронтологии. – 2007. – Т. 20, №4. – С. 83-88.
6. Cruz J. Brain ischemia in head injury // J. Neurosurg. – 1993. – Vol.78, N3. – P. 522-523.
7. Marmarou A. Traumatic brain edema: an overview [Review] // Acta Neurochir. Suppl. – 1994. – N60. – P. 421-424.

*А.П. Ястребов, И.Ю. Маклакова,
Д.Ю. Гребнев, С.Е. Емельянова*

ВЛИЯНИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПЛАЦЕНТЫ, НА РЕГЕНЕРАЦИЮ МИЕЛОИДНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Уральская государственная медицинская академия

В настоящее время остается актуальной проблема восстановления регенерации тканей в условиях воздействия ионизирующего излучения (ИИ), а ее успешное решение во многом зависит от поиска новых активных препаратов, способных усиливать тканевую регенерацию. В этом отношении наше внимание привлекает возможность использования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК).

ММСК обладают несколькими, отличными от основной популяции клеток, уникальными свойствами:

1. Они неспециализированы, т.е. не имеют тканеспецифичных структур, позволяющих выполнять специализированные функции [5, 7, 10].

2. Они способны к пролиферации, т.е. к длительному (по-видимому, больше продолжительности жизни человека) размножению и продукции большого (возможно, сколь угодно) числа клеток [1, 3, 8, 12].

3. Они способны к дифференцировке – процессу специализации клеток. Какие внешние и внутренние силы (или сигналы) дают толчок к началу дифференцировки, еще до конца не ясно. По-видимому, внутренние сигналы управляются генами клетки, а внешние – химическими веществами, выделяемыми другими клетками, а также некоторыми молекулами окружающей среды. Наиболее вероятно, что эти воздействия имеют информационный, а не физический, химический, средовой и т.п. характер [2, 4, 6, 9].

4. Одной из основных характеристик ММСК является способность к асимметрическому делению. В результате деления специализированных клеток образуются пары таких же клеток, полностью тождественных друг другу. А для ММСК это правило не обязательно: они могут делиться несимметрично – только одна дочерняя клетка идентична родительской и остается стволовой, другая претерпевает цепь превращений и становится специализированной [3, 11].

5. Попадая в организм при трансплантации, ММСК продолжают делиться и, как сейчас считается, сами находят место, где их помощь нужнее всего. Они продуцируют разнообразные биологически активные вещества, которые обновляют и регенерируют окружающие ткани [2, 4].

Классическим источником ММСК является костный мозг, но, наряду с ним, ММСК могут быть выделены и из других тканей: пуповинной крови, жировой ткани, тканей эмбриона, слизистой оболочки носоглотки, плаценты, плацентарной и пуповинной крови новорожденных. Фетальные органы являются наиболее богатыми источниками ММСК [6, 9, 11, 12]. Однако актуальным остается вопрос эффективного получения клеток с характеристиками ММСК из доступных источников, не связанных с этическими или иными ограничениями. В этом отношении особое внимание привлекает плацента. Из нее удается получить на порядок больше клеток, чем из других источников [8, 9, 11].

Все изложенное выше и позволило обосновать цель настоящего исследования – изучение влияния ММСК, выделенных из плаценты, на регенерацию миелоидной ткани в условиях воздействия ИИ.

Материалы и методы исследования

1. Получение культуры ММСК

Эксперименты проведены на 8 крысах линии Wistar, массой 150-170 г. Возраст животных к началу эксперимента составлял 3-4 мес.

Производилось выделение плаценты (срок гестации 18 дней), образец ткани массой 2 г трижды промывали физиологическим раствором, забуференным фосфатами (PBS) при pH 7.2, без ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , дополненным антибиотиками (пенициллин 50 ед/мл, стрептомицин 50 мкг/мл), после чего осуществлялось механическое измельчение ткани и энзиматическая обработка (0,25% трипсин – ЭДТА 15 мин при 37°C). Полученная суспензия клеток была дважды про- филь- трована через 100 мкм нейлоновую мембрану

для очистки от крупных не измельченных кусочков ткани. Суспензию разбавляли средой α -MEM, содержащей антибиотик, затем клетки осаждали центрифугированием в течение 15 мин при 1000 g. Полученный клеточный осадок суспендировали в среде α -MEM (ICN, США) с 10% сыворотки эмбрионов коров (Nuclope, Новая Зеландия), однократным раствором незаменимых аминокислот (Sigma, США) и однократным раствором антибиотиков (Chemicon). Суспензию клеток высевали в концентрации 150000-160000 кл/см² на чашки Петри 60 мм (Nunc, Дания).

1.1. Условия культивирования ММСК. Культивирование производилось при 37°C в увлажненной атмосфере с 5% CO₂.

1.2. Подсчет клеток.

Подсчет клеток производили в гемоцитометре. Расчет количества клеток в 1 мл суспензии производили по формуле: $X = a \cdot 10000$, где X – число клеток в 1 мл суспензии; а – сумма клеток в малых квадратах.

1.3. Субкультивирование ММСК.

Субкультивирование клеток осуществляли по достижении ими 80% монослоя. Клетки промывали смесью 0,25% трипсин – ЭДТА в соотношении 1:1, в которой клетки инкубировали около 5 мин при 37°C. Трипсин инактивировали добавлением ростовой среды с СЭК (10%), и центрифугировали суспензию при 200 g в течение 5 мин. Удалив супернатант, клетки суспендировали, производили подсчет и высевали в нужной концентрации (10000 кл/см²).

1.4. Характеристику культуры проводили с использованием набора первичных (Mesenchymal Stem Cell Characterization Kit Rat) и вторичных антител (secondary antibody Cy3 conjugated).

2. Моделирование экстремального воздействия

Эксперименты выполнены на 56 белых лабораторных крысах-самцах (возраста 6-8 мес, массой 200-220г). Животные содержались в стандартных условиях лабораторного вивария при естественном освещении и сбалансированном рационе. Изучалось воздействие ионизирующего излучения (ИИ) дозой 3 Гр (мощность поглощенной дозы 15 сГр/мин). Totальное облучение крыс осуществлялось однократно γ -излучением. В качестве источника γ -квантов был использован ⁶⁰Co. Контрольную группу составили животные, не подвергшиеся облучению. В каждой группе насчитывалось 14 крыс. Внутри группы было выделено 2 подгруппы по 7 животных в каждой.

Крысам парентерально производилось введение:

- животным первой подгруппы внутривенно вводилась суспензия ММСК 2 млн. клеток;
- вторая подгруппа крыс являлась контролем в каждой из групп, животным вводили физиологический раствор – 0,5 мл внутривенно.

Внутривенные введения осуществлялись через 1 час после облучения однократно в указанных выше дозах (таблица 1).

Морфологическое исследование крови и костного мозга.

Кровь для исследования брали у крыс из хвостовой вены. Подсчет количества лейкоцитов проводили в счетной камере Горяева (Кост Е.А., 1975).

Таблица 1

Доза ИИ	Препарат	Путь введения	Доза препарата	Время проведения аутопсии органов	
				24 часа	7 суток
0 Гр	ММСК	в/в	2 млн. кл. в 0,5 мл физ. раствора.	7 шт.	7 шт.
	NaCl	в/в	0,5 мл	7 шт.	7 шт.
3 Гр	ММСК	в/в	2 млн. кл. в 0,5 мл физ. раствора.	7 шт.	7 шт.
	NaCl	в/в	0,5 мл	7 шт.	7 шт.

При определении числа ретикулоцитов их подсчитывали в окрашенных бриллиант – крезил – блау мазках крови на 2000 эритроцитов.

Мазки периферической крови окрашивали по Романовскому. Подсчет лейкоцитарной формулы проводили на 200 клеток.

Для исследования морфологии костного мозга его извлекали из бедренной кости. Были изготовлены цитологические препараты костного мозга, окрашенные азур II – эозином для анализа миелограммы, а также по Паппенгейму (для выявления микроядер в ретикулоцитах). Подсчет миелограммы производили на 1000 клеток.

При анализе миелограммы учитывались следующие индексы:

1. Костномозговой индекс созревания нейтрофилов (ИСН):

$ИСН = (\text{промиелоциты} + \text{миелоциты} + \text{метамиелоциты}) / (\text{палочкоядерные} + \text{сегментоядерные})$.

2. Индекс созревания эритробластов (ИСЭНБл):

$ИСЭНБл = (\text{полихроматофильные} + \text{оксифильные нормобласты}) / (\text{эритробласты} + \text{пронормобласты} + \text{полихроматофильные} + \text{оксифильные нормобласты})$.

3. Гранулоцитарно- эритроидное соотношение (ГЭС):

$ГЭС = (\text{миелобласты} + \text{промиелоциты} + \text{миелоциты} + \text{метамиелоциты} + \text{палочкоядерные} + \text{сегментоядерные}) / (\text{эритробласты} + \text{пронормобласты} + \text{полихроматофильные} + \text{оксифильные нормобласты})$.

Определяли общее количество миелокариоцитов в костном мозге бедренной кости (Груздев Г.П., 1965).

Показатели микроядерного теста (МЯТ) рассчитывали как отношение числа ретикулоцитов с микроядрами к 1000 подсчитанных ретикулоцитов (Методические рекомендации по оценке мутагенной активности химических веществ микроядерным тестом подготовлены Всесоюзным научно-исследовательским институтом дезинфекции и стерилизации Министерства здравоохранения СССР, М., 1984).

Цитологические препараты костного мозга и периферической крови анализировали с помощью микроскопа Micros MC-50 при увеличении 100*15.

Методы статистической обработки полученных результатов. Для каждого ряда значений показателя вычисляли среднюю арифметическую, стандартную ошибку среднего. Достоверность отличий между подгруппами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

На первые сутки после введения ММСК в физиологических условиях при подсчете миелограммы выявлено: активность эритропоэза и гранулоцитопоэза статистически не отличалась от контроля. Индексы, характеризующие процессы созревания эритронобластов и гранулоцитов, соответствовали контрольным значениям.

В подгруппе лабораторных животных, не подвергшихся воздействию ИИ, на первые сутки после введения ММСК при подсчете числа митозов в клетках эритроидного дифферона, подсчете числа митозов в клетках гранулоцитарного дифферона не установлено значимого влияния на пролиферативную активность. Анализируя данные микроядерного теста, не выявлено мутагенного действия ММСК, так как количество ядер соответствует спонтанному уровню мутагенеза. При подсчете ретикулоцитов периферической крови (ПК), подсчете лейкоцитарной формулы, установлено содержание клеток соответствующее значениям нормы.

Данные миелограммы на первые сутки после введения ММСК лабораторным животным, подвергшимся воздействию ИИ дозой 3 Гр., свидетельствуют об увеличении содержания промиелоцитов ($1,72 \pm 0,52\%$, $p < 0,05$) после введения ММСК, по сравнению с контрольной группой. Однако общая активность гранулоцитопоэза и эритропоэза достоверно не отличалась от активности соответствующих дифферонов в контрольной подгруппе (таблица 2).

По данным периферической крови на 1 сутки у лабораторных животных, не подвергшихся воздействию ИИ, после введения ММСК не выявлено достоверных отличий в показателях лейкоцитарной формулы и в содержании ретикулоцитов от данных контрольной подгруппы. Тогда как после воздействия ИИ наблюдалось снижение общего содержания гранулоцитов, лимфоцитов, моноцитов (таблица 3).

Анализируя данные микроядерного теста у лабораторных животных без воздействия ИИ на фоне введения ММСК установлено, что уровень мутагенной активности в миелоидной ткани соответствовал СУМ. Следует отметить, что на фоне введения ММСК после воздействия ИИ установлено снижение количества цитогенетически измененных клеток на 1 сутки относительно контрольной подгруппы (МЯТ: $10,17 \pm 1,58\%$, $p < 0,05$) (таблица 6).

Таблица 2

Показатели миелограммы лабораторных животных на 1 сутки после введения ММСК, $M \pm m$, $n = 7$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток без воздействия ИИ, %	Содержание клеток на фоне воздействия ИИ в дозе 3 Гр, %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$2,3 \pm 0,80$	$0,47 \pm 0,20^*$
	промиелоциты	$2,9 \pm 0,98$	$1,72 \pm 0,52^{**}$
	миелоциты	$12,5 \pm 2,53$	$5,78 \pm 1,58^*$
	метамиелоциты	$12,3 \pm 3,80$	$5,88 \pm 1,31^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$34,2 \pm 6,78$	$23,17 \pm 4,60^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$34,2 \pm 6,78$	$0,68 \pm 0,38$
Все гранулоцитарные элементы (Гр.эл.)		$68,6 \pm 4,85$	$37,70 \pm 4,80^*$
Эритробласты		$1,07 \pm 0,76$	$0,53 \pm 0,30$
Нормобласты	базофильные	$2,93 \pm 1,71$	$0,97 \pm 0,37^*$
	полихроматофильные	$16,7 \pm 5,72$	$6,70 \pm 1,97^*$
	оксифильные	$5,1 \pm 2,38$	$2,08 \pm 0,88^*$
Все эритроидные элементы (Эр.эл.)		$25,8 \pm 8,00$	$10,28 \pm 1,88^*$
Лимфоциты		$9,2 \pm 3,73$	$4,32 \pm 1,42^*$
Моноциты		$2,7 \pm 1,13$	$1,00 \pm 0,57^*$
Прочие		$3,64 \pm 1,03$	-
Индекс созревания эритронормобластов		$0,8 \pm 0,07$	$0,85 \pm 0,05$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$3,1 \pm 1,04$	$3,80 \pm 0,67$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,9 \pm 0,29$	$0,65 \pm 0,23$
Митотический индекс эритроидного дифферона (МИ эр.д.), %		$5,5 \pm 1,50$	$2,37 \pm 0,90^*$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона (МИ гр.д.), %		$4,7 \pm 1,43$	$1,98 \pm 0,58^*$

Примечание:

* - отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$;** - отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $p < 0,05$.

Таблица 3

Показатели периферической крови лабораторных животных на 1 сутки после введения ММСК, $M \pm m$, $n = 7$

Название клеточных элементов	Содержание клеток без воздействия ИИ, %	Содержание клеток на фоне воздействия ИИ в дозе 3 Гр, %
Ретикулоциты, %	$3,5 \pm 2,17$	$2,82 \pm 0,72$
Гранулоциты, %	$25,2 \pm 5,50$	$19,0 \pm 2,67^*$
Лимфоциты, %	$65,5 \pm 8,83$	$45,83 \pm 3,83^*$
Моноциты, %	$8,0 \pm 2,67$	$6,0 \pm 1,67^*$

Примечание: * - отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$.

Анализируя данные миелограммы у лабораторных животных на 7 сутки после введения ММСК, без воздействия ИИ, установлено увеличение содержания базофильных ($5,87 \pm 1,14\%$, $p < 0,05$) и полихроматофильных ($25,6 \pm 5,52\%$, $p < 0,05$) нормобластов. Это нашло свое отражение в увеличении пролиферативной активности (МИ гр.д.: $10,4 \pm 3,01$, $p < 0,05$), увеличении общего содержания эритроидных элементов (Эр.эл.: $40,3 \pm 6,47$, $p < 0,05$). Не выявлено по сравнению с контрольной подгруппой изменения активности гранулоцитопоза, что отразилось в снижении показателя ГЭС ($1,7 \pm 0,34$, $p < 0,05$). Анализируя данные микроядерного теста у лабораторных животных на 7 сутки после введения ММСК, выявлено, что уровень мутагенной активности не отличался от значений нормы. По данным периферической крови выявлено увеличение содержания ретикулоцитов, не

отмечено достоверных изменений показателей гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов.

Изучая данные миелограммы на 7 сутки после введения ММСК у лабораторных животных, подвергшихся воздействию ИИ дозой 3,0 Гр., установлено, что на фоне введения ММСК произошло восстановление содержания также как и в контрольной подгруппе миелобластов, промиелоцитов. Также выявлено увеличение содержания метамиелоцитов ($8,15 \pm 1,70\%$, $p < 0,05$), палочкоядерных и сегментоядерных форм нейтрофилов ($29,13 \pm 4,17\%$, $p < 0,05$). Кроме того, отмечено увеличение эозинофилов всех генераций ($0,90 \pm 0,27\%$, $p < 0,05$). Это нашло свое отражение в увеличении общего содержания гранулоцитов по сравнению с контрольной подгруппой (Гр.эл.: $49,68 \pm 4,74\%$, $p < 0,05$).

Таблица 4

Показатели миелограммы лабораторных животных на 7 сутки после введения ММСК, $M \pm m$, $n = 7$

Наименование клеточных элементов		Содержание клеток без воздействия ИИ, %	Содержание клеток на фоне воздействия ИИ в дозе 3 Гр, %
Нейтрофильные клетки	миелобласты	$1,4 \pm 0,85$	$1,05 \pm 0,25^*$
	промиелоциты	$2,1 \pm 0,95$	$2,23 \pm 0,66$
	миелоциты	$10,7 \pm 2,38$	$8,22 \pm 1,75$
	метамиелоциты	$11,5 \pm 3,20$	$8,15 \pm 1,70^*$
	палочкоядерные и сегментоядерные	$35,3 \pm 6,68$	$29,13 \pm 4,17^*$
Эозинофилы (всех генераций)		$3,5 \pm 2,10$	$0,90 \pm 0,27$
Все гранулоцитарные элементы (Гр.эл.)		$64,4 \pm 7,93$	$49,68 \pm 4,74^*$
Эритробласты		$1,30 \pm 0,43$	$0,52 \pm 0,25$
Нормобласты	базофильные	$5,87 \pm 1,14^*$	$2,07 \pm 1,23$
	полихроматофильные	$25,6 \pm 5,52^*$	$8,67 \pm 1,82$
	оксифильные	$7,6 \pm 3,12$	$3,15 \pm 1,35$
Все эритроидные элементы (Эр.эл.)		$40,3 \pm 6,47^*$	$14,40 \pm 2,27^*$
Лимфоциты		$8,5 \pm 3,95$	$6,50 \pm 2,37$
Моноциты		$2,9 \pm 1,22$	$0,90 \pm 0,37$
Прочие		$3,89 \pm 1,27$	$4,33 \pm 0,45$
Индекс созревания эритронормобластов		$0,8 \pm 0,05$	$0,82 \pm 0,10$
Гранулоцитарно-эритробластическое отношение		$1,7 \pm 0,35^*$	$3,60 \pm 0,63$
Индекс созревания нейтрофилов		$0,8 \pm 0,17$	$0,70 \pm 0,16$
Митотический индекс эритроидного дифферона (МИ эр.д.), %		$10,4 \pm 3,01^*$	$4,38 \pm 1,32$
Митотический индекс гранулоцитарного дифферона (МИ гр.д.), %		$4,9 \pm 1,45$	$4,03 \pm 1,0$

Примечание:

* - отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$.

Таблица 5

Показатели периферической крови лабораторных животных на 7 сутки после введения ММСК, $M \pm m$, $n = 7$

Название клеточных элементов	Содержание клеток без воздействия ИИ, %	Содержание клеток на фоне воздействия ИИ в дозе 3 Гр, %
Ретикулоциты, %	$6,0 \pm 2,33^*$	$2,83 \pm 0,83^* **$
Гранулоциты, %	$24,8 \pm 5,17$	$22,5 \pm 3,50^* **$
Лимфоциты, %	$63,8$	$63,5 \pm 6,83$
Моноциты, %	$9,50 \pm 2,0$	$6,83 \pm 1,50^{**}$

Примечание:

* - отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$.

** - отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $p < 0,05$.

Таблица 6

Показатели мутагенной активности (МЯТ) гемопоэтических клеток костного мозга у лабораторных животных после введения ММСК, $M \pm m$, $n = 7$

Срок забоя	Содержание клеток без воздействия ИИ, %	Содержание клеток на фоне воздействия ИИ в дозе 3 Гр, %
1 сутки	$4,00 \pm 1,00$	$10,17 \pm 1,58^* **$
7 сутки	$4,17 \pm 1,22$	$5,15 \pm 1,22^{**}$

Примечание:

* - отличие от группы интактных животных (контрольная группа), достоверно с $p < 0,05$.

** - отличие от подгруппы интактных животных (контрольная подгруппа), подвергшихся воздействию ИИ дозой 3 Гр, достоверно с $p < 0,05$.

Анализируя данные эритроидного роста, следует отметить, что также как и в контрольной подгруппе произошло восстановление содержания эритробластов и базофильных нормобластов. Кроме того, наблюдается увеличение содержания полихроматофильных ($8,67 \pm 1,82\%$, $p < 0,05$) и оксифильных ($3,15 \pm 1,35\%$, $p < 0,05$) нормобластов по сравнению с контрольной подгруппой. Описанные изменения отразились в повышении активности эритроидного дифферона (Эр.эл.: $14,40 \pm 2,27\%$, $p < 0,05$). Показатель ГЭС был ниже значений нормы, что свидетельствует о стимуляции преимущественно эритроидного роста. При подсчете микроядер в ретикулоцитах выявлено снижение уровня образования цитогенетически измененных клеток (МЯТ $5,15 \pm 1,56\%$, $p < 0,05$) и данный уровень соответствовал СУМ (таблица 4).

По данным периферической крови у лабораторных животных, не подвергавшихся воздействию ИИ, на фоне введения ММСК на 7 сутки увеличение содержания ретикулоцитов ($6,0 \pm 2,33\%$, $p < 0,05$). Тогда как после воздействия ИИ также как и в контрольной подгруппе произошло восстановление содержания лимфоцитов, а также установлено увеличение количества ретикулоцитов ($2,83 \pm 0,83\%$, $p < 0,05$), гранулоцитов ($22,50 \pm 3,50\%$, $p < 0,05$) и моноцитов ($6,83 \pm 1,50\%$, $p < 0,05$) (таблица 5).

Анализируя данные микроядерного теста у лабораторных животных, подвергшихся воздействию ИИ, на 7 сутки после введения ММСК выявлено снижение индуцированной мутагенной активности, что привело к восстановлению уровня цитогенетически измененных клеток до значений нормы (МЯТ $5,15 \pm 1,22\%$, $p < 0,05$). При этом без воздействия ИИ при подсчете микроядер в ретикулоцитах не выявлено существенных изменений изучаемого показателя относительно контроля и данный уровень соответствовал СУМ (таблица 6).

Выводы

1. Внутривенное введение суспензии ММСК лабораторным животным на 1 сутки в физиологических условиях не приводит к изменению активности эритро- и гранулоцитопоза, а также не вызывает изменения количества цитогенетически измененных клеток в миелоидной ткани.

2. Внутривенное введение суспензии ММСК лабораторным животным на 1 сутки в условиях воздействия ИИ приводит к снижению индуцированного мутагенеза.

3. Внутривенное введение суспензии ММСК лабораторным животным на 7 сутки в физиологических условиях оказывает стимулирующее действие на эритропоз.

4. Внутривенное введение суспензии ММСК лабораторным животным на 7 сутки в условиях воздействия ИИ оказывает стимулирующее действие на эритропоз, гранулоцитопоз, снижает индуцированный мутагенез.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оганесян Т. Клетки свободной специализации. // Эксперт. - 2002. - №26 (333).
2. Репин В.С. Праматерь всех клеток // Наука и жизнь. - 2001. - №10.
3. Ростовская С.З., Шарифуллина С.З., Чупикова Н.И., Тепляшин А.С. Выделение мезенхимальных стволовых клеток из плаценты человека и их характеристика. // Международный симпозиум по биологии клетки в культуре «Стволовые клетки, регенерация, клеточная терапия». - СПб, Россия. 2004.
4. Смирнов В.Н. Восстановительная терапия будущего // Наука и жизнь. - 2001. - №8.
5. Сухих Г.Т. Трансплантация фетальных тканей и клеток: настоящее и будущее // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1998. - №126 (приложение 1). - С.3-13.
6. Тепляшин А.С., Ростовская М.С., Коржилова С.В., Чупикова Н.И., Шарифуллина С.З., Васюнина Н.Ю. Плацента как источник получения клеток с фенотипом, подобным мезенхимальным стволовым клеткам. // I-й всероссийский научный форум «Инновационные технологии в медицине XXI века. Медицина 2005 г.». - Москва, Россия, 12-15 апреля 2005 г.
7. Aggarwal S., Pittenger M.F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. Blood. 2005; 105: 1815-22.
8. Caplan A.L., Dennis J.E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. J. Cell Biochem. 2006; 98:1076-84.
9. Dazzi F., Ramasamy R., Glennie S. et al. The role of mesenchymal stem cells in haemopoiesis. Blood Rev. 2006; 20: 161-71.
10. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy 2006; 8: 315-7.
11. Le Blanc K., Tammik C., Gutherstrum C. et al. HLA - expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. Exp.hematol. 2003; 31:890-6.
12. Pittenger M. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999; 284:143-7.