

И.А. Герасимович

**СПОСОБНОСТЬ НАТИВНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ
КЛЕТОК ОКАЗЫВАТЬ ЛЕЧЕБНЫЙ ЭФФЕКТ НА ТЕЧЕНИЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СЕПСИСА У КРЫС**

Научный руководитель: канд. мед. наук К.И. Павлов

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

I.A. Herasimovich

**THE ABILITY OF NATIVE MESENCHYMAL STROMAL CELLS
TO EXERCISE A THERAPEUTIC EFFECT ON THE COURSE
OF EXPERIMENTAL SEPSIS IN RATS**

Tutor: PhD K.I. Pavlov

Department of Microbiology, Virology, Immunology

Belarussian State Medical University, Minsk

Резюме. В эксперименте над крысами с пролонгированным экспериментальным сепсисом был выявлен достоверный терапевтический эффект нативных МСК на системы лейкоцитов, тромбоцитов и весовые коэффициенты внутренних органов.

Ключевые слова: сепсис, мезенхимальные стромальные клетки, крысы.

Resume. In experiments on prolonged sepsis model rats, a reliable therapeutic effect of native MSCs on the systems of leukocytes, platelets and weight coefficients of internal organs was discovered.

Keywords: sepsis, mesenchymal stem cells, rats.

Актуальность. Сепсис – генерализованная патология, развивающаяся как осложнение многих заболеваний инфекционной природы. Характеризуется полиэтиологичностью, тяжелым течением и летальностью свыше 20% [1]. Одним из перспективных методов лечения сепсиса является терапия с помощью инъекций мезенхимальных стромальных (стволовых) клеток (МСК) [2]. МСК рассматривается как альтернатива антибиотиков в связи с их антибактериальным действием в отношении патогенных бактерий, в том числе антибиотикорезистентных, при этом не наблюдается отрицательное влияние на нормальную микрофлору кишечника [3].

Цель: исследовать способность МСК оказывать лечебный эффект на тяжесть течения сепсиса, через иммуносупрессивное воздействие в отношении гипервоспаления, развивающегося в процессе бактериемии, эндотоксинемии, индуцированного «цитокинового шторма» и ожидаемой полиорганной недостаточности [4, 5].

Задачи:

1. Охарактеризовать изменения биомаркеров периферической крови (общий анализ крови, уровень цитокинов TNF- α и IL-6, общий анализ мочи), системы гемостаза, весовых коэффициентов внутренних органов при сепсисе и после лечения нативными МСК.

2. Провести сравнения показателей между группами, не получавшими лечение и группой с лечением нативными МСК.

3. Прогнозировать эффективность лечения сепсиса активированными МСК.

Материалы и методы. При моделировании сепсиса у самцов крыс Wistar был выбран способ введения липополисахарида (ЛПС) *Escherichia coli* O26. Дизайн исследований с использованием лабораторных животных был одобрен Комитетом по биомедицинской этике БГМУ (протокол № 6 от 20.03.2024). Осуществлялись трехкратные инъекции ЛПС (1-ая инъекция – внутривенно на 1 сутки; 2 и 3 инъекции – внутрибрюшинно на 3 и 5 сутки в суммарной дозе 7,5 мг/кг). Восемь крыс использовались в качестве контроля (экспериментальная группа «без лечения»). Двенадцати лабораторным животным (экспериментальная группа «с лечением») на 7 сутки от первой инъекции ЛПС внутривенно вводили 1 млн. крысиных МСК/животное (клеточный материал был предоставлен РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий). На 14 сутки от первой инъекции ЛПС выполнялось вскрытие крыс с последующим патоморфологическим исследованием внутренних органов, их весовых коэффициентов, изучением гематологических, иммунологических показателей и показателей гемостаза.

Результаты и их обсуждение. На основе серии экспериментов сделана обобщённая характеристика пролонгированного течения экспериментального сепсиса у крыс. У всех лабораторных животных были зафиксированы основные признаки генерализованной инфекции, включавшие клинические признаки интоксикации, патоморфологические изменения во внутренних органах, изменение показателей гемостаза и крови. Совокупность рассматриваемых патологических изменений во время пролонгированного экспериментального сепсиса у самцов лабораторных крыс Wistar соответствовала полиорганной недостаточности. Индуцируемая бактериемия приводила к поражению внутренних органов (лёгкие, печень, сердце, селезёнка, почки), которое наблюдалось как в выраженных патоморфологических изменениях, так и увеличении относительной массы (весового коэффициента) данных внутренних органов. Наиболее интенсивные признаки поражения внутренних органов отмечались в лёгких. У лабораторных животных течение сепсиса сопровождается признаками иммунотромбоза, ОРДС и, как следствие, высокой смертностью (22,2%).

Результаты оценки последствий введения МСК, несмотря на не изменившийся уровень гибели, выявили общую положительную динамику в состоянии испытуемых крыс. Наблюдалось сдержанное улучшение патоморфологической картины печени, селезенки, легких.

«Леченная» группа имела незначительное повышение абсолютного показателя нейтрофилов и относительного показателя моноцитов, что нужно рассматривать как нормализация достоверно отрицательных значений групп без лечения. Нормализация так же коснулась характеристик лейко- и лимфоцитов, у последних – как абсолютного, так и относительного их числа. Отдельно можно выделить сохранившуюся, но уменьшающуюся достоверную эозинофилию как признак реконвалесценции после перенесенного инфекционного заболевания, а не продолжающегося патологического процесса.

В процессе лечения группы все показатели тромбоцитов либо остались на уровне нормы определенной подготовительной группой (абсолютное количество тромбоцитов, MPV, PCT, PDWcv, PLC-C), либо незначительно понизились.

В моче группы с лечением зафиксировано полное отсутствие форменных элементов крови, что также можно считать терапевтическим действием МСК.

Были получены уточненные данные по особенностям терапевтического эффекта нативных и активированных МСК на селезенку при моделировании экспериментального сепсиса. Иммуномодулирующий эффект МСК костномозгового происхождения на процесс апоптоза лимфоидных клеток селезенки крысы зависит от ряда факторов: соотношения МСК и спленоцитов, присутствия растворимых факторов, наличия экстраклеточных везикул и секреторной активности различных субпопуляций МСК (МСК I и МСК II типа).

Секреторная активность МСК зависит от модуляции их антигенного репертуара при стимулировании индукторами, запускающими TLR3 и TLR4 пути, активацию протеинкиназы C либо Ca^{2+} –зависимый путь. Иммуномодуляция является динамичным процессом, который зависит от взаимодействия МСК с их микроокружением. При культивировании в присутствии тесных межклеточных контактов, растворимых и внеклеточных факторов происходит наиболее интенсивное взаимодействие клеток и наблюдается синергизм при взаимодействии МСК и спленоцитов. В наибольшей степени запускают некроз и поздний апоптоз моноклеарных клеток селезенки крыс активация МСК с использованием ФМА, в наименьшей степени – ЛПС и Poly I:C.

Исследования показали, что внутривенное введение нативных МСК крысам в количестве 1 млн. клеток/животное на 7 сутки течения пролонгированного экспериментального сепсиса не снижало уровень органной патологии у лабораторных животных, одновременно не приводя к ухудшению показателей анализа крови, мочи относительно группы «без лечения».

Выводы:

1. МСК должны рассматриваться как один из способов терапии генерализованных инфекций. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о эффективности и безопасности применения нативных МСК.
2. На основании результатов других исследований предполагается, что активированные МСК обладают ещё более выраженным терапевтическим эффектом.

Литература

1. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the global burden of disease study/ Kristina E Rudd [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 18, №395. – P:200–211.
2. CD146+ Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Exhibit High Immunomodulatory Activity and Therapeutic Efficacy in Septic Mice / Lin Zhang [et al.] // Journal of Inflammation Research. – 2023. – № 16. – P. 579–594.
3. Association between admission systemic immune–inflammation index and mortality in critically ill patients with sepsis: a retrospective cohort study based on MIMIC–IV database / Jiang D. [et al.] // Clin Exp. Med. – 2023. – Vol. 23. – P. 3641–3650.
4. Identification of clinically significant cytokine signature clusters in patients with septic shock / Jack O Zhao [et al.] // Critical care medicine. – 2023. – Vol. 51, №12. – P:253–263.
5. Inflammatory mediators of cytokines and chemokines in sepsis: from bench to bedside / Zuleyha Doganyigit [et al.] // Human & Experimental Toxicology. – 2022. – Vol.41. – P: 1–11.