

УДК: **616.36-004-006.3:602.9**

Год издания: **2012**

## **Оценка миграционных способностей экзогенных мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальном циррозе печени**

Лызиков А.Н., Скуратов А.Г., Кондрачук А.Н., Петренев Д.Р., Ачинович С.Л., Воропаев Е.В., Осипов Б.Б.

**Рубрики:** 34.03.35, 34.03.37, 76.29.46

Гомельский государственный медицинский университет

**Тема НИР:** «Разработать и внедрить клеточные технологии для оптимизации репаративных процессов поврежденного железистого эпителия и сосудистых компонентов органов»

**Сроки выполнения НИР:** январь 2011 г. — декабрь 2013 г.

**Научный руководитель:** д-р мед. наук, проф. А.Н. Лызиков

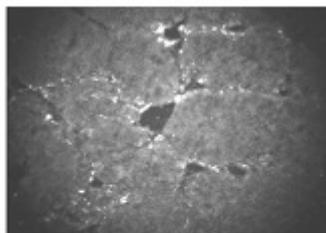
**Источник финансирования:** госбюджет.

*Цель:* провести оценку миграционной активности мезенхимальных стволовых клеток (МСК), введенных в организм лабораторных животных с экспериментальным циррозом печени.

Объектом исследования явились лабораторные крысы линии Wistar. Экспериментальный токсический постнекротический цирроз печени моделировали путем внутрибрюшинного введения 50%-го раствора CCl<sub>4</sub> на оливковом масле из расчета 1 мл на кг массы тела животного 2 раза в неделю в течение 2 мес. Для потенцирования развития цирроза печени вместо питьевой воды давали 5%-й раствор этанола. МСК выделяли из жировой ткани и культивировали по стандартной методике. МСК отмечали флуоресцентным красителем PKH67. Подготавливали взвесь МСК в концентрации 1 млн клеток в 1 мл и однократно вводили крысам различными путями: внутривенно в боковую хвостовую вену, внутрипортально в селезенку, внутрипеченочно, внутрибрюшинно. Крыс выводили из эксперимента через 1 и 5 сут. Из органов животных (печень, селезенка, легкое, почка, сердце) изготавливали криосрезы, изучали на флуоресцентном микроскопе NIKON Eclipse E200.

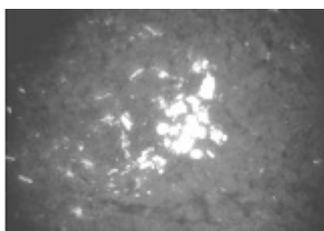
При изучении криосрезов в режиме флуоресцентной микроскопии в органах были обнаружены очаги яркой желто-зеленой флуоресценции размером с клеточные элементы (предположительно МСК), преимущественно локализованные в печени и селезенке. В других органах (почки, легкие, миокард) изредка наблюдались единичные очаги сомнительно позитивной флуоресценции. Причем здоровая печень контрольных крыс не накапливала флуоресцентные очаги, лишь только пораженная фиброзным процессом. При этом выявлена неодинаковая концентрация очагов в печени и селезенке при различных путях введения МСК.

В цирротической печени крыс через 1 сут наибольшая концентрация очагов флуоресценции отмечена при внутриселезеночном пути введения; на 5-е сут наибольшая концентрация ярких меток выявлена при внутривенном, внутрипеченочном и внутрибрюшинном способах введения взвеси МСК без статистически значимых различий между ними; наименьшая концентрация — при внутриселезеночном введении. Число позитивных очагов флуоресценции варьировало от 39 до 161 в поле зрения  $\times 100$ . Они располагались преимущественно перипортально, местами диффузно проникали в дольки, по септам. У здоровых крыс контрольной группы в печени редко наблюдались очаги сомнительно-позитивной флуоресценции.



**Рис. 1. Флуоресцентная микроскопия криопрепарата печени крысы с ЦП на 1-е сут после внутриселезеночного введения МСК (объектив  $\times 10$ ).  
Перипортально расположенные флуоресцентные очаги**

Второй «мишенью» для флуоресцентных клеток явилась селезенка. Очаги преимущественно локализовались вокруг центральной артерии в фолликулах белой пульпы (от 9 до 80 меток в одной фолликуле), в красной пульпе (от 6 до 65 меток), реже — по ходу селезеночной вены. Количество очагов в одном поле зрения ?100 варьировало от 28 (1-е сут внутрипеченочного введения МСК здоровой крысе) до 250 (5-е сут внутривенного введения крысе с ЦП).



**Рис. 2. Флуоресцентная микроскопия криопрепарата селезенки крысы с ЦП на 5-е сут введения МСК (объектив  $\times 40$ ). Флуоресцентные очаги в красной пульпе**

Динамика накопления очагов зависела от пути введения МСК. При внутривенном способе введения плотность очагов флуоресценции в поле зрения  $\times 100$  увеличивалось с 48 в 1-е сут до 147 на 5-е сут у здоровых крыс и с 42 до 250 соответственно у крыс с ЦП. При внутриселезеночном введении отмечалась тенденция к уменьшению плотности флуоресценции к 5-м сут со 110 до 58 у крыс с ЦП.

Таким образом, была выявлена специфическая флуоресценция клеточных очагов в селезенке и цирротической печени при всех испытанных путях введения МСК. В печени наибольшая концентрация очагов флуоресценции на 1-е сут отмечена при внутриселезеночном введении, уменьшаясь к 5-м сут в 2–3 раза. При внутривенном, внутрипеченочном и внутрибрюшинном способе введения МСК напротив концентрация флуоресцентных меток увеличивалась с 1 до 5-х сут в 3–5 раз при отсутствии статистически значимых различий между ними. В селезенке флуоресцентные очаги локализовались вокруг центральной артерии в фолликулах белой пульпы, в красной пульпе, реже — по ходу селезеночной вены. Наибольшая концентрация флуоресцентных меток в 1-е сут отмечена при внутриселезеночном введении МСК, к 5-м сут уменьшаясь у животных с ЦП в 2 раза. При других способах введения к 5-м сут отмечалось увеличение плотности очагов специфического свечения в 3–5 раз, наибольшее значение отмечено при внутривенном введении МСК у животных с ЦП. Необходимо продолжить исследования, подтверждающие специфичность флуоресценции в органах и присутствие в них МСК, а также оценить дальнейшую миграционную активность и хоуминг МСК.

**Область применения:** клеточная трансплантология, регенеративная медицина.

**Рекомендации по использованию:** полученные результаты могут применяться в практике научных исследований в лабораториях, занимающихся культуральными клеточными технологиями, в фундаментальных и прикладных исследованиях в области клеточной

трансплантации, регенеративной медицины.

**Предложения по сотрудничеству:** совместные исследования в области разработки и применения клеточных технологий в трансплантологии.