

Е. С. Третьяк

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА УРОВЕНЬ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ТРАВМЕ БРЮШИНЫ

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. А. В. Жура,

2-я кафедра хирургических болезней

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В хронических опытах на крысах была разработана модель повреждения париетальной брюшины. Было установлено, что в раннем периоде после операции при применении мезенхимальных стволовых клеток в 7% альгинатном гидрогеле снижается воспалительный ответ. Эта тенденция прослеживается и в поздние сроки.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, альгинатный гидрогель, воспалительный ответ, эксперимент на крысах

Resume. The experimental model of parietal peritoneum trauma was developed in experiments on rats. It was shown that mesenchymal stem cells in 7% alginate hydrogel decreased the inflammatory response as in early as in late period.

Keywords: mesenchymal stem cells, alginate hydrogel, inflammatory response, experiment on rats

Актуальность. Использование стволовых клеток для лечения некоторых заболеваний - это новые возможности в медицине. Стволовые клетки представляют собой класс недифференцированных клеток, которые способны дифференцироваться в специализированные типы клеток. Выделяют эмбриональные, фетальные и взрослые стволовые клетки. В последнее время жировая ткань была идентифицирована как источник мезенхимальных стволовых клеток (МСК) у взрослых[1]. Важными свойствами стволовых клеток являются их местное регуляторное и противовоспалительное действие, способность накапливаться в очаге поражения и улучшать регенерацию повреждений [3].

Цель: оценить в эксперименте действие аллогенных МСК на величину воспалительной реакции при травме париетальной брюшины.

Задачи:

1. Разработать экспериментальную модель повреждения париетальной брюшины для оценки воспалительного ответа и регенеративных процессов.
2. Выявить особенности воспалительного ответа при аппликации на дефект брюшины мезенхимальных стволовых клеток в 7% альгинатном гидрогеле
3. Оценить результаты, полученные в эксперименте

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 46 белых лабораторных крысах. Под тиопенталовым наркозом животным выполняли лапаротомию и наносили травму париетальной брюшины путем ее иссечения диаметром около 2 см. Животным основной группы (n=27) на дефект брюшины наносили культуру аллогенных мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани, подготовленную заранее, на носителе[5][7]. Стволовые клетки подготавливали следующим образом:

- Забор жировой ткани передней брюшной стенки с последующей фрагментацией
- Ферментативная обработка 0,75% раствором коллагеназы
- Отмывание и центрифугирование клеточной суспензии

- Культивирование в среде DMEM Дульбекко до 3-4 пассажа [2]

В качестве матрикса для трансплантации использовали 7% альгинатный гидрогель [4][6].

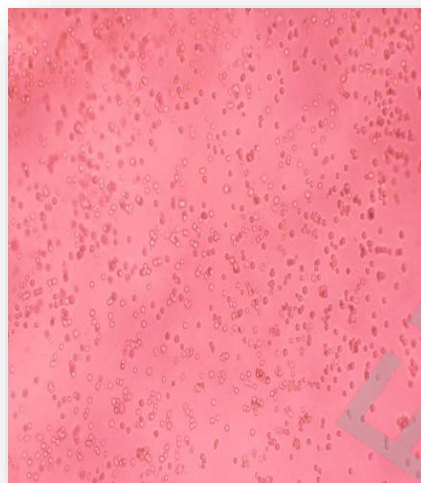


Рисунок 2 – Распределение клеточной культуры в 7% альгинатном гидрогеле, ув. $\times 100$

Животным группы сравнения ($n=13$) проводили аппликацию только геля без добавления стволовых клеток. Для оценки воспалительного ответа организма на травму определяли биохимические показатели крови: ИЛ-6, ИЛ- 1β , ФНО- α , трансформирующий фактор роста (TGF). Забор крови выполняли в два временных периода: 6-8 сутки – ранний, 14-17 сутки – поздний период (рисунок 1).



Рисунок 1 – Нанесение 7% альгинатного гидрогеля на дефект брюшины

Результаты и их обсуждение. В ранний срок при применении МСК отмечается более низкий уровень всех провоспалительных медиаторов (ИЛ-6=2,2 пг/мл; ИЛ-

$1\beta=22$ пг/мл; ФНО- $\alpha=2,5$) по сравнению с животными группы сравнения. Также отмечен более высокий уровень трансформирующего фактора роста, что говорит об ускорении репарации повреждения (TGF=79,5 нг/мл в основной и 70,5 нг/мл в контрольной группе). В поздний срок показатели воспаления практически сравниваются в обеих группах, но в группе сравнения сохраняется более высокий уровень ИЛ-6 (3,95 пг/мл) по сравнению с основной (2 пг/мл), что говорит о продолжающемся воспалении. При этом в поздний срок уровень трансформирующего фактора роста у группы с применением МСК ниже, вследствие более быстрого заживления дефекта.

Выводы:

Применение МСК снижает воспалительный ответ в ранний период после травмы париетальной брюшины. Процессы репарации при этом проходят более активно и заканчиваются в более ранние сроки. Противовоспалительное действие МСК сохраняется и в более поздний период. Поэтому может быть перспективным применение МСК с целью профилактики спаек брюшины при ее травме.

E. Tretiak

THE INFLUENCE OF MESENCHYMAL STEM CELLS TO INFLAMMATORY RESPONSE IN A TRAUMA OF PARIETAL PERITONEUM

Tutor: PhD, associate professor A. Zhura

2nd department of surgical diseases

Belarusian State Medical University, Minsk

Литература

1. Клеточные технологии для регенеративной медицины / под ред. Г.П. Пинаева, М.С. Богдановой, А.М. Кольцовой. – СПб. : Изд-во Политехн. ун-та, 2011. – 333с.
2. Лабораторный регламент по наращиванию культуры мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани крыс / Авторы: С. И. Третьяк, А.В. Жура, В.Я. Хрыщанович, Ж.А. Ибрагимова, Т.С. Колесникова, Е.В. Ходосовская; Разработчик: Лаборатория биохимических методов исследования НИЧ БГМУ, 2016 – 4 с
3. Морфологические признаки эффективности применения мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани в комплексном лечении длительно незаживающих инфицированных ран в эксперименте / С.И. Третьяк, Недзведь М.К., Сахаб Х.А., Баранов Е.В., Лобанок Е.С., Василевич И.Б., Бутько Л.В., Слабко И.Н. // Военная медицина. – 2012. – №1. – С. 122-124.
4. Alginate-chitosan/hydroxyapatite polyelectrolyte complex porous scaffolds: Preparation and characterization / J. Han [et al.] // Int J Biol Macromol. – 2010. – Vol. 46. – P. 199-205.
5. Comparison of cecal abrasion and multiple-abrasion models in generating intra-abdominal adhesions for animal studies / M. Oncel, F.H. Remzi, J. Connor, V.W. Fazio // Tech Coloproctol. – 2005. – Vol.9. – P. 29-33.
6. Shapiro, L. Novel alginate sponges for cell culture and transplantation / L. Shapiro, S. Cohen // Biomaterials. – 1997. – Vol.18. – P. 583-590.
7. In search of the best peritoneal adhesion model: comparison of different techniques in a rat model / S.H. Whang [et al.] // J Surg Res. – 2011. – Vol.167. – P. 245-250.