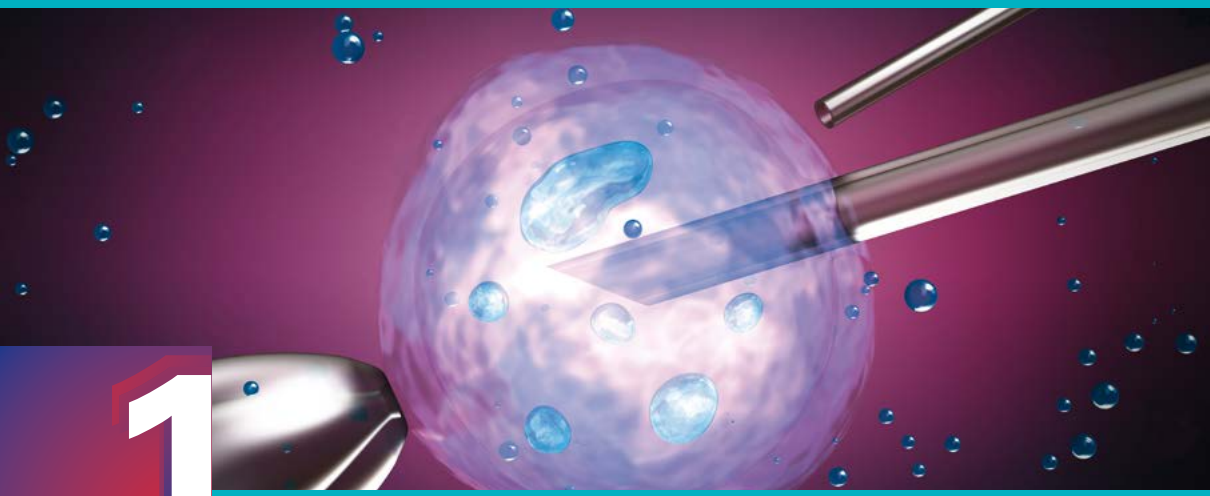
НАЦИОНАЛЬНОЕ ОБЩЕСТВО РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

- Министерство здравоохранения Российской Федерации
- Национальное общество регенеративной медицины
- ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ



1 Национальный Конгресс

ПО РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Материалы Конгресса

Москва
4–6 декабря, 2013

1-й Национальный Конгресс по регенеративной медицине

МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА
М., 2013 – 325 с.

4–6 декабря 2013 года
г. Москва

ISBN 978-5-906484-05-5
© «МЕДИ Экспо», 2013

BONE REPLACEMENT MATERIAL BASED ON LOW TOXIC ALTERNATIVES TO (METH)ACRYLATES

Husár B.[1], Samusjew A.[1], Mautner A.[1], Heller C.[1,2], Varga F.[3], Koch T.[2], MacFelda K.[4], Russmüller G.[5], Stampfl J.[2], Liska R.[1]

1 – Institute of Applied Synthetic Chemistry, Vienna University of Technology, Austria, tel. +43158801163301
branislav.husar@tuwien.ac.at
2 – Institute of Materials Science and Technology, Vienna University of Technology, Austria
3 – Ludwig Boltzmann Institute of Osteology, Vienna Hanusch-Hospital, Austria
4 – Institute of Biomedical Research, Medical University Vienna, Austria
5 – Department of Cranio- Maxillofacial and Oral Surgery, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

Introduction. The fabrication of 3D scaffolds by additive manufacturing represents an appealing approach in bone tissue engineering. However, state-of-the-art monomers for photopolymerization – acrylates and methacrylates – are cytotoxic. Therefore, (meth) acrylate-based monomers were replaced by vinyl esters and vinyl carbonates with exceptionallow cytotoxicity.

Results and discussion. In vitro cytotoxicity studies with osteoblast-like cells proved that vinyl esters and vinyl carbonates are 1 order of magnitude less cytotoxic than methacrylates and 2–3 orders of magnitudeless cytotoxic than acrylates. Photoreactivity of these monomerslies between those of acrylates and methacrylates that is sufficiently photoreactive. By addition of thiols to these monomers, curing speed can be significantly improved. Rates of degradation and mechanical properties can be tuned over a broad range. All polymers were significantly stiffer than PCL, being almost as stiff as PLA. Degradation of the polymers results in the formation of non-toxic poly(vinyl alcohol) oflow molecular weight that can be easily transported within the human body. Finally, in vivo testing proofed a good biocompatibility of these materials.

Conclusion. Vinyl carbonates and vinyl esters have been demonstrated to be good alternatives to (meth)acrylates for making 3D scaffolds used in bone tissue engineering. Acknowledgment. B.H. wouldlike to thank the European Commission for providing financial support to the project VINDOBONA (No. 297895) in the framework of Marie Curie IEF.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ ФОН ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ И ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ЕГО ДИНАМИКУ ПРИ МЕСТНОЙ ТЕРАПИИ

Абдувосидов Х.А., Матвеев Д.В., Семенов С.В., Снигоренко А.С., Ломакин А.А.

ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования;
Московский клинический научно-практический центр ДЗМ

Цель исследования. Улучшить результаты лечения трофических язв в фазе воспаления у больных ХВН СЕАР 6 класс.

Материал и методы. Нами проведен анализ лечения 47 больных ХВН, осложненной трофической язвой. Первую группу составили 17 пациентов, у которых использовалось местное применение геля Пронтосан, во вторую группу вошли 16 пациентов, которым использовали воздействие импульсного высокоинтенсивного оптического облучения (ИВОО) аппаратом Биоквант (МГТУ им. Н.Э. Баумана) с последующим применением геля Пронтосан, и в третью контрольную группу мы включили 14 больных, которым для местного лечения использовали 1% раствор хлоргексидина. В целях контроля эффективности лечения учитывали данные бактериологического исследования.

Результаты. До лечения площадь язвенных дефектов составила 26,0 см^2. Язвенные дефекты представляли собой вялогранулирующие раны с обширными участками налета фибрина. Бактериологические исследования язв выявили рост патогенной микрофлоры у всех пациентов более чем 10^7КОЕ, при этом у 35-х больных язвенная поверхность была заселена более чем тремя видами бактерий. Основным возбудителем инфекции в язвенном дефекте были золотистый стафилококк и синегнойная палочка. При спектральном анализе выявлена ассоциация как грамотрицательной, так и грамположительной флоры, таких как ассоциация стафилококков с синегнойной палочкой или с протеем и кишечной палочкой. У многих ассоциаций микроорганизмов выявлена стойкая резистентность к антибиотикам. Бактериологический контроль на 7-е сутки выявил во второй группе больных полную деконтаминацию раневой поверхности. У других больных отмечено уменьшение контаминации в среднем: до 10^4КОЕ первой группы и до 10^6КОЕ в третьей группе. На 21 сутки полная деконтаминация раневой поверхности выявлена у больных первой и второй групп, у больных третьей группы микробная контаминация снижена до 10^4.

Заключение. Таким образом, применение ИВОО при помощи отечественного аппарата Биоквант в комбинации с местным применением Пронтосан в лечении венозных язв в фазе воспаления на фоне комплексной медикаментозной терапии способствует ранней полной санации раны, что приводит к раннему улучшению репаративных процессов в зоне язвы, купированию воспалительных процессов. Все это позволяет добиться большей клинической эффективности лечения язв венозной этиологии и улучшает качество жизни больных.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЛАЗМЫ КРОВИ И РАНЕВОГО ЭКССУДАТА В ДИНАМИКЕ ЗАЖИВЛЕНИЯ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ

Абдувосидов Х.А., Матвеев Д.В., Вавилова Т.П., Островская И.Г., Ломакин А.А.

ГБОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова;
ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования;
Московский клинический научно-практический центр ДЗМ

Актуальность. Наиболее частым осложнением хронической венозной недостаточности (ХВН) является развитие трофических язв. Наиболее активно рост численности больных с ХВН происходит среди лиц пожилого и старческого возраста.

Цель исследования. Изучить динамику заживления трофической язвы по показателям плазмы крови и раневого экссудата.

Материалы и методы. У 50 пациентов старше 60 лет были отобраны образцы плазмы крови и раневого экссудата до и после лечения трофических язв. Основной группе (ГО) (n=28) применяли препарат Имунофан, для местного лечения препарат Пронтосан, и в последующие дни до выписки липосомально-антиоксидантный комплекс Фламена. У пациентов (n=22) группы сравнения (ГС) для местного лечения в течение 7–10 дней применяли 1% раствор Хлоргексидина, а после мазь Левомиколь. В плазме крови и раневом экссудате иммуноферментным методом определяли количество интерлейкина-1b (ИЛ-b), фактора некроза опухоли-а (ФНО-а) в пг/мл до и через 15 дней после лечения.

Результаты. При исследовании плазмы крови до лечения у всех пациентов отмечены высокие показатели ФНО-а до 16,2±2,98 пг/мл. На 15-е сутки количество ФНО-а в ГО достоверно понижалось до 9,2±2,28 пг/мл, а в ГС до 13,2±2,64 пг/мл. Содержание ИЛ-1b в плазме крови в группах не определялось до и после лечения. В раневом экссудате до лечения у всех пациентов показатели ФНО-а превышали норму и составили 9,40±3,76 пг/мл, количество ИЛ-1b превышало нормальные показатели боле чем в десять раз, до 179±34,1пг/мл. На 15-е сутки в ГО показатели ФНО-а снижались до 5,6±2,12 пг/мл, а ИЛ-1b до 54,4±12,0 пг/мл. В ГС количество ФНО-а снизились незначительно до 8,4±2,4 пг/мл, а ИЛ-1b до 112±10,2 пг/мл.

Выводы. Проведенное исследование доказало, что применяемое комплексное лечение у больных пожилого возраста более эффективно и позволяет снизить воспалительные явления в более ранние сроки.

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Абдулхакимов Н.А.

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия.
Москва, ул. Малая Пироговская, 16, nurik.ab@gmail.com

Актуальность. Хронические нейродегенеративные расстройства ЦНС неоднородны, имеют сложную этиологию, влияют на эндогенные нейрогенные процессы и растут по мере старения населения. Поиск путей для лучшего понимания и лечения этих заболеваний является серьезной проблемой, учитывая личные и экономические издержки. Эти расстройства включают болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Паркинсона (БП) и множество других редких заболеваний, таких как болезнь Хантингтона (БХ), лобно-височная деменция и боковой амиотрофический склероз. Каждый из этих расстройств сопровождается с потерей определенных популяций нейронов, с характерной патологической моделью агрегации белка – например, в случае болезни Паркинсона потерей дофаминергических путей черной субстанции и наличие альфа-синуклеин содержащих телец Леви. За последние несколько лет произошли ряд крупных прорывов в развитии изучения и применения стволовых клеток при заболеваниях ЦНС. Использование стволовых клеток для раскрытия клеточных процессов, лежащих в основе генезиса различных нейродегенеративных нарушений получила известность после открытия того, что дифференцированные соматические клетки человека можно перепрограммировать в плюрипотентное состояние при помощи сверхэкспрессии ряда определенных факторов транскрипции. Эта технология с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) означает, что клетки могут быть выращены от самих же пациентов и дифференцироваться в любой тип, в том числе различные типы нейронов.

Так как применение ЭС клеток имеет этические, иммунологические и практические проблемы, ИПСК и индуцированные нейронные клетки были рассмотрены в качестве альтернативы для трансплантации. И ряд исследований показали, что из них есть реальные возможности получить функционально соответствующие дофаминергические нейроны черной субстанции. Эти позиции были доказаны американскими учеными во главе с Frank Soldner. После успешных опытов получения функциональных индуцированных нейронов из мышиных эмбриональных фибробластов при помощи сверхэкспрессии трех факторов транскрипции (Ascl1, Brn2 и Mytl1), они также успешно получили тем же методом функциональные глутаматергические нейроны переднего мозга из фибробластов из человеческих фибробластов у пациентов с БА.

Вывод. Способность перепрограммирования соматических клеток человека в плюрипотентное состояние, непосредственно касающихся нейронов пациентов, можно использовать для изучения нейродегенеративных заболеваний. Кроме того, способность эмбриональных стволовых клеток дифференцироваться в необходимые нервные клетки в отсутствие контаминированных пролиферативных клеток в настоящее открывает воз-

можности использования этих клеток для трансплантации. А также, большие надежды связаны с применением их в области моделирования болезней и скрининга лекарственных средств, особенно с учетом обширности нейрогенных патологий при всех нейродегенеративных расстройств ЦНС.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КАК «КЛЮЧЕВОЙ» ЭЛЕМЕНТ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИНДУЦИРОВАННЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ПРИМАТОВ

Агрба В.З.[1], Порханов В.А.[2], Лапин Б.А.[1], Коноплянников А.Г.[3], Карал-оглы Д.Д.[1], Орлов С.В.[1]

1 – ФГБУ «НИИ МП» РАМН, Сочи-Адлер, Россия, Сочи-Адлер, Веселое-1, Тел. +7 (862) 243-20-11; +7 (862) 243-20-31, primatologia@ramn.ru
2 – Краевая клиническая больница №1 им. проф. С.В. Очаповского Департамента здравоохранения Краснодарского края, Краснодар, Россия, Краснодар, ул 1-го мая, дом 167. Тел. +7 (861) 252-85-91, kkb1@mail.ru
3 – ФГБУ Медицинский научный радиологический центр Минздравсоцразвития РФ Обнинск, Россия, Калужская обл., г. Обнинск, ул. Королева, д.4, тел. +7 (910) 425-94-65, mrrc@mrrc.obninsk.ru

Актуальность. Разработка методов клеточной терапии обеспечивает новые подходы к лечению неизлечимых болезней. Несмотря на бурный рост клеточных технологий, еще не реализованы все аспекты их применения. Методы клеточной терапии начали использоваться относительно недавно, и отсутствуют сведения об отдаленных результатах этой терапии. В связи с этим, целью наших исследований явилось использование лабораторных приматов для изучения физиологической регенерации поврежденных тканей в целостном организме при экспериментально индуцированной кардиопатологии.

Материалы и методы. В работе были использованы культуральные методы – выведение культур мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из костного мозга обезьян, культивирование и криоконсервация этих культур; иммунофенотипический анализ клеток на проточном цитометре «Beckman Coulter Epics XL-MCL с использованием меченных флюорохромами моноклональных антител, специфичных к антигенам клеток обезьян. Экспериментальный инфаркт миокарда был воспроизведен на павианах гамадрилах путем перевязки на границе средней и верхней трети коронарной и передней нисходящей артерии. На ЭКГ и биохимически были получены доказательства сформировавшегося инфаркт миокарда. Введение аллогенных МСК из расчета 2 млн/кг веса приводило через 3 года наблюдения к васкуляризации и капилляризации миокарда, определяемые на гистологических срезах, в отличие от контрольного

животного (не получившего МСК), у которого в области рубца определялось разрастание грубоволокнистой соединительной ткани.

Результаты. Известно, что антрациклины, включающие доксорубицин, широко используются для лечения больных с лейкемиями, но приводят к развитию кардиомиодистрофии, в результате прямого поражения миоцитов. В наших экспериментах на макаках резус введение МСК до или сразу после введения высокой дозы доксорубицина оказало протективное действие и эти животные выжили. Обезьяны, не получившие МСК, погибли. На гистологических срезах сердца у них определялась дегенерация и фрагментация кардиомиоцитов с признаками некроза и миомаляции. Таким образом, использование МСК для экранирования сердца при лечении антрациклинами является обнадеживающим.

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БАВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В СПОРТЕ НАИВЫСШИХ ДОСТИЖЕНИЙ

Агрба В.З.[2], Аравиашвили Д.Э.[2], Гварамия И.А.[2], Игнатова И.Е.[2], Карал-оглы Д.Д.[2], Лубяко А.А.[1], Петрова Е.С.[1], Русия А.Г.[1], Сергеева Н.В.[2], Чугуев Ю.П.[2]

1 – ФГБУ «НИЦ КиР» ФМБА России, г. Сочи, Россия
354024 Краснодарский край, г. Сочи, ул. Дорога на Большой Ахун, дом 14
тел. +7 (862) 261-95-56; lubyako@rambler.ru; lubyako@bk.ru
2 – ФГБУ «НИИ МП» РАМН, г. Сочи, Россия
354376 Краснодарский край, г. Сочи-А, Весёлое-1,
3– ФГБУ «НИИ МП» РАМН тел. +7 (862) 241-62-39; agrba_vz@mail.ru

Актуальность. В последние десятилетия одним из направлений методов клеточной, тканевой и органной восстановительной терапии стало применение биологически активных веществ животного происхождения (БАВ). В этой связи, целью настоящего исследования стал вопрос изучения их биологической безопасности.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 48 беспородных крысах, 11 белых мышах и 6 самцах макаках резус. БАВ получали, перфузируя фрагменты гипофиза, гипоталамуса, селезенки, щитовидной железы, почки и тимуса постнатальных поросят. БАВ вводили внутрибрюшинно, ингаляционно и внутривенно.

Результаты. Были изучены иммунотоксическое (содержание CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+ клеток) и аллергенное (содержание IgE, IgM, IgG) действия БАВ. Были определены функциональная активность лимфоцитов (способность синтезировать интерфероны) и маркеры воспаления (ФНО-α, ИЛ-1β, С-реактивный белок). В культуре клеток (как в монослойных, так и в суспензионных) были исследованы цитотоксические свойства БАВ. Изучено мутагенное (учет хромосомных аберраций) и канцерогенное (учет морфологически измененных тканей при патологоанатомическом вскрытии) действие БАВ. А также исследованы эмбриотоксические свойства БАВ в постнатальном периоде жизни

потомства крыс до третьего поколения (параметры физического развития, созревание сенсорно-двигательных рефлексов, в том числе мышечной силы). Сделано заключение, что БАВ животного происхождения отвечают всем требованиям биологической безопасности и могут быть успешно применены в клинике.

О ПРИМЕНЕНИИ РЕКОМБИНАНТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО КОСТНОГО БЕЛКА BMP-2 В ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ

Акатов В.С.[1,2], Чеканов А.В.[1,2], Фадеева И.С.[1,2], Вежнина Н.О.[1,2], Соловьева М.Е.[1,2], Просвирин А.А.[3], Склянчук Е.Д.[3], Гурьев В.В.[3]

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино, Россия
Московский государственный медико-стоматологический университет, Россия
142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская д.3, ИТЭБ РАН, Тел.: +7 (909) 939-09-79, v-akatoff@rambler.ru

Актуальность. Для повышения остеоиндуктивности материалов для травматологии и ортопедии в мире около 20 лет назад было предложено применять рекомбинантные морфогенетические белки, в первую очередь BMP-2. Однако в медицинской практике применение в материалах рекомбинантных морфогенетических белков не получило широкого распространения несмотря на достаточно ясную биологическую идею и научную базу этого направления.

Цель нашей работы заключалась в количественной оценке влияния рекомбинантных белков на остеоиндуктивный потенциал остеопластических материалов.

Материалы и методы. Остеоиндуктивную активность материалов оценивали в модели гетеротопической имплантации под кожу крысам и в модели ортотопической имплантации в дефекты черепа. Использовали деминерализованный костный матрикс в виде блоков или фрагментов, предоставленных Тканевым Банком ЦИТО (проф. М.В. Лекишвили). Материалы модифицировали рекомбинантным морфогенетическим белком rhBMP-2, полученным в ИТЭБ РАН используя бактериальную систему экспрессии. Сравнивали материалы, модифицированные и не модифицированные посредством rhBMP-2. Активность рекомбинантного белка rhBMP-2 оценивали в культуре клеток C3H10T1/2. Для количественного определения повышения остеоиндуктивного эффекта определяли содержание минерализованного кальция. Кроме этого выполняли гистологический анализ материалов до и после имплантации.

Результаты. Тестирование в культуре клеток C3H10T1/2 показало остеоиндуктивную активность используемого нами рекомбинантного белка rhBMP-2. Установлено, что внедре-

ние белка rhBMP-2 в деминерализованный костный матрикс способно в десятки раз повышать остеоиндуктивность материала. В то же время обнаружено, что некоторые партии деминерализованного костного матрикса обладают собственной высокой активностью, и добавление rhBMP-2 не привносит существенного повышения их остеоиндуктивности.

Заключение. Необходимо выяснить, почему собственная остеоиндуктивная активность остеопластических материалов может значительно отличаться, и на основании этого совершенствовать материалы. Необходимо применение стандартной тест-системы для оценки in vivo остеоиндуктивности материалов и эффективности применения в них морфогенетических белков, других факторов, их сочетания. Без этих исследований невозможно понять, где, в каких ситуациях, с какими материалами применение рекомбинантных морфогенетических белков будет эффективным, а в каких материалах добавление рекомбинантных белков не даст дополнительного эффекта.

КОМПОЗИЦИОННЫЙ КОСТНО-ПЛАСТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ «ДЕПРОТЕКС» В ОРТОПЕДИИ (ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ)

Александров Т.И., Кирилова И.А., Чорний С.И., Подорожная В.Т.

ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия
г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, тел. +7 (383) 363-31-31 добавочный 1351, IKirilova@niito.ru

Композиционный костно-пластический материал (ККПМ) «Депротекс» приготовлен из аллогенных костных фрагментов после депротеинизации, коллагенсодержащего раствора и антибактериальных препаратов по авторской методике. Из публикаций известно, что использование ККПМ «Депротекс» для остеопластики губчатой кости приводит к остеогенезу с формированием в срок наблюдения 30 суток костного регенерата, в 90 суток – к полному замещению дефекта органотипической костной тканью и ремоделированию в срок наблюдения до 180 суток. Использование данного ККПМ при лечении пациентов стоматологического профиля подтвердило эффективность материала. Мы использовали «Депротекс» для лечения ортопедической патологии у пациентки А., 37 лет с диагнозом: Остеобластокластома основания средней фаланги V пальца правой кисти, консолидирующийся патологический перелом основания средней фаланги V пальца правой кисти. Из анамнеза известно, что 4 месяца назад имела место травма в указанной локализации, пациентка лечилась амбулаторно. Выполнена реконструктивно-восстановительная операция на основании средней фаланги V пальца правой кисти с замещением костного дефекта ККПМ «Депротекс». Выполнено послойное ушивание раны, наложена асептическая повязка. Пациентке с первого дня после операции рекомендованы активные движения в суставах кисти. В послеоперационном периоде заживление первичным

натяжением. Через 2 суток пациентка была выписана домой на амбулаторное долечивание. При контрольном рентгенологическом исследовании через 5 месяцев после операции контуры фаланги четко очерчены, внутренняя структура фаланги соответствует трабекулярной структуре губчатой кости фаланги, отмечено восстановление анатомической целостности и губчатой структуры средней фаланги V пальца правой кисти. Движения в суставах в полном объеме, безболезненны. Таким образом, использование ККПМ «Депротекс» у пациентов с ортопедической патологией приводит к восстановлению анатомической структуры и функции кости и ККПМ может быть рекомендован к использованию и при лечении костной патологии в клинике.

МЕХАНИЗМЫ МИГРАЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ИЗ КРОВЕНОСНОГО РУСЛА В УЧАСТКИ ПОВРЕЖДЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ВОСПАЛЕНИЯ

Александрова С.А.[1], Старикова Э.А.[2], Александрова А.В.[3], Пинаев Г.П.[1]

1 – ФГБУ «Институт цитологии» РАН,
2 – ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» СЗО РАМН,
3 – Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет, Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4, тел. +7 (812) 297-18-34,
u2005@rambler.ru

Актуальность. Несмотря на большое количество клинических исследований с использованием системно введенных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) костного мозга механизмы, регулирующие перемещение их из кровеносного русла к местам повреждения, остаются слабо изученными. Предполагают, что взаимодействие МСК с эндотелиальными клетками (ЭК) в процессе их миграции в ткани опосредуют адгезионные молекулы иммуноглобулинового суперсемейства и интегрины.

Цель настоящего исследования состояла в анализе уровня экспрессии адгезионных молекул VCAM-1, а также их контрлиганда – α4β1-интегринов (CD29/CD49d) на МСК и ЭК в присутствии фактора некроза опухоли α (ФНОα).

Материалы и методы. В работе использовали популяцию МСК костного мозга крыс и ЭК линии EA.hy 926. Клетки были проинкубированы в течение 18 ч с добавками – ФНОα (200 ед/мл), плазма крови крысы (10%) или с обеими. Далее проводили окрашивание и анализ интенсивности экспрессии поверхностных молекул на проточном цитофлуориметре Coulter Epics Altra (Beckman Coulter, США).

Результаты. Было показано, что исходно высокий спонтанный уровень экспрессии интегринов, как на поверхности МСК, так и ЭК, практически не изменялся под действием

провоспалительных факторов. В то же время уровень экспрессии VCAM-1 на МСК и ЭК и количество экспрессирующих клеток под влиянием ФНОα и плазмы крови значительно повышались. В данной работе получены дополнительные доказательства того, что исследуемые адгезионные молекулы могут опосредовать процессы адгезии МСК к ЭК в условиях воспаления. Это возможно благодаря повышению уровня экспрессии VCAM-1, а также конформационным изменениям молекул интегринов, повышающим аффинность этих молекул. Вероятно, эти взаимодействия носят реципрокный характер – молекулы VCAM-1 на МСК взаимодействуют с их конрлигандами CD29/CD49d на ЭК и наоборот. Необходимы дальнейшие исследования с применением ингибиторного анализа.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АУТОПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАН

Алексеева Н.Т.

ГБОУ ВПО Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко, Россия, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10, тел. +7 (473) 253-02-53 alexeevant@list.ru

Актуальность. Проблема лечения ран сохраняет свою актуальность в связи с высоким уровнем травматизма в быту и на производстве, ростом числа встречаемости раневой инфекции и риском развития тяжелых осложнений.

Цель работы – изучение гистохимической характеристики эпидермиса при заживлении ран на фоне применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы крови (ОТПК).

Материалы и методы. Исследование проведено на белых крысах самцах массой 240–260 г. Моделирование условно асептической кожной раны проводилось на передней поверхности бедра. В первой опытной группе лечение осуществляли путем обработки струйной санацией 0,9% раствором хлорида натрия. Во второй опытной группе для лечения ран применяли ОТПК. В контрольной группе лечение заключалось в ежедневной однократной смене асептической повязки. Для забора материала животных выводили из эксперимента на 1, 3, 5, 7, сутки для установления гистохимических особенностей репаративной регенерации в различные фазы раневого процесса. Для оценки степени пластических процессов в эпидермисе определяли особенности распределения и содержания РНК, суммарного белка и сульфгидрильных групп белков.

Результаты. В процессе перестройки и повышения пролиферативной активности эпидермис восстанавливал целостность кожных покровов от периферии к центру, что характеризовалось усилением гистохимических реакций, более выраженное на фоне применения ОТПК. Определение РНК, суммарного белка показало динамику увеличения содержания от 1-х до 7-х суток раневого процесса. Возрастание реакционной способности сульфгидрильных групп происходило по направлению к поверхностным слоям кожи, что определяется процессами стратификации эпидермиса. Максимальное значение содержания сульфгидрильных групп характерно для 5 суток после применения ОТПК.

Снижение данного показателя на 7-е сутки указывает на стабилизацию процессов кератинизации. Морфологически установлено, что применение ОТПК обеспечивает высокую реактивность эпидермиса и ускоряет процессы регенерации.

СТВОЛОВЫЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ CD117$^+$ – ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР ПОСТИНСУЛЬТНОГО АНГИОГЕНЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С ЛАКУНАРНЫМИ ИНФАРКТАМИ МОЗГА

Анацкая Л.Н.[1], Гончарова Н.В.[2]

1 – РНПЦ неврологии и нейрохирургии, Беларусь, 220114, г. Минск, ул. Ф. Скорины, 24, тел. +375 17 267 85 41, anatskaia@tut.by.
2 – РНПЦ гематологии и трансфузиологии, Беларусь, 220053, г. Минск; Долгиновский тракт, 160

Актуальность. Одной из перспективных целей нейропротекции при лакунарном инфаркте мозга (ЛИМ) является индукция эндогенного ангиогенеза микроциркуляторного русла. В настоящее время основная роль в церебральном ангиогенезе отводится стволовым эндотелиальным клеткам (СЭК) с поверхностным маркером CD117+ (c-Kit+), находящиеся в эндотелиальном слое артерий, способных к самообновлению и долгосрочной клональной экспансии в ответ на ишемию мозга.

Цель исследования – определить влияние рекомбинантного эритропоэтина человека на уровень СЭК CD117+ в остром периоде ЛИМ.

Материалы и методы. Обследовано в первые 48 ч от момента заболевания и через 7 дней после лечения 20 пациентов с ЛИМ (возраст 61±2,3 лет), получавших в первые 48 и 72 часа от начала заболевания на фоне стандартной терапии (аспирина и сернокислой магнезии) 4000 МЕ рекомбинантного эритропоэтина (РЭПО) человека подкожно. Группу сравнения составили: 20 пациентов, получавшие только стандартную терапию (возраст 62,2±15,4 лет), группу контроля – 20 здоровых доноров. Определение фенотипического профиля популяции СЭК производилось с помощью поверхностных моноклональных антител CD117-PE, CD31, CD133, KDR, vWF и CD34 и методов проточной иммуноцитометрии на лазерном проточном цитофлуориметре.

Результаты. В группе пациентов, получавших РЭПО уровень CD117$^+$клеток увеличивался в 4,2 раза в сравнении с данными до лечения и в 6,7 раза в сравнении с данными здоровых доноров, $p<0,05$. В группе пациентов, пролеченных только стандартной терапией отмечается незначимое увеличение уровня CD117$^+$ (на 22,7%) по сравнению с данными в первые 48 ч заболевания.

Выводы. Определение уровня СЭК с фенотипом CD117+ позволяет объективизировать и контролировать в остром периоде ЛИМ динамику терапии, стимулирующей ангиогенез. В связи с этим CD117+ клетки являются новым маркером постинсультного ангиогенеза и новой мишенью его индукции.

ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ТРЕХМЕРНОГО МАТРИКСА ДЕРМЫ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Андреев Ю.В., Боровкова Н.В., Миронов А.С., Пономарев И.Н., Шугай С.В.

ГБУЗ НИИ Скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ, Москва, Россия
Москва, Большая Сухаревская площадь, д.3. Тел. +7 (926) 388-24-80, yulii1982@yandex.ru

Актуальность. В клиническую практику, с целью влияния на регенеративный процесс, активно внедряются трехмерные ацеллюлярные биоматриксы. Удаление клеток и их компонентов значительно снижает иммуногенность биотрансплантата, а сохранение фибриллярного каркаса увеличивает вероятность его колонизации клетками реципиента. Это обуславливает более физиологичное восстановление поврежденных тканей и их функции, чем использование синтетических аналогов.

Цель – разработать технологию изготовления трехмерного матрикса дермы человека для клинического применения.

Материалы и методы. Для получения трехмерных матриксов использовали кадаверную кожу толщиной от 0,5 до 1,0 мм. Получение трехмерного матрикса происходило в несколько этапов. На 1-м этапе клетки разрушали воздействием низких температур. На 2-м этапе разделяли эпидермис и дерму применением гипертонического раствора. На 3-м этапе детергентами удаляли клетки и их компоненты из дермы. Для обеспечения биосовместимости, на завершающем этапе матрикс обрабатывали физиологическим раствором. Качество трансплантата оценивали на основании гистологических и гистохимических исследования. Биосовместимость оценивали путём ревитализацией матрикса клетками человека и в эксперименте на животных.

Результаты. При гистологическом исследовании зафиксирована полная элиминация клеток и их компонентов из трансплантата. Гистохимическим исследованием подтверждено сохранение структуры, ориентация коллагеновых и эластических волокон. Трансплантат активно колонизировался ММСК КМ и фибробластами человека. При использовании матрикса в лечении ран у животных отмечали сокращение сроков закрытия дефектов кожи и отсутствие иммунного отторжения трансплантата.

Выводы. Используя предлагаемую технологию возможно изготовить децеллюляризованный трансплантат дермы с сохранённой трехмерной структурой. Высокая биосовместимость матрикса позволяет использовать его в лечении ран различной этиологии самостоятельно или в комбинации с клетками человека.

ИММУНОСУПРЕССИВНЫЕ СВОЙСТВА И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВАЦИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ТКАНЕВОЙ РЕПАРАЦИИ

Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б.

ФГБУН ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, Россия
Москва, Хорошевское шоссе 76а, тел. +7 (499) 195-63-01,
andreeva_er@mail.ru

В настоящее время мезенхимальные стромальные клетки (МСК) рассматриваются как перспективный клеточный компонент для регенеративной медицины. Это обусловлено, в первую очередь, «иммунопривелегированностью» МСК, благодаря отсутствию/низкой экспрессии молекул гистосовместимости класса II (MHC–II) и костимуляторных молекул на клеточной поверхности, что обеспечивает возможность их аллогенного использования. Регенеративный потенциал МСК связан с их способностью к продукции биологически активных молекул и возможностью к дифференцировке в ткани мезенхимального происхождения. Кроме того, МСК способны к иммуносупрессии, что может обеспечить угнетение иммунного ответа при их аллогенном использовании. Предполагается, что для «запуска» супрессивного механизма необходима провоспалительная активация МСК метаболитами активированных иммунных клеток. К сожалению, при изучении иммуномодуляторных свойств МСК практически не уделяется внимание изменениям, влияющим на их регенеративный потенциал. В нашей лаборатории показано, что при контакте с ФГА-стимулированными МНК происходило снижение способности МСК к пролиферации и дифференцировке в остео- и адипо- направлениях. При этом не обнаружено выраженного цитотоксического эффекта. Если экстраполировать эти данные на ситуацию in vivo, то, несмотря на иммунотолерантность МСК, можно ожидать снижения их функциональной активности при контакте с аллогенными активированными иммуноцитами. По-видимому, провоспалительная активация может снижать «регенеративный» эффект МСК, что необходимо учитывать при разработке протоколов применения МСК в регенеративной медицине.

Работа выполнена при поддержке Программы №7 Президиума РАН и гранта РФФИ 13-04-00791.

ОСОБЕННОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ

Аникина Т.А., Рубина К.А., Сысоева В.Ю.

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия
Москва, Ломоносовский проспект, д. 31, корп. 5,
тел. +7 (495) 932-88-14, rkseniya@mail.ru

Актуальность настоящего исследования заключается в необходимости расширения понятий о патофизиологических процессах, лежащих в основе развития пролиферативных заболеваний эндометрия. На сегодняшний день все большее внимание уделяется вопросу о роли стволовых клеток в формировании и прогрессии данных заболеваний.

Цель: выявить фенотипические особенности стволовых стромальных клеток эндометрия в норме и при таких заболеваниях, как: аденомиоз, миома матки, гиперплазия эндометрия.

Материалы и методы. Исследование проводилось не базе ГКБ №12 и ГКБ №64, лаборатории кафедры биохимии и молекулярной медицины ФФМ МГУ. В работе были использованы образцы нормального эндометрия и эндометрия при аденомиозе (АМ), миоме матки (ММ) и гиперплазии эндометрия (ГЭ). В ходе работы из образцов путем нефермента-тивного выделения и культивирования были получены популяции стромальных клеток человека, которые были охарактеризованы при помощи методов проточной цитофлуориметрии, иммуноцитохимического анализа, а также методов определения дифференцировочного и пролиферативного потенциала. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием ППП StatSoft Statistica 8.

Результаты и выводы. В ходе исследования были выделены и культивированы до 2 пассажа популяции стромальных клеток нормального эндометрия и эндометрия при АМ, ММ и ГЭ. Подтверждены мезенхимальные свойства клеток, выделенных из всех исследованных образцов: 100% клеток экспрессировали такие маркеры, как CD73, CD105, CD90; не экспрессировали маркеры клеток гематопоэтического ряда, а также были способны дифференцироваться в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлениях. Были выявлены достоверные различия ($p<0,05$) в экспрессии эндометриальными МСК изучаемых групп такого белка – регулятора клеточного цикла, как P16INK4A и рецептора фактора роста гепатоцитов c-met. P16INK4A экспрессируется в ядрах МСК эндометрия при АМ и ГЭ и не экспрессируется в МСК нормального эндометрия и при ММ. Экспрессия c-met выявлена на поверхности МСК нормального эндометрия и при ММ. Таким образом, нами получены гомогенные популяции МСК нормального эндометрия и эндометрия при таких гинекологических заболеваниях, как аденомиоз, миома матки и гиперплазия эндометрия. Экспрессия белков системы c-met/ HGF и белка регулятора клеточного цикла P16INK4A позволяет предполагать, что эти сигнальные пути играют важную роль в обеспечении пролиферативного контроля и регуляции дифференцировки стромальных клеток эндометрия в норме и при патологии.

РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТРОМБОЦИТОВ В РЕАКЦИИ НА ХИРУРГИЧЕСКОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ

Антропова И.П.[1], Юшков Б.Г. [2,3]

1 – ФГБУ «УНИИТО им В.Д. Чаклина»,
2 – Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, 3УрФУ имени первого Президента России Б.Н.Ельцина, Екатеринбург, Россия
Екатеринбург, пер Банковский, 7, тел +7 (922) 110-53-59,
aip.hemolab@mail.ru

Актуальность. Повреждение тканей при травме или хирургическом вмешательстве стимулирует активацию и агрегацию тромбоцитов, что обеспечивает формирование сгустка, который не только позволяет остановить потерю крови, но создает также механическую и биохимическую основу индукции пролиферации. Экспрессия тромбоцитами молекул и рецепторов адгезии, факторов роста стимулирует процессы миграции и пролиферации клеток, регенерацию в поврежденных тканей при травмах и оперативных вмешательствах.

Цель работы. Изучить динамику активности тромбоцитов, их влияние на формирование сгустка, функциональную активность эндотелия и выраженность воспалительной реакции после эндопротезирования тазобедренного сустава.

Материал и методы. У 61 пациента, перенесшего эндопротезирование тазобедренного сустава (ЭТС) были взяты образцы крови до операции, по ее окончании и в 1, 3, 7, 14 сутки. Определяли количество тромбоцитов, активность секреции ими β-тромбоглобулина (β-ТГ) и 4 тромбоцитарного фактора (4ТФ), маркеры, воспаления (С-реактивный белок) и эндотелиальной дисфункции (тромбомодулин, фактор ф.Виллебранда), параметры формирование сгустка (TEG-5000, Haemoscope, США).

Результаты. Максимальная активность секреции тромбоцитарных факторов происходит по окончании операции и оказывает влияние на формирование сгустка и уровень кровопотери. Повышение количества тромбоцитов после ЭТС сопровождается снижением выделения ими тромбоцитарных факторов. Активность антигепаринового 4 ТФ в послеоперационном периоде имеет прямую связь с уровнем эндотелиального антикоагулянта тромбомодулина и обратную – с уровнем фактора фон Виллебранда. Наличие прямой связи между β-ТГ и выраженностью воспалительной реакции, может объясняться свойством β-ТГ обеспечивать хемотаксис лейкоцитов в зону повреждения.

Заключение. Выделение тромбоцитарных факторов происходит наиболее активно в первые сутки после ЭТС, но значимое влияние тромбоцитарного звена гемостаза на параметры формирования сгустка крови, функциональную активность эндотелия и уровень воспалительной реакции сохраняется и в более позднем периоде, что может оказывать влияние на течение процесса регенерации после крупной ортопедической операции.

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА НА СОСТОЯНИЕ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ КОНЕЧНОСТЕЙ КРЫС

Арутюнян И.В.[1,2], Макаров А.В.[1,2], Ельчанинов А.В.[1,2], Кананыхина Е.Ю.[1,2], Фатхудинов Т.Х.[1,2]

1 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ, г. Москва, Россия
117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, тел. +7 (495) 531-44-44, i_arutyunyan@oparina4.ru
2 –ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН, г. Москва, Россия
117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3, тел. +7 (499) 120-14-56, labrosta@yandex.ru

Актуальность. Основной проблемой доклинических исследований эффективности клеточной терапии ишемии является отсутствие единых критериев ее оценки, в том числе подтверждения с помощью гистологических и морфометрических методов.

Цель. Исследование ишемизированной мышечной ткани после трансплантации аллогенных МСК пупочного канатика.

Материалы и методы. Моделирование ишемии задних конечностей проводили на самцах крыс Sprague-Dawley (n=30) путем иссечения бедренной и подколенной артерий. Через 7 суток животным вводили трансплантат (5 млн МСК или физиологический раствор). На 2,9 и 29 сутки после трансплантации проводили тест “rota-rod”. Выведение животных из эксперимента проводили на 3,10 или 30 сутки.

Результаты. После моделирования ишемии время прохождения бегового теста значимо снижалось в обеих группах. На 9 и 29 сутки в группе МСК показатели были достоверно лучше, чем в контроле (13,2±1,4 мин против 8,0±2,4 мин на 29 сутки). На всех сроках область повреждения (относительная площадь некротизированных и поврежденных мышечных волокон в очаге ишемии и перифокальной области) в группе МСК была статистически значимо меньше, чем в контрольной группе (20,37±0,66% против 40,40±0,80% на 30 сутки). На 3 и 10 сутки после трансплантации в обеих группах в очаге ишемии наблюдали множественный некроз мышечных волокон и выраженную лимфогистиоцитарную инфильтрацию. На 30 сутки в контрольной группе продолжались процессы некротизации отдельных волокон и диффузной инфильтрации (объемная плотность инфильтрата 4,53±0,34%). В группе с введением МСК некроз не выявляли, поврежденные мышечные волокна были замещены прослойками фиброзной ткани (объемная плотность инфильтрата 1,20±0,18%).

Выводы. Трансплантация аллогенных МСК приводит к ускорению регенерации скелетной мышечной ткани, что проявляется в уменьшении относительной площади области повреждения и воспалительной инфильтрации, и восстановлению ее функциональной активности.

РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТРОМБОЦИТОВ В РЕАКЦИИ НА ХИРУРГИЧЕСКОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ

Антропова И.П.[1], Юшков Б.Г. [2,3]

1 – ФГБУ «УНИИТО им В.Д. Чаклина»,
2 – Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, 3УрФУ имени первого Президента России Б.Н.Ельцина, Екатеринбург, Россия
Екатеринбург, пер. Банковский, 7, тел. +7 (922) 110-53-59,
aip.hemolab@mail.ru

Актуальность. Повреждение тканей при травме или хирургическом вмешательстве стимулирует активацию и агрегацию тромбоцитов, что обеспечивает формирование сгустка, который не только позволяет остановить потерю крови, но создает также механическую и биохимическую основу индукции пролиферации. Экспрессия тромбоцитами молекул и рецепторов адгезии, факторов роста стимулирует процессы миграции и пролиферации клеток, регенерацию в поврежденных тканей при травмах и оперативных вмешательствах.

Цель работы. Изучить динамику активности тромбоцитов, их влияние на формирование сгустка, функциональную активность эндотелия и выраженность воспалительной реакции после эндопротезирования тазобедренного сустава.

Материалы и методы. У 61 пациента, перенесшего эндопротезирование тазобедренного сустава (ЭТС) были взяты образцы крови до операции, по ее окончании и в 1, 3, 7, 14 сутки. Определяли количество тромбоцитов, активность секреции ими β-тромбоглобулина (β-ТГ) и 4 тромбоцитарного фактора (4ТФ), маркеры, воспаления (С-реактивный белок) и эндотелиальной дисфункции (тромбомодулин, фактор ф.Виллебранда), параметры формирование сгустка (TEG-5000, Haemoscope, США).

Результаты. Максимальная активность секреции тромбоцитарных факторов происходит по окончании операции и оказывает влияние на формирование сгустка и уровень кровопотери. Повышение количества тромбоцитов после ЭТС сопровождается снижением выделения ими тромбоцитарных факторов. Активность антигепаринового 4 ТФ в послеоперационном периоде имеет прямую связь с уровнем эндотелиального антикоагулянта тромбомодулина и обратную – с уровнем фактора фВиллебранда. Наличие прямой связи между β-ТГ и выраженностью воспалительной реакции, может объясняться свойством β-ТГ обеспечивать хемотаксис лейкоцитов в зону повреждения.

Заключение. Выделение тромбоцитарных факторов происходит наиболее активно в первые сутки после ЭТС, но значимое влияние тромбоцитарного звена гемостаза на параметры формирования сгустка крови, функциональную активность эндотелия и уровень воспалительной реакции сохраняется и в более позднем периоде, что может оказывать влияние на течение процесса регенерации после крупной ортопедической операции.

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА НА СОСТОЯНИЕ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ КОНЕЧНОСТЕЙ КРЫС

Арутюнян И.В.[1,2], Макаров А.В.[1,2], Ельчанинов А.В.[1,2], Кананыхина Е.Ю.[1,2], Фатхудинов Т.Х.[1,2]

1 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» МЗ РФ, г. Москва, Россия
117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, тел. +7 (495) 531-44-44, i_arutyunyan@oparina4.ru
2 – ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН, г. Москва, Россия
117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3, тел. +7 (499) 120-14-56, labrosta@yandex.ru

Актуальность. Основной проблемой доклинических исследований эффективности клеточной терапии ишемии является отсутствие единых критериев ее оценки, в том числе подтверждения с помощью гистологических и морфометрических методов.

Цель: исследование ишемизированной мышечной ткани после трансплантации аллогенных МСК пупочного канатика.

Материалы и методы. Моделирование ишемии задних конечностей проводили на самцах крыс Sprague-Dawley (n=30) путем иссечения бедренной и подколенной артерий. Через 7 суток животным вводили трансплантат (5 млн МСК или физиологический раствор). На 2,9 и 29 сутки после трансплантации проводили тест “rota-rod”. Выведение животных из эксперимента проводили на 3,10 или 30 сутки.

Результаты. После моделирования ишемии время прохождения бегового теста значимо снижалось в обеих группах. На 9 и 29 сутки в группе МСК показатели были достоверно лучше, чем в контроле (13,2±1,4 мин против 8,0±2,4 мин на 29 сутки). На всех сроках область повреждения (относительная площадь некротизированных и поврежденных мышечных волокон в очаге ишемии и перифокальной области) в группе МСК была статистически значимо меньше, чем в контрольной группе (20,37±0,66% против 40,40±0,80% на 30 сутки). На 3 и 10 сутки после трансплантации в обеих группах в очаге ишемии наблюдали множественный некроз мышечных волокон и выраженную лимфогистиоцитарную инфильтрацию. На 30 сутки в контрольной группе продолжались процессы некротизации отдельных волокон и диффузной инфильтрации (объемная плотность инфильтрата 4,53±0,34%). В группе с введением МСК некроз не выявляли, поврежденные мышечные волокна были замещены прослойками фиброзной ткани (объемная плотность инфильтрата 1,20±0,18%).

Выводы. Трансплантация аллогенных МСК приводит к ускорению регенерации скелетной мышечной ткани, что проявляется в уменьшении относительной площади области повреждения и воспалительной инфильтрации, и восстановлению ее функциональной активности.

ПОСТИНФАРКТНОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ МИОКАРДА КАК ОТРАЖЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КАЛЬЦИЙ – ТРАНСПОРТИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ КАРДИОМИОЦИТОВ

Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Егорова М.В., Козлов Б.Н., Попов С.В.

ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН, г.Томск, Россия
Томск, ул. Киевская, 111А, Tursky@ cardio.tsu.ru

Актуальность. Восстановление адекватной сократительной функции сердечной мышцы при постинфарктном ремоделировании связано как с органоспецифической регенерацией, так и с эффективным протеканием регенераторных процессов на субклеточном уровне – обеспечивающих структурные и функциональные перестройки сохранных кардиомиоцитов.

Целью исследования являлось изучение функционального состояния кальций-транспортирующих систем саркоплазматического ретикулума, а также уровня энергетического метаболизма в условиях постинфарктного ремоделирования миокарда человека.

Материалы и методы. Работа выполнена на биоптатах предсердия 27 пациентов с ИБС (стенокардия напряжения III–IV функциональный класс по NYHA). Из них 13 пациентов имели сочетанную патологию ИБС – сахарным диабетом II типа (СД). Функциональный резерв миокарда оценивали по инотропному ответу трабекул на изменение режима стимуляции. Ca2+-АТФазу определяли Вестерн блоттингом. Гистохимическим методом определяли активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и сукинатдегидрогеназы (СДГ). Оценку интенсивности дыхания митохондрий проводили по скорости поглощения кислорода. Достоверность результатов оценивали по критерию Манна-Уитни.

Результаты. При постинфарктном ремоделировании, как на фоне СД, так и без него, функциональный резерв кардиомиоцитов либо сохраняется, либо имеет низкий статус. Для сохраненного функционального резерва характерен высокий уровень экспрессии Ca2+-АТФазы. У пациентов с ИБС в моно варианте, активность ЛДГ и СДГ была выше, а уровень окислительного фосфорилирования, напротив, ниже, чем у пациентов с сочетанным развитием ИБС и СД.

Выводы. Сохранение функционального резерва кардиомиоцитов при постинфарктном ремоделировании миокарда во многом определяется восстановлением уровня Ca2+-АТФазы СР кардиомиоцитов. Эффективность процессов восстановления обеспечивается адекватностью энергетического метаболизма клетки, который в случае сочетанного развития ИБС и сахарного диабета обеспечивается за счет преобладания процессов окислительного фосфорилирования.

ОБРАТНОЕ РАЗВИТИЕ (ЛИКВИДАЦИЯ) АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО СТЕНОЗА КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ ЧЕЛОВЕКА ВСЛЕДСТВИЕ НЕИНВАЗИВНОЙ ОБРАБОТКИ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ В ТЕЛЕ КРОВИ ПО ИММУНОЛОГИЧЕСКОМУ МОЛЕКУЛЯРНОМУ МЕХАНИЗМУ «СВОЙ-ЧУЖОЙ» ФИЗИЧЕСКИМ ПОЛЕМ СО СПЕЦИАЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

Баданов М.П., Рябченко В.Н.

Частная биотехнологическая лаборатория, г. Артёмовский, Свердловская область, Россия, 623780, Свердловская область, г. Артёмовский, ул. Терешковой, 18 – 3, тел./факс +7 (34363) 213-83, +7 (912) 269-85-07, centerBIMT@yandex.ru

Актуальность. Подавляющая часть населения поражена атеросклерозом. Его исходы: инфаркты, инсульты, смерть. Лечение, вызывающее обратное развитие, отсутствует.

Цель: разработать и проверить на практике свой подход в консервативном лечении поражения атеросклеротическим процессом кровеносных сосудов.

Материалы и методы. Клинические диагностические стандартные протоколы коронарографий трижды – в начале, во время и сразу после опытного лечения. Опытное лечение заключалось в наложении контакта (электрода) прибора на конечность пациента (одного из авторов) 65-ти лет и экспозиции полем 1 раз в день – от 20 минут до 7 минут, в зависимости от напряжённости поля, курсами по 3 недели, с перерывами по 7–10 дней, в срок с октября 2012 г. по сентябрь 2013 года. Процесс работы прибора (лечения) – это дистанционная обработка крови пациента полем, имеющим специальные характеристики и нацеленным на иммунологическое воздействие по принципу «свой-чужой». Прибор создан нами.

Результаты. отмечены остановка и регресс (обратное развитие) атеросклеротического процесса: циркулярно стенозирующей атеросклеротической бляшки на одной из крупных коронарных артерий. Так, в начале лечения, 31.07.12 просвет в сужении составлял 0,475 мм на протяжении 3,6 мм. В конце лечения 10.09.13 просвет в сужении составил 0,857 мм, а протяженность значительного стеноза нивелировалась (сгладилась). Таким образом, в месте поражения просвет в коронарной артерии увеличился почти в два раза. Произошёл регресс атеросклеротического процесса. Прилагаются фотоизображения коронарографий в начале, в ходе и в конце опытного лечения. В ходе лечения у пациента также обнаружился положительный сопутствующий эффект в виде обратного процесса (регресса) сопутствующего заболевания тромбофлебита варикозно расширенных вен правой голени в верхней трети. Указанный эффект был отмечен уже в декабре 2012 года, то через 2–2,5 месяца после начала лечения.

Выводы. 1. Подтверждён вывод о возможности практической обратимости хронического процесса атеросклероза – стенозирующего атерокоронаросклероза даже в стадии кальцинации (в возрасте 65 лет). 2. Для этого авторами предложен способ и устройство (прибор) физического бескровного воздействия на циркулирующую в теле пациента кровь – специальным полем, генерирующим молекулярный механизм взаимодействия «свой-чужой». 3. Обнаружена общность в молекулярных механизмах атеросклероза и поражения вен, проявившаяся в их регрессе при одном и том же виде опытного лечения. 4. Указанный способ и прибор сейчас начал испытываться в лечении у добровольца сахарного диабета второго типа (инсулинонезависимого), при котором также актуален иммунологический молекулярный механизм «свой-чужой».

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕСТНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ ПОСЛЕ ДЕСТРУКТИВНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

Бадретдинова Ф.Ф., Кортунова В.В.

Башкирский государственный медицинский университет Уфа Россия, Уфа,
ул. Ленина 3, тел +7 9177440953, fbadretdinova@mail.ru

Актуальность. Основным методом лечения фоновых и предраковых заболеваний шейки матки является деструкция патологического очага с использованием крио- лазерорадиоволновой установок. После деструктивных вмешательств на поверхности влагалищной части шейки матки, как правило появляется струп различной степени выраженности в зависимости от вида, способа и глубины деструкции: наибольший при электрохирургических методах, незначительная после применения крио-лазерных технологий. Полное заживление раневой поверхности происходит примерно через 1,5–2 месяца.

Материалы и методы. Обследованы 105 женщин с фоновыми и предраковыми заболеваниями, перенесших операции на шейки матки с использованием лазерохирургических технологий (лазеровапоризация – 35, лазероэкцизия – 17, конизация – 8) и радиоволновой деструкции (45). Женщины представлены двумя группами: контрольной (50) и основной (55), которые сравнимы между собой по виду патологий, возрасту, однородны по акушерско-гинекологическому анамнезу ($p>0,05$). В основной группе после деструктивных вмешательств была применена местная озонотерапия с использованием озонированного оливкового масла Отри-Озонид (ТУ 9158-001-25673987-00), который кроме бактерицидного эффекта улучшает микроциркуляцию и локальный кровоток, стимулирует репаративные процессы. В контрольной группе местное лечение не применялось. Пациенткам обеих групп обследование проводились по общепринятой методике с применением бактериологических, цитологических и эндоскопических методов диагностики.

Результаты. У всех больных отмечалась хорошая переносимость масла ОТРИ-ОЗОНИД, визуально и морфологически отмечалось заметное купирование воспалительной

реакции и появление к 10–12 суткам в большинстве случаев ярких грануляций, отчетливой активной краевой эпителизации. Установлено, при использовании озонированного оливкового масла после деструктивных вмешательств сокращаются сроки их заживления в среднем на 5,05±2,15 суток, (в основной группе ($p<0,05$ при использовании критерия Манна-Уитни) и позволяет повысить клиническую эффективность по сравнению с использованием только деструктивных методов лечения.

ТРЕХМЕРНАЯ ПЕЧАТЬ ОСТЕОКОНДУКТИВНЫХ КЕРАМИЧЕСКИХ МАТРИКСОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Баринов С.М.[1], Вахрушев И.В.[2], Егоров А.А.[1], Комлев В.С.[1], Кортунов В.Н.[3], Кротова Л.И.[3], Попов В.К.[3], Федотов А.Ю.[1], Ярыгин К.Н.[2],

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук,
2 – Федеральное государственное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН,
3 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем лазерных и информационных технологий Российской академии наук.

Актуальность. Разработка и создание биоактивных имплантатов для замены поврежденных или отсутствующих фрагментов скелета человека и животных, а также тканеинженерных конструкций для направленной регенерации костных тканей является одной из актуальнейших биомедицинских проблем. Сегодня для ее решения применяются разнообразные материалы, включая керамику, натуральные и синтетические полимеры, а также их комбинации. Трехмерная печать является одной из наиболее перспективных технологий позволяющих использовать в качестве исходных материалов различные формы фосфатов кальция.

Результаты. Разработан процесс трехмерной печати остеокондуктивных керамических матриксов на основе трикальцийфосфата для тканеинженерных конструкций, предназначенных для ускорения репаративных процессов и эффективной остеоинтеграции с тканями живого организма. Исследование in vitro в целом свидетельствует о хорошей биосовместимости и удовлетворительных адгезионных свойствах матриксов, изготовленных по технологии трехмерного прототипирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 13-03-12021 офи_м.

СПОСОБЫ ИНТЕНСИВНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РЕЗЕРВА ОРГАНИЗМА В СПОРТЕ ВЫСШИХ ДОСТИЖЕНИЙ МЕТОДАМИ КЛЕТОЧНОЙ, ТКАНЕВОЙ И ОРГАННОЙ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

Башлыков Д.В., Шипицын А.В., Светличная С.В., Тямбина А.С., Лубяко А.А.

ФГБУ «НИЦ КиР» ФМБА России, г. Сочи, Россия
354024 Краснодарский край, г. Сочи, ул. Дорога на Большой Ахун, 14
тел. 8 (862) 261-95-56; lubyako@rambler.ru; lubyako@bk.ru

Актуальность. Сегодня спорт высших достижений это единственная область деятельности человека, где профессиональный спортсмен работает на пределе психологических и физиологических возможностей и в этой связи нуждается в постоянном наблюдении за состоянием здоровья и реабилитации.

Цель исследования – разработка способов и протокола эффективных действий врача реабилитолога, не нарушающих расписание тренировочного процесса, способами клеточной, тканевой и органной восстановительной терапии. Главная же задача работы – это максимально точная диагностика и индивидуально подобранная коррекция заболеваний, сопровождающих профессиональную деятельность спортсменов.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 1093 человека: спортсмены, тренеры, судьи, добровольцы, представляющие преимущественно зимние виды спорта, службу безопасности: мужчин – 632, женщин – 461, возраст от 15 до 62 лет.

Результаты. Было установлено, что действующие спортсмены и лица, оставившие большой спорт и достигшие квалификации кандидат в мастера спорта, мастер спорта, мастер спорта международного класса, в 99,8% случаях пожизненно обременены профессионально обусловленной патологией нетравматического характера: 21,37% – донозологическая форма заболевания, 78,63% – хронический патологический процесс.

Разработка и внедрение в практику биотехнологий, включающих ингаляцию органопрепаратов животного происхождения, аутентичных пострадавшим «органам-мишеням», а также протокола научно-медицинского и психофизиологического сопровождения, позволило добиться значимого результата: 52,47% – донозологическая форма заболевания, 47,53% – хронический патологический процесс. При этом функциональный резерв их организма (ФРО) увеличивался на 5–10%.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА МОДЕЛИ ОСТРОГО ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК

Белогородцев С.Н., Кожевников Ю.А., Селедцова Г.В.

ФГБУ «НИИКИ» СО РАМН, Новосибирск, Россия
г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, тел. +7 (383) 228-26-73,
S.Belogorodtsev@mail.ru

Актуальность. Острая почечная недостаточность (ОПН) является внезапно развивающимся и зачастую фатальным состоянием. Когда состояние больного тяжелое и требует проведения геиодиализа, госпитальная смертность достигает 50%. Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) могут оказывать благоприятное действие на течение ОПН как за счет продукции широкого спектра прорегенераторных (в том числе противовоспалительных и иммуносупрессорных) растворимых факторов, так и за счет непосредственного хоминга в почечную ткань с последующей трансдифференцировкой.

Материалы и методы. Мы провели исследование влияния МСК на течение ОПН у мышей. Для эксперимента использовали линейных мышей C57Bl6. ОПН индуцировали однократным внутримышечным введением глицерола в дозе 8,4 г/кг. МСК получали по стандартному протоколу из бедренных и большеберцовых костей, для трансплантации использовали первый пассаж. МСК вводили в ретроорбитальный синус в дозе 1 млн. клеток на мышь на следующий день, после введения глицерола. Результаты трансплантации МСК на экскреторную функцию почек (мочевина и креатинин сыворотки крови) показаны в таблице.

Группа	1-е сутки		5-е сутки		10-е сутки	
	Мочевина мМоль/л	Креатинин мкМоль/л	Мочевина мМоль/л	Креатинин мкМоль/л	Мочевина мМоль/л	Креатинин мкМоль/л
МСК	32.0	104.5	9.5	57.97	10.6	57.85
Контроль	119.5	334.6	19.51	68.11	15.1	61.65

Положительный эффект как аутологичных, так и аллогенных МСК был подтвержден гистологически. В опытной группе были значительно менее выражены признаки некроза и дистрофии канальцевого эпителия. Механизм действия МСК при ОПН во многом еще остается не исследованным, но положительное действие их очевидно.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ОСТЕОМИЕЛИТА

Белогородцев С.Н., Кожевников Ю.А., Селедцова Г.В.

ФГБУ «НИИКИ» СО РАМН, Новосибирск, Россия
г.Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, тел. +7 (383) 228-26-73,
S.Belogorodtsev@mail.ru

Актуальность. Формирующийся в процессе хронического инфекционного процесса дефект в костной ткани является местом длительного персистирования микроорганизмов, что приводит к хронизации процесса с вовлечением в процесс все новых участков кости и окружающих тканей. Трансплантированные в область дефекта кости мезенхимальные стромальные клетки (МСК) способны дифференцироваться в клетки костной ткани и непосредственно замещать дефект. Кроме того, стволовые клетки в процессе жизнедеятельности вырабатывают широкий спектр прорегенераторных цитокинов.

Материалы и методы. Трансплантация МСК в область дефекта костной ткани была проведена 18 больным с хроническим посттравматическим и гематогенным остеомиелитом. Сроки заболевания от 2 до 14 лет. У всех больных на первом этапе выполнялась санирующая операция с иссечением свищевых ходов, удалением секвестров. На втором этапе в зону дефекта костной ткани трансплантировались аутологичные МСК костного мозга либо перкутанно под рентгенконтролем, либо зона дефекта открывалась и МСК вводились непосредственно в дефект в носителе – плазматическом сгустке.

Результаты. При сроках наблюдения более 1 года рецидив воспалительного процесса отмечен у 3-х больных в виде повторного появления свища. У остальных больных послеоперационные раны зажили первичным натяжением. Необходимо отметить, что даже при повторном появлении свища, рентгенологически отмечалось уменьшение остеомиелитической полости за счет заполнения ее костной тканью. Во всех случаях был отмечен выраженный трофический эффект трансплантации МСК в виде заживления трофических язв (3 случая), изменения цвета кожных покровов в области очага, а также уменьшение болевого синдрома. Таким образом, использование трансплантации МСК в лечении хронического остеомиелита позволяет повышать местные регенераторные способности костной ткани и восстанавливать ее дефицит, что приводит к излечению локального хронического инфекционного процесса.

КОЛОНИИ РЕЗИДЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК IN VITRO И IN VIVO – ОДИН ИЗ СПОСОБОВ САМООБНОВЛЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ МИОКАРДА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Белостоцкая Г.Б.[1,2], Голованова Т.А.[2], Нерубацкая И.В.[1,2]

1 – ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук;
2 – ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44, тел. +7 (812) 552-93-44, gbelost@mail.ru

Актуальность. Несмотря на обнаружение в сердце млекопитающих резидентных стволовых клеток (СК), до сих пор не удалось установить механизм самообновления сердечной мышцы и определить ее возможный регенерационный потенциал.

Целью работы было: подтвердить в in vitro и ex vivo экспериментах существование колоний, сформированных резидентными СК трех типов (Isl1$^+$, c-kit$^+$ и Sca$^+$) у крыс различного возраста и обнаруженных ранее в культуре клеток миокарда новорожденной крысы [Голованова, Белостоцкая, 2012].

Материалы и методы. Культуру клеток миокарда новорожденных крыс и животных 20- и 40-дневного возраста изучали на предмет образования колоний кардиомиоцитов. Клетки на разных сроках культивирования и свежевыделенные (ex vivo) кардиальные клетки крыс этих же возрастных групп фиксировали 4% параформальдегидом и иммуноцитохимически окрашивали антителами к антигенам СК, GATA-4, α-саркомерному актину, саркомерному α-актинину и кардиальному тропонину (все Abcam), предварительно конъюгированными с флуорохромами Alexa согласно Zenon технологии (Invitrogen).

Результаты. Установлено, что резидентные СК миокарда 20- и 40-дневных крыс образуют в культуре колонии, сходные по морфологии и размерам с колониями новорожденных животных, но, в отличие от них, не приобретают способности к сокращению, демонстрируя только начальные признаки кардиодифференцировки в виде экспрессии GATA-4 и α-саркомерного актина. Однако в самом миокарде (ex vivo) были выявлены компактные клоны, состоящие из СК одного типа как недифференцированные, так и позитивные в отношении α-саркомерного актина, α-актинина и тропонина.

Выводы. Поскольку клонообразование является одним из основных способов формирования зрелых кардиомиоцитов из резидентных СК in vivo, формирование колоний сокращающихся кардиомиоцитов в культуре клеток миокарда новорожденных крыс, может рассматриваться в качестве адекватной модели для изучения процессов самообновления и регенерации миокарда млекопитающих.

ФИБРОБЛАСТЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ТКАНИ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ РАН

Блинова М.И.

ФГБУ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4; +7 (812) 297-39-83;
mira.blinova@mail.ru

Регенеративная медицина, начало которой можно отнести к 70-м годам XX века, когда клеточные биологи научились выделять стволовые клетки эпидермиса кожи, культивировать их и вырастили in vitro многослойный пласт кератиноцитов как аналог эпидермиса, является актуальным направлением. На пласт кератиноцитов возлагались надежды использования его в качестве материала для трансплантации. Из кожной ткани могут быть выделены и дермальные фибробласты. Фибробласты, заключенные в коллагеновый гель, представляют собой аналог дермы или дермальный эквивалент. Композицию из кератиноцитов, культивируемых на поверхности дермального эквивалента, можно считать аналогом кожной ткани. Такие клеточные продукты могут использоваться в клинической практике при заживлении различных ран, в результате восстанавливается структура и функциональная активность кожной ткани.

В Отделе клеточных культур Института цитологии РАН разработаны все 3 типа указанных выше клеточных продуктов и накоплен значительный опыт клинического применения их. Это – ожоги различной степени, в том числе критические и сверхкритические; трофические язвы в результате ХВН или диабета («диабетическая стопа»); различные травмы с длительно незаживающими ранами; укрепление мягких тканей десны при пародонтозе; восстановление роговицы глаза; заживление свищей, возникающих по разным причинам.

Следует отметить, что в большинстве случаев достаточно применения только дермального эквивалента – эпителизация происходит за счет собственных клеток пациента. Вероятно, это можно объяснить тем, что фибробласты, являясь компонентом соединительной ткани, регулируют деятельность дифференцированных клеток. Они синтезируют ростовые факторы и белки внеклеточного матрикса, которые являются структурной составляющей ткани и участвуют в регуляции функциональной активности дифференцированных клеток в тканях. Кроме того, выполненные экспериментальные исследования по направленной дифференцировке фибробластоподобных клеток костного мозга в остеогенном или хондрогенном направлениях и культивирование их на соответствующих субстратах способствует регенерации этих тканей.

ЛОКАЛЬНАЯ ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ В КОСТНОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ

Бозо И.Я.[1,2], Деев Р.В.[1], Дробышев А.Ю.[2], Исаев А.А.[1]

1 – Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия
Москва, ул. Губкина, д. 3, стр. 2; тел. +7 (495) 646-80-76,
e-mail: romdey@gmail.com
2 – Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия
Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1; тел. +7 (495) 609-67-00,
e-mail: msmsu@msmsu.ru

Актуальность. Значимой проблемой челюстно-лицевой хирургии, травматологии и ортопедии является эффективное лечение пациентов с повреждениями костей скелета. При этом костные дефекты являются показаниями для применения остеопластических материалов, большинство из которых неэффективны при значительных размерах и (или) объемах дефектов. В этой связи актуальна разработка новых, более эффективных медицинских изделий, обладающих выраженными остеоиндуктивными свойствами.

Материал и методы. С использованием плазмидной ДНК с геном сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и композитного материала из коллагена и гидроксиапатита, а также носителя из депротеинизированного костного матрикса созданы два варианта ген-активированных костных графтов (ГАКГ), которые исследованы in vivo при имплантации в краниальные дефекты (10 мм) кроликов. В ряде случаев использовали двухкассетную плазмиду, содержащую также ген зеленого флуоресцентного белка (GFP). Каждому животному в дефект правой теменной кости вводили один из вариантов ГАКГ, а в дефект левой – соответствующий носитель без плазмидной ДНК. Механизм действия генных конструкций in vivo, влияние на репаративный остеогенез оценивали через 15–120 сут. с использованием КТ и гистологических методов.

Результаты. Была выявлена экспрессия плазмиды клетками регенерата, что привело к значимо более выраженному ангиогенезу. В обеих экспериментальных группах на всех сроках определялась большая доля костного регенерата в общей площади ранее выполненного дефекта, чем в контроле, с практически полной консолидацией теменной кости к 120 сут. В контролях на крайнем сроке дефекты сохранялись.

Выводы. Разработанные ГАКГ являются эффективными даже в случае восполнения костных дефектов критического размера в эксперименте.

ИЗУЧЕНИЕ ГОРИЗОНТАЛЬНОЙ МИГРАЦИИ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА EA.HY926 НА АППАРАТЕ CELL-IQ

Бондаренко Н.А., Лыков А.П., Повещенко О.В., Ким И.И., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.

ФГБУ «НИИКЭЛ» СО РАМН; ФГБУ «ННИИПК им. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, Россия
Новосибирск, ул. Тимакова, 2, тел. +7 (383) 333-64-09, bond802888@yandex.ru

Актуальность. Репарация повреждений стенок сосудов и непосредственно формирование новых сосудов в постнатальном периоде осуществляется за счет артериогенеза и неоангиогенеза путем миграции и пролиферации предсуществующих дифференцированных эндотелиальных клеток, и васкулогенеза эндотелиальными прогениторными клетками (ЭПК). Также показано, что резидентные прогениторные клетки, через продукцию биоактивных веществ, стимулируют миграцию в зону повреждения зрелых эндотелиальных клеток и ЭПК из других зон, программируя их дифференцировку в зрелые клетки и способствуя тем репарации повреждений.

Целью исследования стал анализ миграционной активности клеток эндотелиальной линии EA.Hy926 на клеточном анализаторе CELL-IQ (CM Technologies) под действием биоактивных веществ.

Материалы и методы. Миграцию клеток эндотелиальной линии EA.Hy926 исследовали в тесте заживления раны в питательной среде с 5% содержанием сыворотки (контроль), 33 МЕ/мл рекормона, 10 нг/мл VEGF, 30% и 50% кондиционной среды (КС) от клеток пациентов с ИБС, полученных после мобилизации стволовых/прогениторных клеток введением Г-КСФ.

Результаты. Показано, что в присутствии рекормона и 30% КС площадь закрытия раневой поверхности клетками EA.Hy926 на 24 часа наблюдения составила 85% от исходного значения, в то время, как в контроле оно не превышало 60%. Меньшим эффектом, стимулирующим миграцию клеток эндотелиальной линии EA.Hy926 обладали VEGF и 50% КС. Таким образом, показано значение ростовых факторов, в частности эритропоэтина и КС от прогениторных клеток мобилизованных введением Г-КСФ у пациентов с ИБС, для стимуляции миграции эндотелиоцитов в процессе репарации повреждения монослоя эндотелиоцитов.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИНТЕНСИВНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Борисов А.Г., Савченко А.А.

ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН, Красноярск, Россия
Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г,
тел. +7 (391) 228-06-83, 2410454@mail.ru

Актуальность. Интенсивность регенеративных процессов в ткани зависит от состояния пролиферативных процессов уже зрелых клеток и пролиферации и дифференцировки стволовых клеток. При этом физиологическое состояние клеток зависит от интенсивности центральных метаболических процессов.

Целью исследования явилось изучение зависимости уровня пролиферации и дифференцировки клеток от их метаболических процессов.

Материалы и методы. В качестве экспериментальных животных в работе использовались мыши самцы ICR с массой тела 22–24 г, полученные в питомнике Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «ВЕКТОР» (Новосибирская обл.), содержащиеся в стандартных условиях вивария. Лимфоциты и моноциты выделяли из крови животных стандартными методами. В среде RPMI 1640 с добавлением индукторов и цитокинов осуществлялась реакция бласттрансформации лимфоцитов и дифференцировки моноцитов в дендритные клетки. Фенотип бластных и дендритных клеток оценивался методом проточной цитометрии. Фибробласты выделяли из биоптата кожи, используя питательную среду DMEM с добавлением 2% фетальной бычьей сыворотки. Митотическую активность культивируемых фибробластов исследовали на 3 сутки роста культуры клеток. С помощью биолюминесцентного метода в клетках определялись уровни активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ. Пролиферативная активность клеток и уровень дифференцировки оценивались в зависимости от исходного состояния внутриклеточного метаболизма.

Результаты. Установлено, что наиболее информативными показателями метаболизма, определяющими уровень пролиферативной активности и дифференцировки клеток является активность малатдегидрогеназы, глутаматдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. При сниженных уровнях активности данных ферментов снижалась пролиферативная активность лимфоцитов и фибробластов, а также количество дендритных клеток, экспрессирующих CD86.

ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ STEMNESS-ГЕНОВ В КЛЕТКАХ ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ

Борисов П.А., Димитров А.Ю., Гольцев А.Н.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина
Харьков, ул. Переяславская, 23, тел: 380-57-3735789, cryopato@rambler.ru

Актуальность. В настоящее время мезенхимальные (МСК) и гемопоэтические (ГСК) стволовые клетки фетальной печени (ФП) применяются в клеточной и тканевой терапии. Важным компонентом технологического процесса применения в клинической практике биологических объектов является криоконсервирование. Самоподдержание и плюрипотентность стволовых клеток контролируются рядом транскрипционных факторов, наиболее известными из которых являются Nanog, Oct4 and SOX2. Изучение состояния stemness-генов поможет понять принципы функционирования геномного аппарата клеток после замораживания, а также модернизировать существующие протоколы криоконсервирования.

Цель работы: провести сравнительный анализ изменения уровня экспрессии генов Nanog, SOX2 и Oct4 в клетках фетальной печени мышей до и после криоконсервирования.

Материалы и методы. Объектом исследования были клетки ФП мышей 14 суток гестации. Фракции CD105+ (МСК) и CD117+ (ГСК) были получены методом иммуномагнитного сортинга на BD IMagnet (США). Криоконсервирование клеток ФП и выделенных фракций проводили в концентрации $1x10^6$/мл под защитой 10% ДМСО по программе: охлаждение до -25^0C со скоростью 10 град/мин с последующим погружением в жидкий азот (-196^0C). Отогрев проводили на водяной бане (400^0C). Сохранность нативных и криоконсервированных КФП оценивали по окрашиванию пропидий йодидом. ПЦР-РВ проводили на амплификаторе АНК-16 (Россия), относительный количественный анализ экспрессии stemness-генов проводили с помощью метода ΔΔCt.

Результаты. Показано, что использованные методы выделения и криоконсервирования позволяют сохранить высокий процент жизнеспособных клеток. Уровень экспрессии указанных генов в суспензии клеток ФП и выделенных фракциях до и после криоконсервирования отличался. Таким образом, криоконсервирование изменяет паттерн экспрессии stemness-генов в исследуемых фракциях клеток, что может по-разному отражаться на их характеристиках.

РАЗРАБОТКА МОДИФИЦИРОВАННОГО ТРАНСПЛАНТАТА ТВЕРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКИ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ

Боровкова Н.В., Миронов А.С., Земченкова Е.С., Неплюхин С.М., Хватов В.Б.

ГБУЗ НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ, г. Москва, Россия
Москва, Б. Сухаревская пл., д.3

Актуальность. Лапароскопические вмешательства находят всё более широкое применение и их по праву считают важным разделом в хирургии. С целью повышения эффективности и уменьшения послеоперационных осложнений возникла потребность в поиске нового дополнительного биотрансплантата.

Цель: разработка биотрансплантата твердой мозговой оболочки (ТМО) для эндоскопических вмешательств в реконструктивной хирургии.

Материалы и методы. Изготовление аллотрансплантата ТМО осуществляли в соответствии с действующими нормативно-правовыми документами РФ. Заготовку ТМО от внезапно умерших проводилась в стерильной операционной. Биологический материал погружали в криоконсервант с глицерином и карантинизировали. После получения данных о биобезопасности полученные лоскуты ТМО лиофилизировали до остаточной влажности 1–6% и расщепляли с помощью ленточно-двоильной машины с заданной толщиной 0,2–0,4 мм. Полученный аллотрансплантат ТМО стерилизовали гамма-лучами в дозе 2,5 М рад.

Результаты. Трансплантат ТМО толщиной 0,2–0,4 мм сохраняет свою механическую прочность. Средняя нагрузка для разрыва лиофилизированных образцов ТМО составила 9,5 кгс при растяжении 2 мм. После регидратации – 2,5 кгс при растяжении до 7,5 мм, что сопоставимо для ТМО стандартной толщины (0,8–1,0 мм). Новый трансплантат ТМО обладает высокой биосовместимостью и пластичностью, легко проводится через канал троакара размером 10,0 мм. Разработанный трансплантат применен у 14 пациентов при лапароскопической герниопластики. Послеоперационный период протекал без осложнений. Контрольный осмотр через 1 год – рецидива грыжи нет.

Выводы. Разработан и внедрен в клиническую практику эффективный утонченный модифицированный лиофилизированный аллогенный биотрансплантат ТМО для эндоскопических вмешательств в реконструктивной хирургии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ СЕМЕННИКОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ ПАКЛИТАКСЕЛА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ

Боровская Т.Г., Дыгай А.М.

ФГБУ НИИФ СО РАМН, Томск, Россия
г. Томск, пр. Ленина 3, тел. 7 (963) 195-42-63, repropharm@ yandex. ru

Актуальность. В настоящее время возросло число факторов внешней среды, оказывающих токсическое действие на семенники. Однако данные о механизмах их репаративной регенерации до сих пор противоречивы. Возможности вспомогательных репродуктивных технологий, как способа восстановления фертильности мужчин, ограничены.

Цель исследования: изучить механизм репаративной регенерации семенников крыс при введении паклитаксела (П) и возможность ее стимуляции с помощью гранулоцитарногорного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ).

Материал и методы исследования: Эксперименты проведены на 105 крысах популяции Вистар, 20 из которых составили интактную группу (фон). Животным контрольной (П) и опытной групп (П + Г-КСФ) вводили П, выбор которого обусловлен тем, что он повреждает стволовые сперматогонии (в максимально переносимой дозе). Крысам опытной группы через 1 мес после введения П вводили (1 раз в день в течение 5 дней) препарат Г-КСФ. Результаты оценивали через 2 и 3 мес после начала опыта с помощью морфологических и функциональных методов исследования. Результаты исследования: Установлено, что в исследуемые сроки в контроле наблюдается снижение количества сперматогоний на 30%, общего количества половых клеток, приходящихся на эпидидимис (ОКС), – на 40% от фона. Число клеток Сертоли к концу опыта имеет тенденцию к возрастанию. При этом выявляется незначительное, но статистически значимое снижение степени зрелости сперматогенного пласта ($P \leqslant 0{,}05$). На фоне введения Г-КСФ крысам, получавшим П, количество сперматогоний и ОКС во все дни опыт не отличаются от фоновых значений. Через 2 мес после начала опыта отмечается возрастание (в 2 раза) по сравнению с контролем количества клеток Сертоли и снижение степени зрелости сперматогенного пласта ($P \leqslant 0{,}05$).

Выводы: 1. Процесс репаративной регенерации сперматогенной ткани после введения П идет за счет образования извитых семенных канальцев незрелого типа; 2. Г-КСФ существенно стимулирует процесс репаративной регенерации тестикулярной ткани, поврежденной паклитакселом.

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПРОЦЕССА ОСТАТОЧНЫХ ОЧАГОВ ПОРАЖЕНИЯ В ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ МАЛОИНВАЗИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Борсуков А.В.[1], Лемешко З.А.[2], Мамошин А.В.[3], Морозова Т.Г.[1], Ковалев А.В.[1]

1 – Смоленская государственная медицинская академия. Смоленск, ул. Крупской 28, (4812) 55-02-75, nau@sgma.info
2 – Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, (495) 609-14-00.
3 – Орловский государственный университет. Орел, ул. Комсомольская, д. 95, (4862) 77-73-18, rector@univ-orel.ru

Цель. Определить особенности регенеративного процесса в различных по природе и локализации очагов поражения в паренхиматозных внутренних органах после различных видов малоинвазивного лечения.

Материал и методы. С 2004 по 2013 гг. на клинической базе ПНИЛ «Диагностические и малоинвазивные технологии» СГМА были проведены малоинвазивные чрескожные лечебные воздействия под ультразвуковым контролем у 207 больных (93 пациентов – склеротерапия 96% этиловым спиртом, 31 пациент – электрохимический лизис, 13 пациентов – радиочастотная аблация, 70 пациентов – интерстициальная лазерная фотокоагуляция). Из них пациентов с узловым зобом – 97, объемными образованиями печени – 42, объемные образования селезенки – 27, объемные образования почек – 41. Пациенты обследовались до и после лечения по стандартным программам с использованием ультразвуковых (УЗ) технологий, референтным методом явилась биопсия и спиральная компьютерная томография (СКТ).

Результаты. Было выявлено, что сразу же после различных методов малоинвазивного лечения, по данным цитологического и гистологического исследования, природа патологического очага у всех пациентов принимала одинаковую структуру, имеющую 4 стадии патоморфоза от дистрофии (1 ст.) до асептического некроза (4 ст.). Все очаги после лечения по данным УЗИ и СКТ имели сходные особенности эхоструктуры на разных этапах послеоперационного маниторинга (1,3, 6,9, 12 месяцев после лечения) к ним относятся: нечеткость и неправильность контуров (94% случаев), неоднородность структуры остаточного очага (100% случаях), плотные по структуре включения в очаге (16,6% случаев), формирование кальцинатов (17,2 % случаев) в зоне малоинвазивного лечения через 6–24 месяцев после воздействия. В отдаленном периоде (более 12 месяцев) гистологическая структура остаточного очага в различных органах представлена в виде соединительной ткани с участками фиброза и кальциноза.

Заключение. Установлена неизвестная ранее закономерность процессов регенерации остаточных очагов поражения в паренхиматозных внутренних органах человека

после различного малоинвазивного воздействия, заключающегося в том, что различные по типу и локализацйии остаточные очаги поражения имеют сходные последовательные стадии регенерации, обусловленные общими особенностями (клиническими, патоморфологическими, инструментальными) остаточных очагов поражения.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОСТЕО- И МЯГКОТКАННОЙ ИНТЕГРАЦИИ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ФИКСАЦИИ ПОКРЫВНОГО ПРОТЕЗА

Бронштейн Д.А., Кащенко П.В., Жаров А.В.

ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации ФМБА России», Москва, Россия, Москва, ул. Гамалеи, 15, тел. +7 (499) 196-48-75, olesova@bk.ru

Актуальность использования в клинике винтового или цементного соединения протеза и дентального имплантата обуславливает необходимость сравнительного анализа сохранения остео- и мягкотканой интеграции имплантатов в отдаленные сроки нагрузки.

Цель исследования: проследить в динамике за 3 года состояние периимплантатных тканей при использовании винтовой и цементной фиксации несъемных протезов на дентальных имплантатах.

Материалы и методы. Проведен клинико-рентгенологический анализ состояния 399 металлокерамических коронок на внутрикостных дентальных имплантатах у 134 пациентов (180 с цементной фиксацией и 219 – с винтовой).

Результаты. Воспалительные явления в периимплантатной десне при цементной фиксации регистрировались заметно чаще в сравнении с винтовой: воспалительные явления выявлялись от 5,2% в течение первого года до 17,7% – в течение третьего, в течение второго и третьего года отмечалась рецессия десны (соответственно 2,7% и 5,9%) и резорбция костной ткани (соответственно 5,4% и 11,7%); диагноз периимплантит выставлен в 6,7% наблюдений в течение второго и 7,4% – в течение третьего года; за 3 года удалено 2,4% имплантатов с цементной фиксацией коронок. При винтовой фиксации воспалительные осложнения встречались значительно реже: за 3 года воспаление в десне у имплантата развивалось реже на 16,5%, рецессия десны – на 20,7%, резорбция костной ткани – на 35,5%, периимплантит – на 27,7%, удаление имплантата – на 29,2%. Таким образом, эффективность несъемного протезирования на имплантатах в отдаленные сроки наблюдения ниже при цементной фиксации в сравнении с винтовой из-за более частого развития воспалительных явлений в периимплантатной десне.

ПАТОТРОПИЗМ ВЗРОСЛЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ГЕМОПОЭЗА К ГЛИОМЕ С6 В ЭКСПЕРИМЕНТЕ IN VITRO КАК СТРАТЕГИЧЕСКИЙ АРГУМЕНТ ПРИ ВЫБОРЕ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ СПОСОБОВ ЛЕЧЕНИЯ МУЛЬТИФОРМНОЙ ГЛИОБЛАСТОМЫ

Брюховецкий И.С.[1,2], Брюховецкий А.С.[3,4], Мищенко П.В.[1,2], Хотимченко Ю.С.

1 – Школа Биомедицины Дальневосточного федерального университета (Владивосток)
2 – Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (Владивосток)
3 – Клиника востановительной и интервенционной неврологии и терапии «Нейровита» (Москва)
4 – Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России

Актуальность. Мультиформная глиобластома – первичная, высоко инвазивная, злокачественная опухоль нервной системы с крайне неблагоприятным прогнозом. Выживаемость больных после хирургической резекции, облучения и химиотерапии не превышает 12–15 месяцев (Stupp et al., 2005). Неэффективность конвенционных методов терапии требует разработки новых терапевтических стратегий. В последние годы, в фокусе внимания исследователей оказался феномен направленной миграции нейральных стволовых клеток млекопитающих в опухолевый очаг. Это явление открывает широкие перспективы адресной доставки в опухоль химиопрепаратов, терапевтических генов, антител, трансляции специфического регуляторного сигнала. Однако использование собственных нейральных стволовых клеток пациента ограничено в виду их вовлеченности в мутагенез, и отсутствия четких различий с опухолевыми стволовыми клетками. Мы полагаем, что оптимальной альтернативой этой клеточной линии могут стать гемопоэтические CD34+\CD133+ стволовые клетки, поскольку их получение и хранение не представляет больших технических сложностей, а применение не сопряжено с целым рядом этических и юридических ограничений.

Цель работы: изучить в эксперименте in vitro способность взрослых предшественников гемопоэза к направленной миграции к клеткам злокачественной глиомы.

Материалы и методы. В работе использована клеточная линия крысиной глиомы линии С6 по своим свойствам наиболее близкая к мультиформной глиобластоме (Grobben et al., 2002; Rolf et al, 2009). Культура гемопоэтических CD34+\CD133+ стволовых клеток крысы была предоставлена АНО Национальный институт регенеративной медицины (г. Москва). Чистота клеточной популяции составила 89,7%. Для выделения первичной культуры астроцитов и фибробластов использовали 12 дневные крысиные эмбрионы, эти

клетки использовались в качестве контроля. Для создания кокультур дно 12-луночного планшета покрывали полиэтиленимином и ламинином. В каждую лунку помещали культуральную вставку Millipore (диаметр 12 мм, размер пор 0,4 мкм) и вносили $0,5*10^6$ клеток глиомы, астроцитов и фибробластов крысы. Перед в несением в кокультуру гемопоэтические стволовые клетки были обработаны флуоресцентным красителем Vybrant® CFDA SE Cell Tracer (Life Technologies, V12883). Подсчет клеток в области проекции мембраны культуральной вставки осуществлялся с помощью программы Photo-Capt v. 12.4 с первого по десятый день культивирования.

Результаты. Эксперимент позволил обнаружить феномен формирования клеточного вала гемопоэтическими стволовыми клетками, располагавшимися по периметру культуральной вставки содержащей культуру глиомы С6. Данный феномен не наблюдался в лунках с культурами нормальных фибробластов и астроцитов. Как правило, в естественных условиях источником хемоатрактантов привлекающих стволовые поврежденные являются клетки и ткани. Очевидно, что в данном случае источником хемоатрактантов привлекающих стволовые клетки является именно глиома.

Выводы. Взрослые предшественники гемопоэза демонстрируют отчетливый патотропизм к клеткам неопластическим клеткам глиомы С6, что позволяют рассматривать их как оптимальную линию для разработки инновационных противоопухолевых биотехнологий.

ПОСТТРАВМАТИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ В УСЛОВИЯХ ИМПЛАНТАЦИИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ, ИЗВЛЕЧЕННОЙ В МОМЕНТ ОПЕРАЦИИ, И ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Булякова Н.В., Азарова В.С.

ФГБУН «ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН», Москва, Россия
Москва, Ленинский пр-т, 33, тел. +7 (495) 954-16-00

Актуальность. В настоящее время большое число ученых и клиницистов работает в области создания различных биотехнологий с целью улучшения структуры и функции поврежденных скелетных мышц. Среди разрабатываемых и постоянно усовершенствуемых методов заслуживают внимания методы, направленные на сокращение времени манипуляций с биологическим материалом вне организма. Целью данного исследования было оценить эффект мышечных аллоплантов на восстановление травмированных мышц в зависимости от возраста донора и реципиента.

Материалы и методы. Аллопластика области мышечной травмы была исследована у молодых (1–1.5 мес), взрослых (3–4 мес) и старых (24–36 мес) крыс. В каждой возрастной группе животных разделили на 2 подгруппы. У одних крыс задние конечности в области проекции икроножных мышц до операции облучали He-Ne лазером в дозе 4.5–

5.4 Дж/см^2. Другая подгруппа животных облучению не подвергалась. Затем была проведена перекрестная аллопластика между крысами с облученными задними конечностями и необлученными. В каждой подгруппе одно и тоже животное было и донором, и реципиентом. В результате в одной подгруппе регенераты состояли из облученных лазером икроножных мышц с необлученной аллогенной мышечной тканью, в другой – наоборот. **Результаты.** Данные показали, что в обоих условиях лазерного воздействия аллогенная мышечная ткань, имплантированная от животного того же возраста, способна к регенерации. Однако эффективность восстановления мышц у молодых крыс была выше. Область травмы почти полностью заполнялась регенерирующими мышечными волокнами. В 30-суточных регенератах количество мышечной ткани равнялось 84–88%. У взрослых крыс область травмы на 2/3 была заполнена мышечной тканью. Количество мышечной ткани в целом регенерате составляло 75–77%. У старых крыс в области травмы 30-суточных регенератов формировались соединительная и жировая ткань, а также одиночно лежащие узкие мышечные волокна. Регенерат на 69–70% состоял из мышечной ткани. В следующем эксперименте аллопластика области повреждения в мышце проведена с помощью мышечной ткани новорожденных крысят. У взрослых (3–4 мес) и стареющих крыс (12–15 мес) крыс до операции область проекции икроножных мышц облучали лазером в дозе 7.5–9.0 Дж/см^2. Показано, что у взрослых крыс на ранних сроках регенерации аллогенная мышечная ткань развивалась активнее, чем у стареющих. Однако процесс регенерации как у взрослых, так и у стареющих животных осложнялся. На 30-е сутки в области травмы среди узких регенерирующих аллогенных мышечных волокон наблюдалась рыхлая соединительная ткань с жировым перерождением и эктопическое образование узелков хрящевой ткани. Возможно, это объясняется неокончательным созреванием мышечной ткани к моменту рождения крысят и наличием сравнительно большого количества некоммитированных клеток.

Таким образом, эффект пластики области травмы в мышце с помощью измельченной мышечной ткани зависит от возраста донора и реципиента, а также уровня дифференцировки мышечной ткани.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ОСТЕОГЕННОГО ДИФФЕРОНА В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Буравкова Л.Б., Григорьев А.И.

ФГБУН ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, Россия
Москва, 123007, Хорошевское ш. 76-а, тел. +7 (499) 195-22-43,
buravkova@imbp.ru

Одной из важных проблем длительных комических полетов является нарушение ремоделирования и репарации костной ткани. В механизмы этих изменений вовлечены мезенхимальные стволовые клетки (МСК) костного мозга, на дифференцировку которых влияет

микрогравитация. Все больше аргументов появляется в пользу того, что в регуляции дифференцировочного потенциала стволовых клеток в зависимости от требований «внешнего механического поля» огромную роль играют структуры цитоскелета клетки, тесно взаимосвязанные с поверхностными рецепторами. Показана реорганизация элементов цитоскелета и изменение уровня экспрессии ассоциированных с ним генов, что можно рассматривать как один из ранних механизмов адаптации клеток к микрогравитации.

Однако, следует учитывать всю совокупность факторов (межклеточные взаимодействия, растворимые регуляторы, внеклеточный матрикс и др.) для того, чтобы выявить механизмы, которые необходимы для поддержания тонкого баланса между двумя направлениями дифференцировки стволовых клеток, возможное нарушение которого в условиях микрогравитации может приводить к таким клиническим проявлениям, как остеопения или остеопороз. В МСК существует удивительная взаимосвязь между остегенезом и адипогенезом, обусловленная существованием общих сигнальных путей регуляции, которые определяют приоритет в развитии одного из направлений, исходя из поступающих к клеткам сигналов. Ключевым транскрипционным фактором адипогенеза является PPARγ2, который функционирует как доминантный негативный регулятор остеогенеза. Специфическая активация PPARγ2 ведет к полной супрессии основных транскрипционных факторов остеогенеза – cbfa1/Runx2 и Osterix, и конверсии бипотентных мезенхимальных предшественников в адипоциты, не влияя на морфофункциональное состояние остеобластов при завершении их дифференцировки. Выявленные молекулярно-клеточные механизмы изменения сигнал-проводящих путей в МСК костного мозга при действии микрогравитации позволяют наметить пути поиска средств коррекции неблагоприятных изменений остеогенного дифферона.

Работа выполнена при поддержке гранта «Ведущие научные школы» № 1207.2012.4

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРУБЧАТОЙ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННОЙ СОСУДИСТОЙ МАТРИЦЫ ДЛЯ УРЕТРОПЛАСТИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Бутнару Д.В., Винаров А.З., Шехтер А.Б., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Гуллер А.Е., Люндуп А.В., Данилевский М.И., Елистратов П.А., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел. +7 (916) 777-32-31,
butnaru_dv@mail.ru

Актуальность. Одной из актуальных задач урологии является восстановление функции уретры при стриктурах и деструктивных поражениях.

Цель. В эксперименте на кроликах определить эффективность реконструкции дефекта стенки уретры с использованием трубчатой децеллюляризированной сосудистой матрицы (ТДСМ) с учетом оценки биосовместимости и биодеградации имплантируемой матрицы и возможностей ее эпителизации.

Материалы и методы. Выполняли заместительную пластику экспериментального дефекта уретры (L=1,8 см), ферментно децеллюляризированным трубчатым матриксом бедренной артерии человека. Оценивали функциональные результаты операции (до 180 суток после имплантации), в том числе с использованием ретроградной уретрографии, а также выполняли морфологическое исследование (до 30 суток после имплантации).

Результаты. Самостоятельное мочеиспускание восстановилось у всех животных и сохранялось до конца наблюдения, признаков облитерации просвета уретры не обнаружено. Морфологическое исследование показало, что ТДСМ представляет собой бесклеточный коллагеновый каркас артерии. Биодеградация ТДСМ к 30 суткам после операции незначительна. Вокруг имплантата формируется соединительнотканная капсула, чаще всего отделенная небольшой щелью от его наружной поверхности. Начиная с 10 суток после операции, со стороны резидентных тканей уретры наблюдается постепенный рост эпителиального пласта по поверхности капсулы, обращенной к данной щели.

Выводы. ТДСМ характеризуется высокой биосовместимостью и низкой скоростью биодеградации. Поверхности матрицы не эпителизируются, однако, рост эпителия на внутренней поверхности соединительнотканной капсулы, формирующейся вокруг имплантата, наряду с хорошим функциональным результатом, указывают на возможность использования подобной матрицы в качестве временного стента, предотвращающего стеноз и обеспечивающего возможность реконструкции уретры.

КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ СОСУДИСТОЙ МАТРИЦЫ И АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ЩЕКИ ДЛЯ УРЕТРОПЛАСТИКИ

Бутнару Д.В., Винаров А.З., Люндуп А.В., Данилевский М.И., Елистратов П.А., Шехтер А.Б., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Гуллер А.Е., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел. +7 (916) 777-32-31,
butnaru_dv@mail.ru

Актуальность. Стриктуры мочеиспускательного канала остаются одной из сложных урологических проблем. Идеального материала для заместительной уретропластики пока

не существует. Этот факт обусловил широкий интерес к мочеиспускательному каналу, как к объекту тканевой инженерии.

Цель. Оценить безопасность и эффективность использования тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризированной трупной артериальной стенки и аутологичных клеток слизистой оболочки щеки для заместительной уретропластики у пациента со стриктурой луковичного отдела уретры, протяженностью 2.5 см.

Материалы и методы. Фрагмент слизистой оболочки щеки пациента размером 0.5×0.5 см использовали в качестве источника эпителиоцитов, которые культивировали в стандартных лабораторных условиях 5 недель. Клеточную культуру высевали на децеллюляризированную матрицу и культивировали в бессывороточной полной питательной среде 6 дней. Полученную тканеинженерную конструкцию имплантировали пациенту в луковичный отдел уретры по технике Asopa (dorsal inlay). Мочевой пузырь дренировался уретральным катетером и цистостомическим дренажем 28 дней. После удаления катетера выполнялась ретроградная и микционная цистоуретрография, урофлоуметрия, оценивался объем остаточной мочи.

Результаты. Данные ретроградной уретрографии и микционной цистоуретрографии указали на отсутствие стриктуры и затеков контрастного вещества в зоне операции. Максимальная скорость мочеиспускания 24.6 мл/с., средняя – 16.3 мл/с., при объеме 132 мл. Остаточной мочи нет. Срок наблюдения 4 недели.

Выводы. При сроке наблюдения 4 недели, тканеинженерная конструкция на основе децеллюляризированной трупной артериальной стенки и аутологичных клеток слизистой оболочки щеки, показала свою эффективность и безопасность для заместительной уретропластики у пациента со стриктурой луковичного отдела уретры, протяженностью 2.5 см. Необходимы дополнительные исследования и более длительный срок наблюдения.

IN VIVO ОЦЕНКА ОСТЕОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ ММСК ЖТ, ПОЛИЛАКТИДНЫХ НОСИТЕЛЕЙ И ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕЛЯ

Бухарова Т.Б., Антонов Е.Н., Попова А.В., Гольдштейн Д.В., Попов В.К., Волков А.В.

ФГБУ «МГНЦ» РАМН; ФГБУ «НИИМЧ» РАМН; ИПЛИТ РАН (Москва, Россия)
Москва, ул. Москворечье, д.1, +7 (495) 324-20-24,
bukharova-rmt@yandex.ru

Актуальность. Важная задача современной медицины – эффективная терапия костных дефектов. Одним из подходов к восстановлению структурной целостности и механических функций поврежденной ткани является использование тканеинженерных эквивалентов на основе биосовместимых материалов и остеогенных клеточных культур.

Цель исследования. Изучить формирование костной ткани при внутримышечной трансплантации крысам тканеинженерной конструкции (ТИК) на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани (ММСК ЖТ), полилактидных носителей и тромбоцитарного геля.

Материалы и методы. Для остеогенной дифференцировки ММСК ЖТ крыс инкубировали 14 суток в среде: DMEM, 10% ЭТС, 50мг/л L-аскорбиновой кислоты, 10мМ/л β-глицерофосфата натрия и 10нМ 1α, 25-дигидроксикальциферола. Трехмерные пористые носители изготавливали из гранул поли-D, L-лактида (Mw = 83 кДа) методом поверхностно-селективного лазерного спекания. Суспензию ММСК ЖТ в обогащенной тромбоцитами плазме крови (8 млн клеток на 1 мл плазмы) наносили на матрицы и добавляли тромбин для образования тромбоцитарного геля. Конструкции трансплантировали крысам Sprague-Dawley в толщу бедренных мышц.

Результаты. На 30 сутки после введения ТИК между гранулами полилактида обнаруживалась ретикулофиброзная костная ткань с центрально расположенным капилляром, структурированным межклеточным веществом и активными остеобластами. Вокруг гранул была сформирована тонкая соединительнотканная капсула, местами встречались макрофаги. Незначительно выражена воспалительная реакция с преобладанием плазмоцитов. В контрольной группе (без клеток) выявлялась соединительная ткань с большим количеством фибробластоподобных клеток, лимфо- и плазмоцитов и макрофагов.

Вывод. ТИК на основе аутологичных ММСК ЖТ, дифференцированных в остеогенном направлении, полилактидных носителей и тромбоцитарного геля индуцирует формирование костной ткани в гетеротопической локализации, что свидетельствует о ее высоком остеогенном потенциале и служит обоснованием применения для регенерации костной ткани.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты13–02–12041,13–04–12073).

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ЧЕЛЮСТЕЙ В ОТДАЛЁННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ПО БЕЛКОВОМУ СПЕКТРУ СЛЮНЫ И ПЕРИИМПЛАНТАЦИОННОЙ ЖИДКОСТИ

Вавилова Т.П., Базикян Э.А., Савич О.В.

ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова (Москва, Россия)
Москва, 127473, ул. Делегатская 20/1, +7 (495) 365-45-97,
TPVavilova@rambler.ru

Актуальность. После дентальной имплантации могут нарушаться процессы регенерации, что приводит к дезинтеграции имплантанта.

Цель исследования. Изучить регенерацию тканей пародонта, иммунный ответ и антибактериальную защиту у пациентов после отсроченной дентальной имплантации по показателям смешанной слюны и периимплантационной жидкости.

Материалы и методы. У 47 пациентов, которым после лечения пародонтита была проведена отсроченная дентальная имплантация с применением имплантов Anthogyr были отобраны образцы слюны и периимплантационной жидкости до имплантации и через 1, 2, 3 и 5 лет после операции. Методом иммуноферментного анализа в образцах слюны исследовали содержание иммуноглобулинов sIgA, IgG, IgM (мг/мл), а в периимплантационной жидкости количество остеокальцина (нг/мл) и фактора роста сосудистого эндотелия (изоформа А) (VEGF-A) (пг/мл).

Результаты. Согласно полученным нами данным, спустя год после имплантации в смешанной слюне пациентов наблюдалось достоверное ($p<0,05$; $p<0,001$) снижение количества sIgA, IgM и увеличение уровня IgG по отношению к исходным данным. Через 2–3 года после операции в слюне достоверно ($p<0,05$) увеличивалось количество sIgA, IgM и IgG по отношению к показателям слюны через 1 год, но эти значения имели достоверные ($p<0,05$; $p<0,001$) отличия от исходных показателей. В периимплантационной жидкости через 5 лет наблюдалось достоверное ($p<0,05$) увеличение количества остеокальцина по сравнению с результатами первого и второго года. Содержание VEGF-A в периимплантационной жидкости увеличивалось в 2 раза в образцах, полученных через два года после операции, а через 5 лет количество этого пептида приближалось к значениям 1-ого года после имплантации.

Выводы. В отдалённые сроки после дентальной имплантации отмечается реакция иммунокомпетентных клеток в ответ на инородное тело, введённое в челюсть. Пик формирования сосудистого русла приходится на 2–3 год после дентальной имплантации, а процессы минерализации наиболее выражены в более поздние сроки.

НОВЫЙ АЛЛОГЕННЫЙ КОМБИНИРОВАННЫЙ ТРАНСПЛАНТАТ

Ваза А.Ю., Боровкова Н.В., Клюквин И.Ю., Миронов А.С., Хватов В.Б.

ГБУЗ НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы, Россия
Москва, Б. Сухаревская пл., д.3. vazal@inbox.ru

Актуальность. В отделении неотложной травматологии НИИ СП им. Н.В. Склифосовского для замещения травматических дефектов губчатой кости используют аллогенные лиофилизированные недеминерализованные костные губчатые трансплантаты или лиофилизированную губку из аллогенного коллагена типа 1 с костной крошкой. Костный трансплантат обладает высокой структурной прочностью (выдерживает нагрузку 1700–2000 МПа), но остеокондуктивный эффект гораздо слабее, чем у губки. Губка обладает выраженными остеоиндуктивным и остеокондуктивными эффектами, но не имеет структурной прочности.

Цель: создать пластический материал по механическим свойствам близкий к костному трансплантату, а по остеокондуктивному и остеоиндуктивному эффектам близкий к губке.

Материалы и методы. Создали 4 образца. Нативный недеминерализованный матрикс губчатой кости (НДМК) (№1), НДМК с коллагеном типа 1 (№2), НДМК с коллагеном типа 1 и с фибринолитически активной плазмой (№3), НДМК с коллагеном типа 1 с костной пудрой. Все 4 образца исследовали в культуре фибробластов. Исследовали жесткость. Результат. Через 2 суток культивирования фибробласты человека были выявлены на поверхности образцов № 2, 3 и 4, образец №1 не содержал клеток. В образцах №2 содержание прикрепленных клеток на поверхности кости к концу 2-х суток составляло 5–8 тыс/см^2, в образце №3 – 16–18 тыс/см^2, в образце №4 – 5–7 тыс/см^2, в контрольных лунках с коллагеном – 14–19 тыс/см^2. Одновременно с этим во всех лунках количество прикрепленных клеток на стекле (вне кости) составляло 18–20 тыс/см^2. При исследовании на жесткость, пропитанные коллагеном образцы выдерживали нагрузку в 1400–1700 МПа, что сопоставимо с нативными образцами.

Выводы. 1. Предложенный комбинированный трансплантат обладает структурной прочностью. 2. Трансплантат обладает остеоиндуктивным и остеокондуктивным эффектами. 3. Трансплантат может служить носителем клеток и биологически активных веществ.

СОЗДАНИЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИСПРАВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ НА ОСНОВЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРЫС ЛИНИИ BRATTLEBORO

Васькова Е.А.[1,2,3], Медведев С.П.[1,2,3], Стекленева А.Е.[1,2,3], Немудрый А.А.[1,2,3], Елисафенко Е.А.[1,2,3], Евшин И.С.[4], Шарипов Р.Н.[4], Сайфутдинова С.Г.[4], Шевченко А.И.[1,2,3], Кизилова Е.А.[1], Железова А.И.[1], Иванова Л.Н.[1], Покушалов Е.А.[2], Сухих Г.Т.[5], Закиян С.М.[1,2,3]

1 – ФГБУ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия,
2 – НИИПК им. ак. Е.Н. Мешалкина Минздравсоцразвития РФ, Новосибирск, Россия,
3 – ФГБУ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия
4 – ФГБУ Конструкторско-технологический институт вычислительной техники СО РАН, Новосибирск, Россия,
5 – ФГБУ НЦАГиП им. В.И. Кулакова Минздрава РФ, Москва, Россия
Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10, +7 (383) 363-49-37*1005, vaskova@bionet.nsc.ru

Актуальность. Одним из наиболее перспективных направлений в современной биомедицине является клеточная терапия заболеваний, вызванных генетическими нарушениями. Развитие технологии получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) в совокупности с новыми эффективными методиками редактирования генома (TALEN, CRISPR/Cas9) позволяет создать высоковоспроизводимую и универсальную систему для исправления генетических мутаций.

Результаты. В данной работе была создана система для изучения, а также апробации новых подходов в заместительной клеточной терапии с использованием в качестве модельного животного крыс линии Brattleboro, несущие мутацию, вызывающую развитие наследственного несахарного гипоталамического диабета. В результате для создания данной системы были получены и охарактеризованы плюрипотентные клетки крыс Brattleboro (и контрольной линии крыс WAG), и генетические конструкции, кодирующие нуклеазы TALENs и CRISPR/Cas9 на район локализации мутации. Введение генетических конструкций в плюрипотентные клетки крыс Brattleboro позволит детектировать коррекцию мутантного фенотипа.

Данная система является универсальной и может быть использована для других заболеваний, а результаты транслированы на человека.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПУЛЬПЫ МОЛОЧНОГО ЗУБА КАК МАТЕРИАЛ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Вахрушев И.В.[1], Каралкин П.А.[1], Комлев В.С.[2], Федотов А.Ю.[2], Попов В.К.[3], Антонов Е.Н.[3], Ярыгин К.Н.[1,4]

1 – НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, Россия, Москва
119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, +7 (499) 246-69-80, vakhrunya@gmail.com
2 – Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН, Россия, Москва
3 – Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, Россия, Москва
4 – НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Россия, Москва

Мы исследовали мезенхимальные стволовые клетки (МСК) пульпы молочного зуба человека с точки зрения возможности их использования для регенерации тканей мезодермального происхождения и при оценке биологических свойств различных носителей клеток (матриксов), предназначенных для тканевой инженерии. Из пульпы молочных зубов, выпавших естественным путем, были получены первичные культуры адгезивных мезенхимальных клеток, обладавших характерным для МСК фенотипом CD29+, CD34-, CD44+, CD45-, CD49b+, CD73+, CD90+, HLA-DR. Клетки были успешно индуцированы к дифференцировке в адипогенном, хондрогенном и остеогенном направлениях. МСК пульпы молочного зуба были использованы для заселения различных матриксов, включая ряд кальцийфосфатных, полимерных и композитных материалов. Исследование цитотоксичности матриксов, клеточной адгезии, а также пролиферации клеток при культивировании в составе тканеинженерных конструкций позволило сравнить биологические свойства разрабатываемых матриксов и оценить in vitro возможность использования каждого из

них в регенеративной медицине. Результаты работы позволяют сделать вывод о том, что пульпа молочного зуба является доступным источником МСК, которые могут быть эффективно применены для создания экспериментальных образцов разнообразных тканеинженерных конструкций и характеристики их свойств. МСК пульпы молочного зуба являются перспективным клеточным материалом для регенеративной медицины.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 13-02-12041 и 13-04-12073).

КОМПЛЕКСНОЕ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ ЛЕЧЕНИЕ СТЕНОКАРДИИ НАПРЯЖЕНИЯ

Ведехина О.Ю.

ФГБОУ ВПО «ТулГУ», Медицинский институт, Тула, Россия
Тула, пр-т Ленина, 92, тел.: +7 (4872) 33-10-09

Актуальность сердечно-сосудистых заболеваний, в первую очередь ишемической болезни сердца (ИБС), в настоящее время не вызывает сомнений, и побуждает врачей искать новые возможности в лечении пациентов. И это касается не только фармакотерапии, но и эффективных немедикаментозных методов лечения, особенно в восстановительном периоде, с целью улучшения качества жизни, повышения толерантости к физическим нагрузкам, снижения числа сердечно-сосудистых осложнений, замедления прогрессирования заболевания. Особый интерес представляет возможность комплексного применения препаратов метаболического действия и внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК) в виду определенной схожести механизмов их действия. Целью проведения планируемого исследования является повышение эффективности лечения больных ИБС: стенокардией напряжения путем комплексного воздействия на организм ВЛОК и препаратов метаболического действия.

Планируется проведение рандомизированного контролируемого исследования, в котором опытную группу составят больные ИБС: стенокардией напряжения II–III ФК, получающие совместно с базисной терапией миокардиальные цитопротекторы и ВЛОК, в контрольной же группе больных ИБС: стенокардией напряжения II–III ФК лечение будет включать в себя только базисную терапию в соответствии с современными национальными клиническими рекомендациями. Оценка эффективности будет проводиться по результатам нагрузочных проб, ЭхоКГ, данным лабораторных методов обследования, а также путем определения уровня качества жизни пациента. Учитывая накопленный опыт и современное состояние экспериментальной и клинической кардиологии в изучении патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний на уровне субклеточных структур и молекулярных реакций, предполагается возможность потенцирования благоприятных эффектов лечения больных ИБС при совместном проведении ВЛОК и приеме миокардиальных цитопротекторов.

ОПЫТ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МСК ИЗ ЭНДОМЕТРИЯ

Верясов В.Н., Чернуха Г.Е., Захаров А.В., Табеева Г.И., Чулкина М.М., Савилова А.М.

ФГБУ «НЦАГиП им. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия
Москва, ул. Академика Опарина, 4, тел. +7 (495) 438-49-51,
v_veryasov@oparina4.ru

Одной из основных тенденций в области исследования стволовых клеток является поиск новых источников мезенхимальных стромальных клеток (МСК), альтернативных костному мозгу и жировой ткани. Перспективным источником МСК является ткань эндометрия в связи с ее высоким пролиферативным потенциалом и доступностью. Новизна работы заключается в использовании уникальных свойств МСК для решения гинекологических проблем. До настоящего момента клинические исследования эндометриальных МСК касались терапии таких заболеваний как нейральные патологии, инфаркт миокарда, болезнь Дюшена, рассеянный склероз и т.п. Целью пилотного исследования явилась оценка безопасности и эффективности применения аутологичных эндометриальных МСК при системном введении для восстановления функциональной активности эндометрия. Обязательным условием участия пациенток в данной программе являлось их информированное согласие.

Материалы и методы. От пациенток с диагнозом «синдром Ашермана» («вторичная маточная аменорея») было получено 10 культур эндометриальных МСК: материал от 8 пациенток взят при пайпель-биопсии и от 2-х при кюреттаже эндометрия. Восьми пациенткам было проведено однократное внутривенное введение от 20 до 40 млн выращенных в лаборатории и охарактеризованных немодифицированных аутологичных МСК. Двум пациенткам было проведено повторное введение клеток через 2 месяца.

Результаты. Наиболее значимым результатом работы следует считать отсутствие побочных эффектов (аллергических, воспалительных реакций) на внутривенное введение данного количества клеток у всех пациенток, включенных в исследование. После введения клеток у 2-х пациенток восстановился регулярный ритм менструаций, у 4-х пациенток при УЗИ зарегистрировано увеличение толщины эндометрия от исходных 3–5 мм до 7–8 мм. У остальных женщин изменений в толщине эндометрия не выявлено.

Данные результаты мы рассматриваем как обнадеживающие. Основными направлениями усиления эффекта МСК мы считаем увеличение количества вводимых клеток до 80–100 млн и кратности введения до 2–3 процедур, а также комбинацию локального и системного введения.

ДИАГНОСТИКА АДАПТИВНО-КОМПЕНСАТОРНЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА

Виха Г.В., Папазов И.П.

Институт диагностики и профилактики социально-значимых заболеваний (НОУ), Москва, Россия, Ленинский проспект 88, кор.3, оф.100, тел +7 (916) 438-08-55, e-mail: galinavikha@yandex.ru

Актуальность. Уровень секреторного иммуноглобулина А (sIgA) в значительной мере отражает активность секреторных механизмов системы адаптивного иммунитета слизистых обо-лочек. SIgA служит не только противоинфекционным барьером, но и участвует в гомеостатической регуляции, являясь биологическим маркером, который выявляет изменения систем регуляции организма в ответ на внешние агрессивные факторы.

Цель исследования. Найти клинико-лабораторный критерий, позволяющий дать количественную оценку функционального состояния организма по типу развивающейся адаптивной реакции. Это позволит судить об уровне резистентности, адаптационных резервах организма, которые можно использовать для диагностики и контроля коррекции состояния адаптации и болезни человека. Широкий диапазон секретов организма дает возможность контролировать целый ряд патологий. Определение статуса мукозного иммунитета имеет существенное значение для диагностики и лечения ряда заболеваний кишечника, верхних дыхательных путей, ротовой полости, урогенитальной области и др.

Материалы и методы. SIgA определяли с помощью набора реагентов для количественного иммуно-ферментного определения sIgA, производства ООО «Прогрессивные Био-Медицинские Технологии», Москва. В качестве объекта исследования были фекалии (266 образцов), нестимулированная слюна (850 образцов).

Результаты. Наши исследования показали, что в целях повышения эффективности лекарст-венной терапии необходим контроль sIgA для мониторинга антибиотикотерапии, химиотерапии, бактериотерапии (подбор индивидуальных курсов). Другие сферы использования показателя мукозной иммунной защиты sIgA: наблюдение за ходом развития заболевания и контроля за ходом лечения пациента, контроль применения иммуномодуляторов и пищевых добавок, выявление пищевой непереносимости, отбор лиц для профессий, связанных с экстремальными условиями труда. Введение таких исследований в клинике позволит развить персонифицированную диагностику, лекарственный мониторинг, оценку эффективности лечения конкретного человека, исключит побочные эффекты.

МИКРОТРАНСПЛАНТАТ ФИБРОБЛАСТОВ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Вишнякова Х.С.[1], Попов К.В.[1,2], Панаев Я.И.[1], Егоров Е.Е.[1,2]

1 – ИМБ РАН, Москва, ул. Вавилова д.32. www.eimb.ru
2 – МФТИ, г. Долгопрудный, Моск. обл., Институтский пер. д. 9,
+7 (495) 408-45-54

Актуальность. Клеточная терапия является уникальным методом лечения различных заболеваний, однако ее эффективность часто ограничивается тем, что трансплантируемые клетки попадают в неблагоприятные условия, в результате чего не выполняют свою функцию и быстро дегенерируют. Большинство клеток для своего функционирования нуждаются в клеточных контактах. Вводимые в виде суспензии клетки изначально должны образовать определенные контакты, изменить свою форму и лишь, затем приступить к функционированию.

Цель. Идея микротрансплантата (МКТ) является промежуточной формой между клеточной трансплантацией и тканевой инженерией, когда трансплантируют не отдельные клетки, а преформированные, готовые к работе надклеточные субъединицы, состоящие из носителя и группы клеток, которые имеют контакты друг с другом. Такой способ введения позволяет клеткам избежать длительного периода адаптации после введения в ткань, а имеющиеся в микротрансплантате структурные элементы могут послужить затравкой для организации ткани.

Материалы и методы. Исследовали свойства фибробластов кожи человека в составе нитчатого полигликолевого МКТ. Размер нитей составлял несколько сот микронов в длину и 15 микронов в диаметре.

Результаты. В первые дни после заселения МКТ происходит быстрая пролиферация клеток на нитях. При переносе МКТ в стандартный культуральный сосуд, клетки мигрируют на пластик и продолжают пролиферацию. Оказалось, что клетки, заселившие нити обладают повышенной способностью к колониеобразованию и необычайно гомогенны. Транскриптомный анализ показал, что пребывание клеток в составе МКТ приводит к увеличению транскрипции генов раннего ответа и антиапоптозному эффекту. Возможным объяснением эффекта «омоложения» клеток в составе МКТ, является селекция клеток по их прикрепляемости к сравнительно тонким нитям МКТ, которая исключает крупные стареющие клетки.

Выводы. В процессе образования МКТ происходит омолаживание популяции клеток за счет селекции против стареющих и поврежденных.

АУТОФАГИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ?

Вишнякова Х.С.[1], Попов К.В.[1,2], Размахаев Г.С.[3], Егоров Е.Е.[1,2]

1 – ИМБ РАН, Москва, ул. Вавилова д.32. www.eimb.ru
2 – МФТИ, г. Долгопрудный, Моск. обл., Институтский пер. д. 9, +7 (495) 408-45-54
3 – РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, ул. Островитянова, д. 1, rsmu@rsmu.ru

Старение клеток человека происходит неравномерно. Стареющие клетки часто нарушают функции соседних, еще не подверженных старению клеток. Стимуляция регенерации тканей может иметь огромное практическое значение в медицине, особенно в гериатрии. Один из возможных способов индукции регенерации состоит в избирательном удалении из ткани стареющих и поврежденных клеток. Изучая механизм действия средства для стимуляции роста волос “Satura® Rosta”, обнаружили, что препарат in vitro не стимулирует пролиферацию различных клеток человека и не повышает их устойчивость к стрессу. Наоборот, в условиях окислительного стресса препарат становился цитотоксическим, хотя и не вызывал увеличения продукции активных форм кислорода. В дальнейшем показали, что препарат повышает транскрипционную активность гена p53, активирует аутофагию и вызывает слабую адипогенную дифференцировку.

Старение клеток сопровождается развитием окислительного стресса, который, как известно, резко усиливает процессы аутофагии, что может вести к аутофагической гибели клетки. Препарат “Satura® Rosta” способен усиливать аутофагию, поэтому при окислительном стрессе процесс из поддерживающего гомеостаз может становиться разрушительным: в условиях окислительного стресса мы наблюдали гибель клеток.

Усиление аутофагии способно вызывать постепенное самопереваривание стареющих и поврежденных клеток, подверженных окислительному стрессу; очищать стареющие клетки от поврежденных белков и органелл, улучшая тем самым их функции и ускоряя обмен белков. Индукция аутофагии приводит к высвобождению высокоэнергетических продуктов, способных ускорить метаболизм соседних клеток, как это происходит при индукции аутофагии в фибробластах, ассоциированных с опухолью. Этот процесс может способствовать восстановлению подкожной жировой клетчатки – депо питательных веществ и энергии, обязательному для начала роста волоса.

Предлагается гипотеза аутофагической регенерации, согласно которой избирательная аутофагическая гибель старых и поврежденных клеток, находящихся в состоянии окислительного стресса, запускает процесс регенерации.

СИНЕРГИЗМ ДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНГАЛЯЦИОННЫХ ОЖОГОВ ТРАХЕИ

Волкова А.Г.[1], Шарапов М.Г.[1], Темнов А.А.[2], Новоселов В.И.[1]

1 – ИБК РАН, г. Пущино, Россия, 142292, МО, Пущино, ул. Институтская
2 – НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, 129010, Москва, Б. Сухаревская пл., д. 3

Актуальность. По данным литературы частота встречаемости химических ожогов (ХО) составляет 4,8–5,6%. Однако, ХО протекают более тяжело и сопровождаются большим процентом летальности. Патологические механизмы ХО включают: окислительный стресс, являющимся одним из основных поражающих факторов, в первую очередь в эпителиальных тканях, резкое усиление апоптоза клеток эпителия и развитие воспалительного процесса. Таким образом, при лечении тяжелых, ингаляционных ожогов, необходимо нейтрализовать мощный окислительный стресс, уменьшить апоптоз и одновременно усилить регенерационные процессы.

Целью работы было изучение эффективности комбинированного препарата, состоящего из химерного полученного генно-инженерными методами фермент-антиоксидантного белка пероксиредоксин6- Mn-супероксиддисмутаза (PSH), который способен нейтрализовать весь спектр активных форм кислорода и белков, полученных при культивировании мезенхимальных стволовых клеток (МСК), обладающих прогенераторным, антиапоптотическим и противовоспалительным действием при лечении ингаляционного ХО.

Методы. В качестве экспериментальной модели был использован ХО верхних дыхательных путей крысы парами соляной кислоты. Пары соляной кислоты вызывают в первую очередь гибель реснитчатые клетки с последующей гибелью клеток эпителия трахеи, и развитием острого гнойного воспаления.

Результаты. Частичное восстановление трахеи наблюдается на 7–10 день. Аппликации в течение первых 3–5 часов после ХО непосредственно в трахею химерного белка PSH предотвращает гибель клеток и эпителий остается частично сохраненным. Аппликация белков МСК ускоряет процесс восстановления эпителия. Одновременная аппликация белков МСК и белка PSH практически полностью сохраняет эпителий трахеи после ХО. При совместное применении PSH и белков МСК проявляется синергизм действия обоих препаратов, что может быть перспективны для их использования в качестве основного компонента при создании новых ингаляционных лекарственных препаратов с эндотелий-протекторным действием.

АКТИВНОСТЬ ММП И СОСТОЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ПРИ АНЕВРИЗМЕ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА АОРТЫ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Воронкина И.В.[1], Смагина Л.В.[1], Малашичева А.Б.[2], Иртюга О.Б.[2], Моисеева О.М.[2]

1 – Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Санкт-Петербург Тихорецкий пр., д.4, тел +7 (812) 297-42-96, voronirina@list.ru
2 – Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии имени В.А. Алмазова

Актуальность. Матриксные металлопротеазы (ММП) являются эндопептидазами, функционирующими при взаимодействии клетка-матрикс. Аномальная активность ММП участвует в образовании аневризм брюшной аорты. Последние исследования показывают, что аномальная активность матриксных металлопротеаз может быть связана также с образованием аневризмы грудной аорты. Бикуспидальные клапаны аорты (БАК) ассоциированы с внутренней патологией аорты, которая предрасполагает к образованию аневризм, что не происходит при трикуспидальном клапане аорты (ТАК).

Целью данной работы было изучение активности матриксных металлопротеиназ и состояния некоторых белков внеклеточного матрикса аорты при грудной аневризме у пациентов с двустворчатым и трехстворчатым клапанами аорты.

Материал и методы. Исследование проводили на двух группах пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты с БАК и ТАК и контрольной группе без патологии аорты. В интраоперационных биоптатах оценивали содержание и активность ММП-2, ММП–9 методом зимографии, содержание фибриллина, эластина и коллагена оценивали методом иммуноблота.

Результаты. По данным исследования биопсийного материала аорты, выявлено максимальное содержание коллагена I типа в контроле, а при бикуспидальном аортальном клапане содержание коллагена I типа выше, чем при трикуспидальном клапане. Содержание эластина было минимальным в контроле, в группе БАК статистически значимо ниже, чем в группе ТАК. При этом содержание фибриллина в ткани аорты было минимальным при БАК, и не отличалось статистически для групп контроля и ТАК. Степень фрагментирования изучаемых белков в ткани аорты также была различной для групп БАК и ТАК. При анализе ММП выявлено увеличение содержания латентной формы ММП-9, а также латентной формы ММП-2 в подгруппе пациентов с трикуспидальным аортальным клапаном по сравнению с контрольной группой. У пациентов с бикуспидальным аортальным клапаном выявлено повышение как латентной, так и активной формы ММП-9 в сравнении с контрольной группой.

Заключение. Различия в активности ММП, а также в состоянии белков ВКМ аорты могут объяснить различия в процессе формирования аневризмы восходящего отдела аорты у пациентов с БАК и ТАК.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СОВМЕСТНОЙ СОЧЕТАННОЙ ПЕРЕСАДКИ ДЕРМАЛЬНОГО ЭКВИВАЛЕНТА И РАСЩЕПЛЕННОГО КОЖНОГО ЛОСКУТА ПО АКТИВНОСТИ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ

Воронкина И.В.[1], Протасов М.В.[2], Смагина Л.В.[1], Юдинцева Н.В.[1], Пинаев Г.П.[1]

1 – ФГБУН Институт цитологии РАН,
2 – ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4, тел +7 (812) 297-42-96, voronirina@list.ru

Актуальность. Одним из перспективных подходов к улучшению результатов лечения длительно незаживающих ран является использование биотехнологических методов восстановления кожного покрова, в частности трансплантация дермального эквивалента (ДЭ). Новым методом мониторинга течения раневого процесса может быть оценка динамики активности матриксных металлопротеиназ (ММП).

Цель данного исследования – экспериментальное обоснование оптимального срока трансплантации ДЭ в сочетании с пересадкой расщепленного кожного лоскута (РКЛ).

Материалы и методы. Эксперимент проводили на белых беспородных крысах, разделенных на 4 группы. Крысам контрольной группы моделировали неэпителизируемую рану, а опытным группам после моделирования неэпителизируемой раны выполняли трансплантацию РКЛ на разных сроках. Общий срок наблюдения во всех группах – 24 дня. Во всех группах перевязки осуществляли каждые трое суток, сбор раневого отделяемого для анализа на активность ММП осуществляли при каждой перевязке, перед трансплантацией РКЛ, ДЭ и при выведении животных из опыта (на 24 сутки).

Результаты. По данным гистологического исследования в первой опытной группе, где выполняли только пересадку РКЛ, лизис РКЛ произошел в 4-х из 10-и случаев. Во второй опытной группе, где пересадку РКЛ сочетали с трансплантацией ДЭ, лизирование РКЛ не наблюдали, а в третьей опытной группе, где трансплантация ДЭ предшествовала пересадке РКЛ, лизис РКЛ произошел в 6 из 10 случаев. Различий в строении пересаженного РКЛ у крыс опытных групп при микроскопии выявлено не было. Активность ММП раневого отделяемого в опытных группах различалась в зависимости от результатов пересадки РКЛ к 24-м суткам эксперимента.

Выводы. Полученные результаты позволяют судить о способности ДЭ, пересаженного после выполнения аутокожной пластики, улучшать ее результаты. При этом результаты пересадки РКЛ ухудшаются в случае ее выполнения в короткий срок после пересадки ДЭ. Обоснование данного наблюдения, по-видимому, связано с механизмами действия дермального эквивалента на рану. В настоящее время отсутствуют сведения о влиянии трансплантации ДЭ на активность ММП в раневом отделяемом, поэтому в настоящей работе впервые прослежена активность ММП после пересадки

ДЭ. Нами выявлено достоверное прогностическое значение активности ММП раневого отделяемого для результатов пересадки РКЛ.

АНТИГЕНОМНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ РЕМОДЕЛИРОВАНИИ ТКАНЕЙ С НАРУШЕНИЯМИ МЕТАБОЛИЗМА, ОБУСЛОВЛЕННЫМИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИЛИ ПРИОБРЕТЕННОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ МИТОХОНДРИЙ

Высоких М.Ю.[1,2,3], Tonin Y.[1], Heckel A-M[1], Довыденко И.С.[1,4], Мещанинова М.И.[4], Веньяминовна А.Г.[4], Тарасов И.[1], Entelis N.[1]

1 – UMR GMGM, Strasbourg University-CNRS, Страсбург, Франция
2 – НИИ Физико-Химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ, Москва, Россия
3 – ФГБУ НЦАГиП им.В.И. Кулакова, Москва, Россия
117997 ул. Академика Опарина, 4, Москва, Россия.
Тел. 7 (495) 555-55-55, info@ncagip.ru
4 – ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

Актуальность. Врожденные и приобретенные с возрастом дефекты митохондриального генома и биосинтеза митохондриальных белков вызывают широкий спектр метаболических нарушений, для которых до сих пор не разработаны эффективные методы терапии. Присутствие в клетке митохондриальной ДНК (мтДНК) как дикого типа, так и ее мутантной формы называется гетероплазмией. Именно степень гетероплазмии определяет возможность выполнения митохондриями своих функций в клетке и обеспечивает функциональную состоятельность ткани, опосредуя баланс пролиферации/дифференциации и программированной клеточной гибели, задающий оптимальное соотношение специализированных клеток и их предшественников.

Цель. Разработка РНК-векторов, которые можно использовать для доставки антирепликативных олигорибонуклеотидов в митохондрии и исследование влияния трансфекции на функциональное состояние митохондрий при изменении степени гетероплазмии.

Результаты. При помощи современных методов клеточной биологии и молекулярного дизайна разработаны рекомбинантные молекулы РНК, способные импортироваться в митохондрии и вызывать их «выключение» посредством связывания с соответствующим участком мтДНК и блокированием ее репликации.

Выводы. Импортируемые в митохондрии рекомбинантные РНК могут быть использованы в регенеративной медицине для транзиторного перепрограммирования клеточного

гомеостаза в пораженной ткани посредством индукции пролиферации и дифференцировки трансплантируемых стволовых клеток с заданным уровнем гетероплазмии и функциональной компетентности митохондрий.

РЕГЕНЕРАЦИЯ МАССИВНЫХ ТРОФИЧЕСКИМХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

Гаврилюк Б.К., Ковальцова О.А., Гаврилюк В.Б.

ИТЭБ РАН, Клиническая больница г. Пущино
142290, г. Пущино, Институтская, 3.

Лечение массивных пролежней является серьезной проблемой для лиц пожилого возраста. В наших исследованиях мы применили регенераторную систему «Биокол» третьего поколения, представляющую из себя комплекс 2 и 3 мерных препаратов, позволяющих применять их как самостоятельно, так и в комплексе с клеточными культурами. Препарат применяется на рану после предварительной тщательной очистки с последующей периодической сменой по мере необходимости. В наших случаях препарат применялся после неудачного длительного лечения в клинике. Как пример больной С 88 лет. Обширный пролежень в области крестца (25х20 см), лечился безрезультатно в течение нескольких месяцев. Применение комплекса обеспечило глубокую очистку раны и последующий запуск регенерации тканей. После начала регенерации площадь раны уменьшилась в 4 – 5 раз за первые полтора месяца. Восстановление тканей произошло на всю глубину поражения (8–10 см). Дальнейший процесс через несколько месяцев привел к полному восстановлению тканей. Полученные результаты говорят о возможном сохранении у лиц пожилого возраста определенного количества стволовых клеток и их активация под воздействием применяемого препарата.

ПРОЯВЛЕНИЕ ИММУНОКОРРИГИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ ПРИ РАЗВИТИИ БОЛЕЗНИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гаевская Ю.А., Дубрава Т.Г., Мацевитая И.Ю., Гольцев А.Н.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина
Харьков, ул. Переяславская, 23, тел. (057) 373-41-43, cryopato@rambler.ru

Актуальность. Серьезной проблемой трансплантации аллогенного костного мозга (КМ) является иммунный конфликт в виде болезни «трансплантат против хозяина» (БТПХ). Известно, что одной из основных причин ее развития является снижение функции Т-регуляторных (Treг) клеток. Установленный также факт причастности к развитию БТПХ нарушения гемопоэза определил необходимость поиска препаратов с дуалистической активностью как в отношении реставрации гемопоэтической, так и иммунной систем. К ним можно отнести клетки фетальной печени (КФП).

Цель работы – обоснование возможности использования КФП для коррекции иммуно- и гемопоэтической активности аллогенного КМ.

Материалы и методы. Острую БТПХ и оценку ее манифестации осуществляли по общепринятым методам [Шевелев А.С., 1976]. На 14 сутки после инициации БТПХ и введения нативных или криоконсервированных аллогенных КФП было оценено содержание Treг в клетках селезенки (FOXP3, CD4, CD25) и стволовых кроветворных клеток (СКК) в КМ (CD117, CD34, CD38) на цитофлюориметре FACS Calibur (США). Экспрессию генов foxp3 и gata 2 определяли методом ОТ-ПЦР.

Результаты. Установлено, что при БТПХ наблюдается снижение содержания и функции Treг клеток судя по степени экспрессии гена foxp3 в них. На фоне снижения содержания СКК у животных с БТПХ происходило перераспределение их субпопуляций в сторону увеличения более потентных (CD34+CD38-) клеток и степени экспрессии гена gata2, что свидетельствует об ингибиции их дифференцировочного потенциала. КФП минимизировали клинические признаки патологии и интенсивность развития иммуновоспалительной реакции. Нативные и криоконсервированные КФП в разной степени проявляли корригирующий эффект в отношении иммунной и гемопоэтической систем животных с БТПХ, снижая тяжесть развития патологии, тем самым увеличивая выживаемость животных. Полученные результаты позволяют расшифровать молекулярные механизмы иммунокоррекции БТПХ фетальным материалом.

ПРИМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-МОДИФИЦИРОВАННОГО СУХОЖИЛЬНОГО ТРАНСПЛАНТАТА В ОФТАЛЬМОХИРУРГИИ

Галимова В.У., Мусина Л.А., Шангина О.Р., Хасанов Р.А., Булгакова Л.А.

ФГБУ «ВЦГПХ Минздрава РФ», Уфа, Россия
Уфа, ул. Р. Зорге 67/1, тел. +7 (347) 293-42-35, morphoplant@mail.ru

Актуальность. Ввиду недостаточной эффективности противоглаукоматозных операций с применением дренажей, изготовленных из полимерных материалов и различных ауто-, алло-, ксеногенных тканей, в ФГБУ «ВЦГПХ Минздрава РФ» был разработан структурно-модифицированный сухожильный аллотрансплантат для дренажа. Трансплантат имеет пористую структуру, обладает высокой биосовместимостью, пластичностью, гидрофильностью.

Цель исследования – обосновать применение структурно-модифицированного сухожильного аллотрансплантата в офтальмохирургии.

Материалы и методы. 18 кроликам с экспериментальной кортикостероидной глаукомой под кетаминовым наркозом были проведены операции двухкамерного дренирования с использованием в качестве дренажа структурно-модифицированного сухожильного трансплантата с пористой структурой. Животных выводили из опыта через 14, 30, 60, 90, 180 и 360 суток после операции передозировкой барбитуратов. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином-эозином, по Маллори и Ван Гизону. Использовали методы трансмиссионной электронной микроскопии и тонографические методы исследования.

Результаты. В реконструированной дренажной зоне угла передней камеры глаза пористый аллотрансплантат в ранние сроки пропитывался камерной влагой, что приводило к нормализации внутриглазного давления. В дальнейшем коллагеновые волокна той части трансплантата, которая была обращена к передней камере глазного яблока, не подвергались биодеградации и не претерпевали каких-либо изменений. Внутренние стенки ячеек постепенно выстилали удлиненные эндотелиальные клетки, и по структуре трансплантат начинал напоминать трабекулярную сеть глаза. В задней части он замещался новообразованной тканью с хорошо развитым венозным руслом. Указанные морфологические изменения приводили к нормализации офтальмотонуса и восстановлению структуры зрительного нерва.

Заключение. Применение структурно-модифицированного сухожильного трансплантата в качестве дренажа дает возможность формирования полноценной дренажной зоны глаза, поэтому можно рекомендовать его для широкого использования в хирургии глаукомы.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОМАТЕРИАЛОВ АЛЛОПЛАНТ В ХИРУРГИИ ВРОЖДЕННОГО МИКРОФТАЛЬМА И ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ СУБАТРОФИИ ГЛАЗА

Галимова Л.Ф.

ФГБУ «ВЦГПХ» Минздрава России, г. Уфа, Россия
Уфа, ул. Рихарда Зорге 67/1, тел. +7 (347) 293-42-20,
lilia-galimova@mail.ru

Актуальность. Хирургическая реабилитация детей с микрофтальмом и пациентов с посттравматической субатрофией глазного яблока остается актуальной медицинской и социальной проблемой.

Цель исследования. Изучить эффективность применения биоматериалов Аллоплант в хирургии микрофтальма и посттравматической субатрофии глаза с целью косметической реабилитации пациентов.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 35 детей с односторонним врожденным микрофтальмом и 120 пациентов с посттравматической субатрофией глаза. Всем пациентам были проведены операции переднего и заднего бандажа склеры с использованием специальной формы биоматериала Аллоплант, обладающими высокой прочностью и упругостью, стимулирующими регенерацию плотной оформленной волокнистой соединительной ткани. Суть операции состоит в укладке и фиксации к склере двух трансплантатов, имеющих форму разорванных колец. При этом склера покрывается трансплантатом от лимба до заднего экватора.

Результаты. При микрофтальме операция позволила увеличить размеры глазного яблока, причем у 50% детей до нормальных размеров. Нормализовались форма и глубина сводов, что способствовало последующему благоприятному протезированию. В результате всем пациентам удалось исправить косметический дефект, предупредить прогрессирующую асимметрию лица. При начальной стадии субатрофии операция позволила скрыть рубцовую деформацию склеры, восстановить ее естественный цвет, правильную форму глазного яблока, увеличить его объем. Тем самым достигается хороший косметический эффект без протезирования. При развитой и далекозашедшей стадиях субатрофии применение биоматериала позволило создать оптимальное ложе для протеза, возможность использования тонкостенных протезов.

Выводы. Трансплантация биоматериалов Аллоплант на принципах регенеративной хирургии является эффективной технологией лечения пациентов с микрофтальмом и субатрофией глаза.

ВЛИЯНИЕ АППЛИКАЦИОННО-ИНЪЕКЦИОННОГО ВВЕДЕНИЯ ГИДРОЛИЗАТА КОЛЛАГЕНА НА РЕПАРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В РАНАХ

Глухов А.А., Андреев А.А., Алексеева Н.Т., Фролов Р.Н.

ГБОУ ВПО ВГМА им. Н.Н. Бурденко Минздрава России.
г. Воронеж, ул. Студенческая 10. Тел. +7 (920) 431-12-52

Актуальность темы. Несмотря на активную разработку и применение современных методов, заживление ран мягких тканей остается одной из актуальных проблем современной хирургии.

Цель исследования – морфологически обосновать целесообразность использования аппликационно-инъекционного введения коллагена в лечении кожных.

Материалы и методы. При лечении применялся гидролизат коллагена с содержанием сухого вещества 16%. Исследования выполнены на 96 белых лабораторных крысах в 4-х группах исследований по 24 животных в группе: 1-й контрольной и 3-х опытных. В 1 контрольной группе лечение не проводилось. В 1 опытной группе лечение ран осуществляли путем аппликаций на раневую поверхность гидролизата коллагена. Аппликации проводились по всей поверхности раны из расчета 2 мл на 1 $см^2$. Во 2 опытной группе лечение ран осуществляли путем инъекций краев раны гидролизатом коллагена перпендикулярно по отношению к плоскости поверхности раны, на глубину 0,5 см, из расчета 2 мл на 1 $см^2$. Лечение ран в 3 опытной группе осуществляли путем аппликации и инъекции гидролизатом коллагена. Аппликации и инъекции проводились однократно на первые сутки от начала моделирования раны. Для оценки динамики заживления использовались гистохимические исследование биопсийного материала, взятого из ран.

Выводы. Анализ результатов гистохимических реакций показал, что в 3 опытной группах после аппликационного и инъекционного введения гидролизата коллагена сохраняется динамика восстановительных процессов: происходит накопление РНК в процессе эпидермизации раны; повышение содержания SH-групп по мере дифференцировки эпидермиса с последующим снижением, что соответствует завершению процессов стратификации в области раны. Уровень гистохимических реакций по сравнению с другими группами достигает наибольших значений в 3 опытной группе после аппликационно-инъекционного метода введения.

ВЛИЯНИЕ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЗАЖИВЛЕНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Глушаков Р.И., Соболев И.В., Власьева О.В., Козырко Е.В., Тапильская Н.И.

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2, +7 (812) 295-40-31, glushakovruslan@gmail.com

Недавно изученные негеномные эффекты тиреоидных гормонов делают их универсальными регуляторами пролиферации, ангиогенеза и иммунитета.

Цель. Изучить влияние тиреоидного статуса на продолжительность заживления химических ожогов кожи на модели животных.

Материалы и методы. Экспериментальное моделирование щелочного ожога средней степени тяжести выполнено на 21 кролике весом 3,0–3,5 кг. Щелочной ожог был вызван аппликацией фильтровальной бумаги в виде круга диаметром 50 мм, смоченного 2,5%-ным раствором гидроксида натрия с экспозицией 40 секунд на кожу под местной анестезией 0,5%-ным прокаином. Экспериментальные животные были разделены на три равные группы: гипертиреоидную, гипотиреоидную и контрольную. На лабораторных животных гипертиреоидной группы воспроизведена модель экспериментального гипертиреоза легкой степени посредством хронического внутрибрюшинного введения L-тироксина (РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь) в дозе 50 мкг на 100 г веса. На лабораторных животных второй (гипотиреоидной) группы воспроизведена модель экспериментального пропилтиоурацилового гипотиреоза путем замены воды в автопоилке на 0.1%-й раствор пропилтиоурацила («Merck», Германия). Кролики контрольной группы не получали препаратов, изменяющих тиреоидный статус, и служили контролем. Лечение химических ожогов проводилось аппликациями мази «Левомеколь». Конечной точкой исследования явилось время наступления эпителизации.

Результаты. Среднее время наступления эпителизации составило 15±2,3, 17±1,6 и 20±2,2 дней в гипертиреоидной, контрольной и гипотиреоидной групп экспериментальных животных соответственно. Медиана наступления эпителизации составила 12, 13 и 16 дней для тех же групп соответственно.

Выводы. При сравнении течения процессов регенерации в группах экспериментальных животных с различным тиреоидным статусом установлена значительное замедление репаративных процессов при экспериментальном гипотиреозе.

ВЛИЯНИЕ СРЕДНЕИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЗОН ЛОКАЛИЗАЦИИ КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА НА РЕПАРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ИШЕМИЗИРОВАННЫХ ТКАНЯХ

Головнева Е.С.[1], Рейдман В.Р[1]., Гужина А.О.[2], Кравченко Т.Г.[2]

1 – ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России», micron30@mail.ru,
тел. +7 9226371632,
2 – ГБУЗ ЦОСМП «Челябинский государственный институт лазерной хирургии», Челябинск, Россия, main@cgilh.chel.su,
тел. +7 3517412368

Актуальность. Исследования последних лет показали возможность воздействия на морфофункциональные характеристики костного мозга при облучении лазером с поверхности кожи в не повреждающих режимах. Наблюдаемая при этом реакция клеток и ферментов позволила предположить, что данное воздействие будет способствовать усилению миграции клеток костного мозга, в частности $CD34^+$ и мезенхимальных, являющихся структурной базой любого репаративного процесса в организме.

Целью данной работы была разработка в эксперименте методик стимуляции кровоснабжения и репарации ишемизированных тканей конечностей и миокарда с использованием чрезкожного лазерного облучения красного костного мозга.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на 120 беспородных крысах с моделями ишемии нижних конечностей и диффузного и очагового ишемического повреждения миокарда. Лазерное воздействие осуществлялось инфракрасным и красным лазером, проводили 10 сеансов, в ходе которых облучали позвоночник, крестец, подвздошные и бедренные кости. Дозировки лазерного воздействия рассчитывались с применением компьютерной программы математического моделирования. Эффекты оцевались морфометрически на гистологических срезах, активность матриксных металлопротеиназ – методом прямой зимографиии в геле. микроциркуляция – на лазерном допплер флуориметре ЛАКК-01.

Результаты исследования показали, что в тканях наблюдается активация тучных клеток и ферментной активности матриксных металлопротеиназ, восстановление регуляторных процессов в микроциркуляторном русле, активация неоангиогенеза и повышение площади сосудистого русла, активация пролиферации клеток, уменьшение площади некроза кардиомиоцитов и очага сформированной соединительной ткани по сравнению с животными без воздействия лазера на костный мозг.

Выводы. Показана возможность стимуляции активации кровотока и репаративных процессов в ишемизированных тканях после среднеинтенсивного системного лазерного воздействия на костный мозг.

МОДИФИЦИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СТВОЛОВЫХ РАКОВЫХ КЛЕТОК И КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Гольцев А.Н., Бондарович Н.А., Кузняков А.В., Останков М.В., Останкова Л.В., Челомбитько О.В.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков
Харьков, ул. Переяславская, 23, тел.: +38 (057) 373-57-89, cryopato@rambler.ru

Актуальность. Обоснованием применения клеток фетальной печени (КФП) для лечения рака молочной железы (РМЖ) является широкий спектр продуцируемых ими биологически активных субстанций. Ранее нами была продемонстрирована состоятельность лечения данной патологии криоконсервированными КФП в схемах превентивного их применения. Криоконсервирование КФП является обязательным компонентом технологического процесса их применения в эксперименте и клинике. Одним из методов ранней диагностики и оценки эффективности превентивной терапии РМЖ наряду с изучением состояния иммунной системы (ИС) является мониторинг стволовых раковых клеток (СРК) в молочной железе (МЖ).

Цель исследования – оценить содержание СРК в МЖ и состояние ИС у мышей линии C3H/He с генетически детерминированным развитием РМЖ до и после превентивной терапии криоконсервированными КФП.

Методы. Мышам линии C3H/He в возрасте 6 месяцев вводили криоконсервированные (кКФП) или нативные КФП (нКФП) 14 суток гестации в дозе 1 или $5x10^6$ клеток. КФП криоконсервировали по двухэтапной программе под защитой 10% ДМСО. Контролем были мыши линии и CBA/H, C3H/He без лечения и мыши линии C3H/He которым вводили клетки взрослой печени (КВП). Оценку содержания СРК в МЖ и фенотипию клеток селезенки у мышей проводили в 7 месяцев методом проточной цитометрии.

Результаты. В МЖ мышей линии C3H/He без лечения были идентифицированы клетки с фенотипом $CD44^{hi}$, относящиеся к наиболее инвазивным СРК, и увеличение концентрации клеток $CD44^+/24^-$. В селезенке наблюдали увеличение $CD4^+/25^+$ клеток наряду со снижением $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ клеток. После лечения КФП отмечали снижение количества СРК в МЖ, восстановление содержания $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ популяций на фоне снижения клеток $CD4^+/25^+$. Более выраженный терапевтический эффект проявляли кКФП в дозе $5x10^6$ и нКФП в дозе $1x10^6$, чем кКФП в дозе $1x10^6$ и нКФП в дозе $5x10^6$. Введение КВП в тех же дозах не оказывало такого действия.

ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ СТВОЛОВО-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ НА МОДЕЛЬНЫХ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Дубрава Т.Г., Бабенко Н.Н., Гаевская Ю.А., Останков М.В., Ямпольская Е.Е., Бондарович Н.А., Порожан Е.А., Димитров А.Ю.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина
Харьков, ул. Переяславская, 23, тел. +7 (057) 373-41-43, cryopato@rambler.ru

Актуальность. В биологии и медицине широко используется моделирование патологических состояний организма человека. Возможность использования экспериментальных моделей как систем, адекватных состоянию организма человека, основывается на существовании общих этиологических факторов, вызывающих заболевания, механизмах их развития, методах диагностики, терапевтических подходах и т.д. Так в основе аутоиммунных заболеваний (АИЗ) у экспериментальных животных лежит срыв естественной толерантности к собственным аутоантигенам и появление активно функционирующего аутоагрессивного клона иммунокомпетентных клеток. Важная роль в патогенезе АИЗ, определяется состоянием Т регуляторного звена иммунитета. Терапевтические подходы к лечению таких заболеваний направлены на восстановление структуры и функции Treg клеток.

Цель исследования – экспериментальное обоснование возможности применения криоконсервированных продуктов фетоплацентарного комплекса (ПФПК), в состав которых входят клетки стволового компартмента, – как метода лечения АИЗ.

Материалы и методы. В качестве экспериментальных моделей АИЗ были выбраны: адъювантный артрит, аллергический энцефаломиелит, болезнь «трансплантат против хозяина»; в качестве терапевтических препаратов – криоконсервированные ПФПК: клетки фетальной печени, суспензия плаценты, фетальные нервные клетки. Содержание Treg оценивали на цитофлюориметре FACS Calibur (США) с помощью моноклональных антител: FOXP3 (PE) – abcam (Англия); CD4 (FITC) и CD25 (PE) – BD (США).

Результаты. Доказан иммунокорригирующий эффект криоконсервированных ПФПК для лечения патологий аутоиммунного генеза. Установлено, что варьирование условиями криоконсервирования дает возможность управлять функциональным статусом входящих в состав ПФПК стволовых клеток и, как следствие, их терапевтическим эффектом, что расширяет возможности использования этого материала при лечении АИЗ.

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ, ВЫРАЩЕННЫМИ НА НАНОПОКРЫТИЯХ

Гольцев А.Н., Рассоха И.В., Дубрава Т.Г., Останкова Л.В., Останков М.В., Сафонов В.И., Зыкова А.В.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков
Национальный научный центр «Харьковский физико-технический институт» НАНУ, г. Харьков

Актуальность. Коррекция иммуноагрессии при развитии болезни «трансплантат против хозяина» (БТПХ) предусматривает необходимость подавления эффекторного и/или активации регуляторного звена иммунокомпетентных клеток с супрессорной активностью (Treg), как основного гаранта обеспечения естественной толерантности. Существует экспериментальное подтверждение возможности снижения иммунореактивности аллогенного костного мозга (КМ) в виде БТПХ путем использования мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Однако интенсивное культивирование МСК in vitro связано с утратой их мультипотентности и снижением хомминг-потенциала. Нами [А.Н. Гольцев и соавт. 2010] было продемонстрировано изменение функционального потенциала МСК, под действием различных нанопокрытий, в частности, их способность индуцировать либо ингибировать в МСК экспрессию гена ido, ответственного за выработку фермента индоламин-2,3 диоксигеназы (ИДО). Именно ему принадлежит ключевая роль в активации супрессорного звена иммунной системы.

Целью исследования было изучение иммунокорригирующего эффекта МСК с измененным функциональным потенциалом под действием нанопокрытия Al_2O_3 в терапии БТПХ.

Материалы и методы. Острую БТПХ и оценку ее манифестации осуществляли по общепринятым методам [Шевелев А.С., 1976]. МСК, выращенные на покрытии Al_2O_3 и без него, вводили реципиентам с БТПХ в дозе $2x10^5$/мышь. Содержание Treg клеток оценивали на цитофлюориметре FACS Calibur (США) с помощью моноклональных антител: FOXP3 (PE) (abcam Англия); CD4 (FITC) и CD25 (PE) (BD США). Экспрессию гена ido в МСК определяли методом ОТ-ПЦР, детекцию продуктов амплификации проводили на чип-анализаторе «Agilent 2100» (США).

Результаты. Продемонстрирован иммунокорригирующий эффект МСК, выращенных на нанопокрытии Al_2O_3 в терапии БТПХ. Данная феноменология проявлялось в увеличении при патологии содержания Treg клеток, которые снижали тяжесть ее протекания и обеспечивали большую выживаемость животных. Полученные результаты являются основанием для разработки новых подходов к оптимизации методов лечения БТПХ с помощью МСК, выращенных на нанопокрытиях, которые могут целенаправленно изменять их структурно-функциональные свойства.

ОСОБЕННОСТИ АДГЕЗИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА, ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ И ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ИНДОЛАМИН 2,3-ДИОКСИГЕНАЗЫ В КЛЕТКАХ ПЛАЦЕНТЫ ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ

Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Останков М.В., Димитров А.Ю.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,
г. Харьков, Украина
г. Харьков, ул. Переяславская, 23, тел. +38 (057) 373-57-89,
cryopato@rumbler.ru

Актуальность. Использование криоконсервированных клеток плаценты, являющихся источником иммуномодулирующих активностей, является одним из перспективных направлений в клеточной терапии заболеваний соединительной ткани, в частности, ревматоидного артрита.

Целью работы была оценка адгезивного потенциала, фагоцитарной активности, экспрессии гена ido (индоламин 2, 3-диоксигеназы) клетками плаценты после криоконсервирования в различных условиях.

Материалы и методы. Суспензию клеток плаценты (СКП) получали из хориального участка ткани зрелой плаценты мышей 18–19 суток гестации. СКП криоконсервировали под защитой 10% раствора диметилсульфоксида (ДМСО) (суспензия КД) либо 10% раствора пропандиосахароля (ПДС) (суспензия КП) на программном замораживателе (УОП-1, производства ОП ИПКиК НАН Украины). Количество адгезирующих клеток (АК) определяли после инкубации СКП в пластиковых чашках (Spectar, Сербия) при температуре 370С в течение 1 часа. Содержание клеток, экспрессирующих молекулу межклеточной кооперации и адгезии – CD54, оценивали на проточном цитофлюориметре FACS Calibur (Becton Dickenson, USA). Экспрессию гена ido определяли методом ПЦР с этапом обратной транскрипции (ОТ) в режиме реального времени на анализаторе нуклеиновых кислот (АНК-16, Россия) и полуколичественным анализом ОТ-ПЦР в биоанализаторе Agilent 2100 Bioanalizer (США). Праймеры для гена ido и нормировочного гена 18SrRNA были сконструированы на основе базы данных «GenBank» (NM_008324.1 и NR_003278.3 соотв.).

Результаты. После криоконсервирования СКП с ДМСО либо с ПДС повышалось количество АК. При этом увеличение содержания АК при криоконсервировании в режиме КП, в отличие от режима КД, было обусловлено повышением количества CD54+ клеток. В суспензии КП наблюдали усиление фагоцитарной активности клеток и повышение экспрессии гена ido по сравнению с экспрессией, отмеченной в суспензии КД, что может свидетельствовать о том, что выбор условий криоконсервирования определяет различия в проявлении иммунорегуляторной и генной активности клеток плаценты.

ИММУНОМОДУЛЯТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ММСК В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ КИСЛОРОДА

Горностаева А.Н., Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Россия, Москва
Хорошевское шоссе 76 а. тел. +7 (499) 195-65-44, HindIII@yandex.ru

Актуальность. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) представляют собой перспективный инструмент для регенеративной медицины и трансплантологии. Помимо высокой пролиферативной и паракринной активности, способности к мультилинейной дифференцировке ММСК обладают иммуномодуляторными свойствами. При низкой концентрации кислорода in vitro свойства стромальных клеток существенно изменяются: увеличивается их пролиферативная активность, замедляется остео- и адипогенная дифференцировка. Иммуносупрессивный потенциал ММСК в условиях гипоксии остается практически не изученным, логично предположить, что это свойство также может существенно изменяться.

Целью исследования было изучить иммуномодуляторные свойства ММСК при пониженной концентрации кислорода.

Материалы и методы. В работе использовали ММСК жировой ткани человека, постоянно культивируемые при 20% и 5% O2 и мононуклеары периферической крови (МНК) человека, стимулированные ФГА. После 72 часов сокультивирования при 20% и 5% O2 оценивали активацию, пролиферацию, жизнеспособность ФГА-лимфоцитов и концентрацию цитокинов в среде с помощью проточной цитофлуориметрии.

Результаты. После взаимодействия с ММСК активация Т-клеток (HLA-DR) существенно снижалась (в среднем на 40%), при 20% O2 снижение было несколько слабее. ММСК обладали выраженным антипролиферативным эффектом, причем при 5% O2 уменьшение доли делящихся лимфоцитов было достоверно более значимым (-52%), чем при по 20% (-29%). Цитокиновый профиль иммуноцитов после взаимодействия с ММСК смещался в сторону противовоспалительного. Так, продукция ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α снижалась, а уровень ИЛ-10 и ИНФ-γ – увеличивался, при 5% O2 эффект изменения концентрации ИЛ-10 и ИНФ-γ был выражен слабее. ММСК не оказывали воздействия на жизнеспособность ФГА-лимфоцитов.

Заключение. Гипоксия способна потенцировать иммуносупрессивный эффект стромальных предшественников. Полученные данные вносят значительный вклад в представление о реализации иммуномодуляторных свойств ММСК при уровне кислорода, близком к тканевому.

РЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ УЗКОПОЛОСНОГО СВЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 540 НМ

Гузалов П.И., Кирьянова В.В., Емельянов А. Н.

СЗГМУ им. И.И. Мечникова, кафедра физиотерапии и медицинской реабилитации, Россия, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41., тел. +7 (812) 555-08-48, guzalov@mail.ru

Актуальность. Частота встречаемости заболеваний и травм периферической нервной системы, высокая степень инвалидизации определили цель нашего исследования – выявить влияние узкополосного светового излучения длиной волны 540 нм на течение дегенеративно-регенераторных процессов и функциональное состояние нерва в условиях экспериментальной компрессионно-ишемической невропатии.

Материалы и методы. Для выполнения намеченной цели была создана экспериментальная модель острой компрессионно-ишемической невропатии на 58 крысах. Компремированный нерв подвергали облучению в области компрессии узкополосным оптическим излучением зеленого спектра (средняя длина волны 540 нм) дозой облучения 500 мДж/см^2. Нами оценивалось функциональное состояние нервного волокна с помощью электромиографического исследования. Степень дегенеративно-регенераторных процессов определялась при гистологическом исследовании нерва.

Результаты. Выявлено, что монохромное световое излучение зеленого спектра с дозой облучения 500 мДж/см^2 достоверно улучшает все электромиографические параметры компремированного нерва в сравнении с контрольной группой. При гистологическом исследовании у животных, получавших лечение зеленым светом, отмечается высокая степень репаративных процессов, что проявляется в визуализации значительного количества Шванновских клеток, имеющих четкий аргентофильный ободок цитоплазмы. Произошло образование дополнительных новых леммоцитов. Их количество составляло 18,13% в поле зрения. В контрольной группе Шванновские клетки выявлялись единичные в поле зрения. Таким образом, облучение зеленым светом способствует выраженной ремиелинизации нервного волокна и оказывает положительное влияние на функциональное состояние нерва по данным электромиографического исследования в экспериментальной модели компрессионно-ишемической невропатии.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ ЭКСПРЕССИИ МКРНК И ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ ТКАНИ МОЗГА КРЫС ЧЕРЕЗ 24 И 48 ЧАСОВ ПОСЛЕ НАЧАЛА ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Гусар В.А.[1], Тимофеева А.В.[1], Жанин И.С.[1], Шрам С.И.[2], Пинелис В.Г.[1], Баранов А.А.[1]

1 – ФГБУ «Научный центр здоровья детей» РАМН, Москва, Россия
2 – Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия
119991, Россия, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1;
тел. +7 (499) 134-14-45; gusar@nczd.ru

Актуальность. Согласно недавним исследованиям, при ишемическом повреждении головного мозга происходят изменения уровней экспрессии индивидуальных мкРНК, которые являются потенциальными регуляторами генов-мишеней, вовлеченных в процессы гибели и пластичности/регенерации нейронов. В связи с этим, важно выявить спектр мкРНК, регулирующих различные этапы постишемических процессов в мозге, с целью дальнейшего направленного терапевтического воздействия на данные мкРНК.

Цель. Скрининг мкРНК и генов-мишеней с измененным уровнем экспрессии в разные временные периоды после начала фокальной ишемии.

Материалы и методы. Методом количественной ОТ-ПЦР в реальном времени определяли уровень экспрессии мкРНК (Custom miScript Primer Assay и miScript SYBR Green PCR Kit, Qiagen) и мРНК (iScript cDNA Synthesis Kit и IQ SYBR green super mix, BioRad) в постишемическом периоде (24 ч и 48 ч) в ткани мозга 12 самцов взрослых крыс с фокальной ишемией, вызванной фотохимически индуцированным тромбозом.

Результаты. Из 45 мкРНК, регулирующих гены, вовлеченные в ишемический процесс, были выявлены мкРНК 27a-5p, 30c-1–3p, 30c-2–3p, 92b-3p с измененным уровнем экспрессии через 24ч и 48ч после начала ишемии. При этом дифференциально экспрессирующиеся мкРНК 21–5p, 29b-3p, 497–5p, 99a-3p были специфичны только для 48ч. Разнонаправленные изменения экспрессии мкРНК и соответствующих генов-мишеней (более чем в 1,5 раза) были характерны как для 24ч, так и для 48ч: повышение экспрессии 92b-3P и снижение экспрессии CASP9, NEUROD6; и, наоборот, снижение экспрессии 30c-1–3P, 30c-2–3p, 27a-5P и повышение экспрессии STAT3 и Tp53. При этом разнонаправленность экспрессии 21–5p, 29b-3p и PPARGC1A, FOS была выявлена только для 48 ч.

Вывод. Обнаружены изменения экспрессии мкРНК и соответствующих генов-мишеней в разные временные периоды постишемического повреждения мозга. Оценка их функциональной роли является предметом наших дальнейших исследований с целью поиска нейропротекторных препаратов направленного действия.

ГЕННАЯ ИНДУКЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ МИКРОСОСУДИСТОГО РУСЛА В КОМПЛЕКСНОМ НЕОПЕРИАТИВНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ОБЛИТЕРИРУЮЩИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СОСУДОВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Деев Р.В.[1], Бозо И.Я.[1], Чухраля О.В.[1], Мжаванадзе Н.Д.[2], Червяков Ю.В.[3], Староверов[3], Калинин Р.Е.[2], Исаев А.А[1].

1 – Институт Стволовых Клеток Человека, +7 (965) 147-13-64, romdey@gmail.com, Москва, Россия;
2 – Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Рязань, Россия;
3 – Ярославская областная клиническая больница, Ярославль, Россия

Актуальность. Проблема восстановления кровообращения в дистальных сегментах нижних конечностей становится все более актуальной. По данным … (2013) на планте проживает не менее 202 млн больных облитерирующими заболеваниями сосудов ног, причем за последние 10 лет их число увеличилось на четверть. Проблема усугубляется отсутствием эффективных фармакологических средств коррекции заболевания и, как следствие, высокой инвалидизацией.

Цель. Улучшение результатов лечения пациентов с хроническими облитерирующими заболеваний артерий нижних конечностей атеросклеротической этиологии путем введения в программу комплексной терапии генного препарата, индуцирующего развитие сосудов (p-vegf165, «Неоваскулген»).

Материал и методы. В исследование включено 100 пациентов (75 – основная группа, 25 – контрольная) с хронической ишемией нижних конечностей II и III ст по А.В. Покровскому-Фонтейну, проявляющейся синдромом перемежающейся хромоты. Методы исследования: клиническое обследования, включая изучение местного статуса, тредмилл-тест (дистанция безболевой ходьбы, ДБХ), оценка лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ), транскутанно определяемого напряжения кислорода (ТКНК), ультразвуковое обследование сосудов (линейная скорость кровотока, ЛСК). Контрольные сроки наблюдения: 0,5, 1,0, 2,0 года.

Результаты. В течение двух лет наблюдения нежелательных явления, серьезных нежелательных явлений зарегистрировано не было. Не менее 85% пациентов ответили на лечение существенными сдвигами функциональных показателей (табл.). Необходимо отметить, что среди всех пациентов, включенных в исследование, было 13 человек с компенсированным сахарным диабетом. Результаты их лечения по сравнению с общей выборкой хуже на 20–25%.

Параметры	Основная группа				Контрольная группа			
	исходно	0,5 года	1,0 год	2,0 года	исходно	0,5 года	1,0 год	2,0 года
ДБХ средняя	132,1±12,2	284,7±29,8	361,6±65,8	393,4±66,9	114,2±11,4	112,8±12,8	109,4±21,5	121,1±21,5
2а	328,75±51,1	648,7±140	1175±268,9	837,5±392,3	–	–	–	–
2б	128,3±7,7	265,7±24,2	248,6±44,2	286,3±39,7	124,8±11,2	124,2±12,9	105±22,8	130±18,3
3	38,7±5,1	126,5±30,6	262,3±52,8	387±88,3	40,7±2,3	36,7±6,7	127±77	50±1
ТКНК среднее	75,9±1,3	85,7±1,4	91,4±0,68	90,6±0,57	76,4±1,9	74,7±2,2	80,7±4,5	81,5±4,5
ЛПИ средний	0,51±00,2	0,56±0,02	0,56±0,03	0,55±0,03	0,46±0,06	0,46±0,06	0,49±0,08	81,5±4,5
ЛСК средний	13,1±1,01	21±1,4	20,5±2	24,2±2,9	16,4±1,6	15,9±1,9	15,3±1,7	16,8±1,5

Таким образом, включение в состав комплексной терапии генного индуктора регенерации сосудистого русла (препарат «Неоваскулген») позволяет статистически значимо улучшить функциональные показатели у пациентов с перемежающейся хромотой.

СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ СИНДРОМА УДЛИНЕННОГО ИНТЕРВАЛА QT С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕМЕЙНОГО ПОДХОДА

Дементьева Е.В.[1,2,3], Григорьева Е.В.[1,2,3], Вялкова А.В.[1,2,3], Медведев С.П.[1,2,3], Шевченко А.И.[1,2,3], Елисафенко Е.А.[1,2,3], Байрамова С.А.[2], Покушалов Е.А.[2], Караськов А.М.[2], Сухих Г.Т.[4], Закиян С.М. [1,2,3]

1 – ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
Новосибирск, проспект акад. Лаврентьева, 10, +7 3833634937, dementyeva@bionet.nsc.ru
2 – ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздрав РФ, Новосибирск, Россия
3 – ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия
4 – ФГБУ НЦАГиП им. В.И. Кулакова Минздрава РФ, Москва, Россия

Актуальность. Синдром удлиненного интервала QT (LQTS) обусловлен нарушением реполяризации миокарда и повышенным риском желудочковой тахикардии, что может в

итоге привести к внезапной смерти больного. Наиболее перспективным подходом к моделированию LQTS считается получение пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, несущих мутации, вызывающие развитие LQTS, и их последующая дифференцировка в кардиомиоциты. Такие кардиомиоциты способны адекватно воспроизводить основные признаки заболевания и могут быть использованы для изучения механизмов LQTS и поиска методов его эффективной терапии. Однако для LQTS характерна значительная вариабельность в степени проявления даже среди людей, имеющих одну и ту же мутацию, что создает дополнительные трудности при моделировании синдрома.

Материалы и методы. Был проведен анализ нуклеотидных последовательностей экзонов генов KCNQ1 и KCNH2 у пациентов с диагнозом LQTS.

Результаты. У одного из пациентов в гене KCNQ1 была выявлена мутация V254M, вызывающая развитие LQTS. От пациента была получена культура фибробластов, которая была использована для получения линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Семейный анализ мутации V254M показал, что отец и брат пациента не имеют мутации, в то время как мать пациента является носителем мутации, хотя у нее не наблюдалось проявлений симптомов LQTS. Данные результаты позволяют создать модельную систему на основе клеточных линий от симптоматичного и асимптоматичного носителей мутации V254M для более детального исследования механизмов LQTS.

ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА IDO В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ

Димитров А.Ю., Челомбитько О.В., Борисов П.А., Гольцев А.Н.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,
Украина, г. Харьков, ул. Переяславская, 23, тел. (057) 373-57-89,
dimitrov_ay@mail.ru

Актуальность. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) фетальной печени (ФП) широко используются в терапии заболеваний, в т.ч. аутоиммунных. Одним из механизмов их влияния на иммунные клетки реципиента является продукция индоламин 2,3-диоксигеназы. По мере гестации ФП меняется продукция медиаторов, а с ней – иммуномодулирующие свойства. Криоконсервирование – метод долгосрочного хранения биоматериала. Анализ влияния разных режимов криоконсервирования на процессы в клетке поможет направлено использовать конкретный режим для изменения терапевтического потенциала биообъекта.

Цель работы – сравнительный анализ экспрессии гена ido в МСК ФП разных сроков гестации после криоконсервирования по разным режимам.

Материалы и методы. Объектом исследования были клетки ФП мышей 14 и 18 суток гестации. Фракцию CD105+ клеток (МСК) получали методом иммуномагнитного сортинга; анализ молекул CD105, CD73 и CD44 проводили методом проточной цитометрии. Криоконсервирование клеток проводили в концентрации $1x10^6$/мл в 10% ДМСО проводили следующим образом: охлаждение до -25^0C (10град/мин) с последующим погружением в жидкий азот (-196^0C). ПЦР проводили на амплификаторе АНК-16 (Россия), относительный количественный анализ экспрессии ido – с помощью метода ΔΔCt.

Результаты. Большая часть выделенных CD105+ клеток несет маркеры CD73 и CD44. С увеличением срока гестации во всех образцах наблюдается снижение уровня экспрессии ido, т.е. клетки могут иметь различные иммунологические свойства. Максимальное повышение экспрессии ido наблюдали во фракции CD105+ (МСК) после криоконсервирования. Таким образом, криоконсервирование можно использовать в качестве фактора повышения иммуномодулирующего потенциала МСК ФП для лечения аутоиммунных заболеваний, что уже было показано с помощью аттестации их терапевтической активности в модели РТПХ.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ И ОЦЕНКА ЕГО БЕЗОПАСНОСТИ В ПРИМЕНЕНИИ

Добринская М.Н., Ларионов Л.П., Стрекалов И.М.

ГБОУ ВПО «Уральский Государственный Медицинский Университет»,
Россия, Екатеринбург, ул. Репина, 3, (343) 214-86-71, usma@usma.ru

Актуальность. Актуальна задача создания методик лечения, позволяющих в кратчайший срок и с наименьшими затратами восстановить разрушенную костную ткань и функции пораженного органа. Синтетический гидроксиапатит Ca10(PO4)6(OH)2 (ГА) – широко распространенный материал, применяемый в медицине для лечения поврежденных костных тканей благодаря химическому и фазовому подобию неорганической составляющей костной ткани.

Цель. Изучение общетокстического действия, оценка безопасности примениения и биологической совместимости допированного гидроксиапатита.

Материалы и методы исследования. Выбрана композиция, представляющая неразделённую кристаллическую смесь полимерных фосфатов и карбонатов кальция, допированная микроэлементами. Полученный опытный образец субстанции был подвергнут оценке безопасности в применении и возможного проявления токсичности в эксперименте на лабораторных животных. Мышам и крысам вводили надосадочную жидкость и 10% суспензию, приготовленные на основе выбранной композиции в желудок через зонд и внутрибрюшинно, для мышей в объёме 0,1 мл/10 г, а для крыс – 1 мл/100 г массы животного. Наблюдение за животными осуществляли в течение первых суток ежечасно,

а в последующие 14 дней – ежедневно. Так же было изучено аллергизирующее, местнораздражающее действие образца и проведена оценка локомоторной активности крыс в методике «открытое поле» в течение трёх минут.

Результаты. В процессе изучения острой токсичности при максимально вводимых объёмах надосадочной жидкости с использованием различных путей введения нам не удалось выявить LD_{50}, что является свидетельством отсутствия токсического проявления изучаемых субстанций. Оценка аллергизирующего действия изучаемого образца свидетельствовала о том, что представленный образец не является потенциальным сенсибилизатором.

Выводы. На основании проведенных исследований острой и хронической токсичности, аллергизирующего и местнораздражающего действия установлено, что полученный образец новых биологически активных веществ – допированных гидроксиапатитов, не вызывает токсических и аллергических проявлений при различных путях введения и биологически совместим с тканями экспериментальных животных.

СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ СТЕПЕНИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА

Долганова Т.И., Мартель И.И., Бажитов А.П., Матушкин П.А.

ФГБУ РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Курган, Россия Курган, ул. М. Ульяновой, 6, тел. +7 (3522) 45-47-47, office@ilizarov.ru

Актуальность. В патогенезе восстановления повреждений важны изменения состояния микроциркуляции, от которых зависят: поддержание жизнеспособности тканевых структур, течение репаративных процессов.

Цель: оценка микроциркуляции мягких тканей раны у больных с открытыми переломами костей голени с учетом пролиферативной активности раневого процесса.

Материалы и методы. Контроль микроциркуляции поврежденных тканей (17 пациентов) в процессе лечения проводился на ультразвуковом приборе «Минимакс-допплер К» при помощи высокочастотных датчиков с рабочей частотой 20–25 МГц непосредственно в тканях раны, в зоне краевой эпителизации, в кожных покровах на расстоянии 2–3 см от края раны, в кожных покровах контралатерального сегмента конечности.

Результаты. У пациентов с неосложненным течением: хорошим созреванием грануляционной ткани, эпителизацией раневой поверхности на неповрежденном участке кожи оперированного сегмента скорость кровотока составила, в среднем, 1,69±0,08 см/сек, превышая в 1,5–2 раза значения интактной конечности. В зоне краевой эпителизации значения кровотока составили, в среднем, 1,49±0,11 см/сек, мягкие ткани раны – 0,13±0,05 см/сек. Индекс перепада кровотока (отношение показателей кровотока у края раны и в мягких тканях) составил 9,0–11,5. У пациента с вялогранулирующей раной и нагноением мягких тканей, на неповрежденном участке кожи оперированного сегмента скорость кровотока составила лишь 0,19±0,03 см/сек. В зоне краевой эпителизации – 0,12±0,05 см/сек, ткани раны – 0,21±0,07 см/сек. Индекс перепада кровотока – 0,57.

Выводы. Предложен способ оценки степени пролиферативной активности раневого процесса: при значениях ИПК менее 1,0 диагностируют замедление пролиферативной активности течения раневого процесса, в интервале 1,0–3,0 умеренная пролиферативная активность течения раневого процесса, свыше 3,0 выраженная пролиферативная активность течения раневого процесса (патент 2455941 РФ Заявл. 27.12.2010, Опубл. 20.07.2012, Бюл. 20.)

ОСОБЕННОСТИ ПРАВОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Долгушева Т.Л.

РПА-МЮ, Москва, Россия
Москва, ул. Азовская, 2, тел. +7 (495) 609-05-83, tadolg@yandex.ru

Клеточные технологии являются одним из наиболее перспективных направлений развития медицинской науки, с которым связан прогресс в области лечения многих, на сегодняшний день практически неизлечимых заболеваний. При разработке новых биотехнологий перед мировым сообществом возникают проблемы как правового (связанные с приобретением и передачей исключительных прав), так и морального характера.

Целью исследования является выработать всестороннее комплексное представление об особенностях правового регулирования отношений в сфере биотехнологий. Материалами для исследования выступают Международные правовые соглашения, проекты норм законодательства Российской Федерации. При решении поставленных задач автор опирался на современные методы познания обще-филосовский, обще-юридический, сравнительный метод исследования.

Первым международным соглашением, в котором были поставлены задачи правовой охраны биологического многообразия природных ресурсов стала международная Конвенция о биологическом разнообразии (Рио-де-Жанейро, 5 июня 1992 года), ратифицированная Российской Федерацией (Федеральный Закон от 17 февраля 1995 года N 16-ФЗ). Convention on Biological Diversity, AIPPI Yearbook 1993/IX – Ежегодный отчет Международного комитета по охране интеллектуальной собственности.

В настоящее время на первый план выдвигается вопрос о доступе стран-разработчиков к биологическим ресурсам (в первую очередь генетическим) стран-обладателей на договорной основе. Понятие «биологические ресурсы (материалы)» раскрыто в тексте европейской Директивы 98/44/ЕС о правовой охране изобретений в области биотехнологий: это «материал, генетическая информация, способная к самостоятельному репродуцированию или репродуцированию в рамках биологической системы» (п. 1 ст. 2). Одной группой стран биотехнологии включены в качестве патентоспособных объектов в патентные законодательства, а другая группа обеспечивает правовую охрану биотехнологий в рамках специального законодательства. Такой подход находит отражение в положениях Соглашения о торговых аспектах прав интеллектуальной собственности (ТРИПС), подписанного в 1994 году в рамках Уругвайского раунда переговоров ГАТТ. Перед Российским Законодательством

стоит проблема: по какому пути идти? Законопроект: «Об обращении биомедицинских клеточных продуктов», который представлен на сайте Министерства здравоохранения для общественного обсуждения регулирует отношения, возникающие в связи с разработкой, доклиническими, клиническими исследованиями, экспертизой, производством, хранением, утилизацией, применением, мониторингом применения, ввозом, вывозом с территории РФ биомедицинских клеточных продуктов. Основными принципами осуществления деятельности являются: недопустимость купли-продажи биологического материала, полученного от донора, создания эмбриона человека в целях изготовления биомедицинских клеточных продуктов, использования для разработки, производства и применения биомедицинских клеточных продуктов биоматериала, полученного с прерыванием процесса развития эмбриона или плода человека, нанесения вреда человеку при получении биологического материала для производства биомедицинских клеточных продуктов. В целях дальнейшего развития отрасли возникла острая необходимость ее законодательного регулирования. Необходимо обобщить весь мировой опыт и основываясь на Международных правовых актах создать прогрессивное национальное законодательство в кротчайшие сроки, подвергнув проекты наиболее полному общественному обсуждению.

ВЛИЯНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ НА РАЗВИТИЕ ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ

Домнина А.П., Михайлов В.М., Никольский Н.Н.

Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4, тел. +7 (951) 649-83-12, aldomnina@mail.ru

В настоящее время в мире проводятся обширные исследования по разработке технологий использования мезенхимных стволовых клеток (МСК) для клеточной терапии различных заболеваний. Наиболее изученными типами МСК являются МСК костного мозга (КМСК), жировой ткани и пуповинной крови. Недавно были выделены клетки мезенхимной природы из эндометрия и менструальной крови человека (эМСК). Линии эМСК имеют позитивную экспрессию таких маркеров как CD73, CD90, CD105, CD13, CD29, CD44. Не экспрессируются поверхностные маркеры CD19, CD34, CD45, CD117, CD130 и HLA-DR (класса II). Мультипотентность выделенных эМСК подтверждена их способностью дифференцироваться в другие типы клеток мезодермы, такие как остеобласты и адипоциты. Полученные нами из менструальной крови линии ЭМСК отвечают всем критериям Международного общества клеточной терапии по определению мультипотентных мезенхимных стромальных клеток человека. Мы попытались изучить возможное влияние эМСК на процессы децидуализации эндометрия на модели псведобеременности у крыс. Децидуализация эндометрия – это необходимый процесс для имплантации зародыша, формирования плаценты и дальнейшего успешного протекания беременности. Недостаточная децидуальзация эндометрия ведет к бесплодию. Результаты данной работы показывают, что при

введении в полость матки псевдобеременных крыс суспензии эМСК человека децидуальная реакция развивается интенсивнее, по сравнению с введением фосфатного буферного раствора. Взвешивание опытных и контрольных рогов в обоих группах показало, что по соотношению масс развитие ткани в опытном роге превосходит контрольный в более чем 3 раза. При анализе гистологических срезов было обнаружено, что трансплантация эМСК в матку псевдобеременных крыс не нарушает дифференцировку децидуальных клеток и организацию децидуальной ткани.

Таким образом, трансплантация эМСК человека стимулирует развитие децидуальной оболочки на модели псевдобеременности у крыс, что открывает дальнейшие перспективы для детального изучения влияния стволовых клеток эндометрия и других мезенхимных стволовых клеток на функциональное состояние эндометрия.

МЕХАНИЗМЫ РЕГЕНЕРАЦИИ ГЕМОПОЭЗА ПРИ МИЕЛОИНГИБИРУЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Дыгай А.М., Жданов В.В.

ФГБУ «НИИ фармакологии» СО РАМН, Томск, Россия
Томск, пр. Ленина 3, тел. +7 (3822) 41-83-75, zvv@pharm.tsu.ru

Актуальность. Система крови традиционно считается удобной моделью для изучения регенеративных процессов. В то же время, разработка наиболее рациональных и эффективных способов коррекции гипопластических состояний требует расширения существующих знаний о механизмах подавления и восстановления кроветворения при миелосупрессиях различной природы.

Цель исследования. Определить общие закономерности и особенности механизмов восстановления кроветворения при действии различных миелоингибирующих агентов, разработать на основе полученных данных новые патогенетически обоснованные подходы к стимуляции подавленного кроветворения.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на мышах линий СВА/ CaLac и C57Bl/6. Использованы гематологические, культуральные, иммунологические методы исследования.

Результаты. Эксперименты, проведенные нами на различных моделях угнетения гемопоэза, позволили установить, что медленное восстановление кроветворения после введения 5-фторурацила обусловлено нарушением функциональной активности стромальных механоцитов при относительной сохранности системы Т-лимфоцитов. Циклофосфан обладает выраженным токсическим эффектом в отношении Т-клеток. При этом в условиях нарушения межклеточных взаимодействий определяющим для гемопоэтической репарации является, по-видимому, спектр секретируемых клетками гемопоэзиндуцирующего микроокружения (ГИМ) гуморальных субстанций, в продукции которых в указанных условиях ведущую роль играет p38 MAP-киназный сигнальный путь. В условиях применения адриамицина, либо этопозида изменения микроокружения в целом

способствуют процессам восстановления кроветворения, в связи с чем можно заключить, что в данном случае они носят адаптивный характер. Кроме того, при гипопластических состояниях, возникающих вследствие введения цитостатиков, пролиферация и дифференцировка кроветворных предшественников и функциональная активность клеточных элементов ГИМ, системы КСФ и эритропоэтина находятся под контролем моноаминергических систем.

Выводы. Развитие компенсаторных процессов в системе крови во многом определяется повреждениями регуляторных систем, и в первую очередь отдельных элементов, составляющих гемопоэзиндуцирующее микроокружение. Восстановление гемопоэза можно стимулировать не только путем непосредственного воздействия на кроветворные клетки, но и за счет модуляции функции центральных (вегетативная нервная система), локальных (гемопоэзиндуцирующее микроокружение) и внутриклеточных (сигнальные молекулы) механизмов контроля.

МОДУЛЯЦИЯ ЭНДОГЕННЫХ СТВОЛОВЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК – НОВЫЙ ПОДХОД В ЛЕЧЕНИИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Першина О.В., Хмелевская Е.С., Ермакова Н.Н., Крупин В.А., Резцова А.М.

ФГБУ «НИИ фармакологии» СО РАМН, Томск, Россия
Томск, ул. Ленина, 3, тел. +7 (382) 241-83-75, ovpershina@gmail.com

Актуальность. Обсуждаются различные возможности применения стволовых клеток (СК) для лечения дегенеративных заболеваний. В отличие от трансплантации более безопасным и эффективным методом в клинической практике может выступить фармакологическая модуляция эндогенных СК и прогениторных клеток (ПК) взрослого организма. Формирование основных принципов и требований такого подхода подразумевает не только изучение распределения отдельных клонов СК и ПК в тканях, но и оценку их роли в патогенезе заболеваний и регенерации тканей.

Цель. Изучить роль эндогенных стволовых и прогениторных клеток взрослого организма в патогенезе пневмофиброза, сахарного диабета и миелосупрессии.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на мышах линий C57BL/6 и CBA. Моделировали инсулинзависимый сахарный диабет (стрептозотоцином), токсический пневмофиброз (блеомицином), цитостатическую миелосупрессию (циклофосфаном). Материалом для исследования выступали лёгкие, поджелудочная железа, костный мозг, кровь. Использовались гистологические методы исследования тканей, гематологические и культуральные методы оценки клеток, уровень цитокинов и гормонов изучался биохимически и методом иммуноферментного анализа. Экспрессия поверхностных и внутриклеточных рецепторов СК и ПК определялась цитометрически. Эффективность модуляции СК и ПК оценивалась с использованием фармакологического метода.

Результаты. Обнаружены особенности распределения в тканях мезенхимальных и гемопоэтических СК, прогениторных гемопоэтических и фибробластных клеток, пан-гемопоэтических клеток, мультипотентных и олигопотентных предшественников b-клеток, стволовых клеток бронхиол, предшественников гемангиогенеза при пневмофиброзе, сахарном диабете и миелосупрессии. Выявлена роль отдельных клонов СК и ПК в патогенезе заболеваний. Показана возможность регенерации тканей и/или отдельных высокоспециализированных клеток модуляцией функций СК и ПК нейрофармакологическими средствами.

Выводы. Избирательная модуляция эндогенных стволовых и прогениторных клеток ускоряет процессы регенерации при сахарном диабете, пневмофиброзе и миелосупрессии.

АУТОТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ НЕПОДВИЖНОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ ФРАГМЕНТОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ ПРИ ЕЁ РЕКОНСТРУКЦИИ

Дюрягин Н.М.

ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России, г. Омск ул. Ленина 12,
+7 (3812) 32-05-98, dyuryagin1953@mail.ru, stom_pdo@omsk-osma.ru

Актуальность создания неподвижного сочленения между искусственными структурами и естественными костными фрагментами при реконструкции нижней челюсти находит новое решение на основе аутотканеинженерных технологий и потенциала процессов органогенетической регенерации.

Материалы и методы. На стереолитографических пластиковых прототипах фрагментов нижней челюсти фрезами выполняли воспринимающие поверхности в соответствии с известными технологиями. В них припасовывали композитные матричные структуры фиксаторов. В ходе операции погружную часть конструкций устанавливали на костном фрагменте в следующей последовательности: сетчатое полотно, проволочный фиксатор, сетчатое полотно. Наружную часть сочленяли с корпусом матричной конструкции костного фрагмента.

Результаты. Благодаря процессам органогенетической регенерации в структурах опорного аутотканеинженерного композита уже через 1 год после операции методами МСКТ определялись зрелые костные тканевые структуры, которые имелись и в последующие до 10 лет наблюдений (в таблице 1 до 7 лет) и участвовали в координированных процессах реминерализации костной ткани.

Таблица 1. Показатели плотности тканей опорных аутотканеинженерных композитов и противоположной здоровой стороны нижней челюсти в единицах Хаунсфилда (HU), Me (Ql; Qh).

Период тестирования	Серии измерений		Сравнение серий, критерий Манна-Уитни, p=
	Контроль	Композит	
1 год	436,5 (302,5; 647,0)	446,5 (327,5; 606,0)	0,48
2 года	527,0 (359,0; 737,5) p=0,15	467,5 (317,0; 661,0) p=0,91	0,18
3 года	479,5 (327,5; 655,0) p=0,30	578,0 (404,5; 848,5) p=0,005^	0,01*
4 года	385,5 (314,5; 534,0) p=0,32	413,5 (312,5; 557,5) p=0,0000^	0,60
5 лет	553,5 (351,5; 729,5) p=0,004^	439,0 (296,0; 654,0) p=0,47	0,22
6 лет	431,0 (342,5; 668,0) p=0,038^	551,0 (435,5; 635,5) p=0,22	0,29
7 лет	469,5 (338,0; 607,5) p=0,86	371,0 (266,5; 525,5) p=0,017^	0,08
ANOVA Фридмана	Критерий c2 (n=32, df=6) = 15,6; p=0,02#	Критерий c2 (n=32, df=6) = 18,6; p=0,005#	

Выводы. Разработаны аутотканеинженерные способы и технологии создания неподвижного сочленения при реконструкции нижней челюсти. Он основаны на коррекции матричными структурами из никелида титана процессов органогенетической регенерации при формировании синостозов между регенерирующими и функционирующими костными фрагментами. Получен долгосрочный реконструктивный и функциональный результат, обеспечено оптимальное качество реабилитации пациентов.

АУТОТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ РЕКОНСТРУКЦИИ КОСТНЫХ ФРАГМЕНТОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Дюрягин Н.М.

ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России, г. Омск ул. Ленина 12,
+7 (3812) 32-05-98, dyuryagin1953@mail.ru, stom_pdo@omsk-osma.ru

Актуальные проблемы реконструкции костных фрагментов и надкостницы нижней челюсти с использованием потенциала процессов ораногенетической регенерации находят новые варианты решения на основе аутотканеинженерных технологий.

Материалы и методы. Модели пострезекционных дефектов нижней челюсти формировали на стереолитографических пластиковых прототипах пациентов. В областях реконструкции припасовывали индивидуальные матричные структуры компактной костной ткани, выполненные виде (одно-) двухвитковых спиралей. Периостальные матричные структуры, выполняли путем бинтования сетчатого полотна из мононити никелида титана вокруг наружной поверхности спиралевидных корпусов.

Результаты. Благодаря процессам органогенетической регенерации в структурах искусственных матриксов уже через 1 год после реконструкции челюстей методами МСКТ определялись зрелые костные тканевые структуры, которые имелись и в последующие до 10 лет наблюдений (в таблице 1 до 7 лет) и участвовали в координированных процессах реминерализации костной ткани.

Выводы. Разработаны аутотканеинженерные технологии реконструкции нижней челюсти, основанные на коррекции процессов органогенетической регенерации резецированных костных фрагментов и надкостницы искусственными матричными структурами из никелида титана. Они демонстрируют долгосрочный реконструктивный и функциональный эффект, обеспечивают оптимальное качество реабилитации пациентов.

Таблица 1. Рентгенологические показатели плотности костной ткани в структуре аутотканеинженерных композитов и здоровой половины нижней челюсти в единицах Хаунсфилда Me (Ql; Qh).

Период тестирования	Серии измерений		Сравнение серий, критерий Манна-Уитни, p=
	Контроль	Композит	
1 год	433,5 (200; 998)	532,0 (226; 984)	0,027*
2 года	496,5 (210; 938)	622,0 (268; 973), p=0,35	0,046*
3 года	440,0 (209; 972)	650,0 (237; 997), p=0,67	0,004*
4 года	476,5 (218; 946)	544,5 (220; 912), p=0,07	0,47
5 лет	454,0 (214; 935)	480,5 (249; 858), p=0,56	0,70
6 лет	431,0 (205; 991)	641,5 (207; 984), p=0,042^	0,007*
7 лет	469,5 (227; 961)	470,0 (231; 976), p=0,014^	0,71
ANOVA Фридмана	Критерий c2 (n=32, df=6) = 0,85; p=0,99	Критерий c2 (n=32, df=6) = 17,9; p=0,006#	

Наличие реконструированного периоста в структуре аутотканеинженерного композита косвенно подтверждается реструктуризацией сухожильно-мышечных групп.

АУТОТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ РЕКОНСТРУКЦИИ ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОГО СУСТАВА

Дюрягин Н.М.

ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России, г. Омск ул. Ленина 12,
+7 (3812) 32-05-98, dyuryagin1953@mail.ru, stom_pdo@omsk-osma.ru

Актуальные проблемы реконструкции височно-нижнечелюстного сустава с использованием потенциала процессов ораногенетической регенерации находят новые способы решения на основе аутотканеинженерных технологий.

Материалы и методы. Модели пострезекционных дефектов мыщелка формировали на стереолитографических пластиковых прототипах пациентов, полученных с помощью МСКТ 3-D технологий. К ним припасовывали индивидуальные матричные конструкции реконструируемых костных и периостальных структур из никелида титана по известным технологиям. Оперативная техника реконструкции подвижного синовиального сочленения предусматривает: сопоставление костных суставных элементов – головки и ямки, оптимизацию сохранного фрагмента купола суставной капсулы и применение искусственных суставных связок. После операции в процессе органогенетической регенерации тканевые компоненты заполняют трехмерные искусственные матричные структуры, что приводит к формированию аутотканеинженерных композитов. При этом суставная полость становится замкнутой, а сохраненный в ней фрагмент синовиального эпителия продуцирует жидкость. Мы получаем искусственное синовиальное сочленение аналогичное естественному. Отдаленные результаты свидетельствуют об оптимальной эффективности представленных технологий за период наблюдений от 1 до 10 лет.

Выводы. Разработаны и апробированы аутотканеинженерные способы и технологии реконструкции височно-нижнечелюстного сустава, суставной капсулы и связочного аппарата, основанные на коррекции искусственными матричными структурами процессов органогенетической регенерации. Результаты характеризуются долгосрочным реконструктивным эффектом и обеспечивают оптимальную реабилитацию пациентов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ АУТОТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Дюрягин Н.М.

ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России, г. Омск ул. Ленина 12,
+7 (3812) 32-05-98, dyuryagin1953@mail.ru, stom_pdo@omsk-osma.ru

Актуальность реконструкции нижней челюсти в пострезекционном периоде с использованием потенциала процессов регенерации приобретает новое обоснование и способы её решения. В ходе экспериментальных исследований применения искусственных матричных структур из никелида титана на биологических моделях нижних челюстей кроликов с реконструктивной целью в период с 2005 по 2010 годы нами получены и изучены следующие результаты: 1.) Эффект самостоятельной органогенетической регенерации резецированных фрагментов биологических моделей нижней челюсти в течение 12 месяцев наблюдений. 2.) Способ коррекции процессов органогенетической регенерации матричными структурами, с формированием аутотканеинженерных биокомпозитов костной ткани и надкостницы. 3.) Получены фрагменты искусственных аутотканеинженерных живых систем костной ткани и надкостницы за счет реиннервации одноименных биокомпозитов.

Выводы. В условиях адекватной коррекции активных процессов органогенетической регенерации искусственными матричными структурами (аутотканеинженерных технологий) можно значительно увеличить динамику оптимальной реконструкции биологических моделей нижней челюсти. В результате реиннервации аутотканеинженерных композитов реконструирующих биологические модели нижней челюсти получены фрагменты гистерезисных искусственных живых систем костной ткани и надкостницы пожизеннного биомеханизма действия. Получено экспериментальное обоснование перспективности аутотканеинженерных технологий для клинической практики.

ВЛИЯНИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ СУБТОТАЛЬНОЙ РЕЗЕКЦИИ

Ельчанинов А.В.[1,2], Арутюнян И.В.[1,2], Макаров А.В.[1,2], Володина М.А.[1], Тарасова Н.В.[1], Кананыхина Е.Ю.[1,2], Фатхудинов Т.Х.[1,2]

1 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» МЗ РФ, г. Москва, Россия
117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4,
тел. +7 (495) 531-44-44, a_elchaninov@oparina4.ru
2 – ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» РАМН, г. Москва, Россия
117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3, тел. +7 (499) 120-14-56,
elchandrey@yandex.ru

Актуальность. В последнее десятилетие начала развиваться клеточная терапия заболеваний печени. Прогресс в этом направлении во многом ограничен отсутствием единства мнения о механизме действия трансплантированных прогениторных клеток.

Цель. Изучить влияние мультипотентных стромальных клеток (МСК) пупочного канатика на регенерацию печени после субтотальной резекции.

Материалы и методы. У самцов крыс Sprague-Dawley (n=50) удаляли до 80% массы органа, вводили трансплантат (1 млн. аллогенных МСК пупочного канатика, меченных PKH26, в 1 мл физиологического раствора и 1 мл физиологического раствора без клеток) в селезенку сразу после резекции печени. Препараты печени изучали с помощью методов световой и флуоресцентной микроскопии. Экспрессию HGF и TGFb оценивали методами ПЦР-РВ и иммуногистохимии.

Результаты. Масса печени, как в опытной, так и контрольной группе восстанавливалась к 7 сут после операции. В селезенке введенные МСК обнаруживали через 3 ч после операции и вплоть до 10 сут после введения. В печени меченые клетки выявли через 1 сут после операции, через 7 суток после трансплантации число МСК в печени возрастало и далее оставалось примерно на одном уровне. МСК сохраняли фибробластоподобный фенотип и были распределены равномерно по ткани печены. У подопытных крыс на 3 сутки после операции в печени обнаруживали участки пролиферирующих холангиоцитов и фибробластов, которые отсутствовали на более поздних сроках. После трансплантация МСК экспрессия HGF и TGFb в ткани регенерирующей была ниже на 7 и 10 сут, чем в контроле.

Выводы. После трансплантации МСК пупочного канатика в селезенку в условиях острой печеночной недостаточности мигрировали в печень, оставались там длительное время, и, видимо, не дифференцировались в гепатоциты, при этом введенные МСК вероятно меняли динамику экспрессии основных факторов роста, регулирующих регенерацию печени.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ЖИВОТНЫХ С ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕЙ

Желудев А.А., Пархисенко Ю.А., Цветикова Л.Н..

Кафедра госпитальной хирургии Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко
НИИ экспериментальной биологии и медицины Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко
zheludev@list.ru телефон: +7 (952) 100-42-46

Актуальность. Типичным патологическим процессом при кровопотери является быстро развивающаяся тканевая гипоксия, которая приводит к возникновению и развитию целого каскада химических реакций сопровождающих окислительный стресс. В связи с этим наше внимание привлекли растворы с отрицательным окислительно-восстановительном потенциалом (ОВП).

Цель: выявить изменения окислительного стресса при острой кровопотере после операции на тощем отделе тонкого кишечника.

Материалы и методы. Нами были исследованы белые крысы самцы в количестве 30 голов. Первая группа контрольные животные, которым проводилась операция на тонком кишечнике но острая кровопотеря не была проведена и вторая группа оперированных крыс с моделированием острой кровопотери, которым проводилась операция на тонком кишечнике и одновременно моделировалась острая кровопотеря. В послеоперационном периоде им в качестве питья давали жидкость с отрицательным ОВП (pH 8,2–9,0; ОВП минус 500–520 мВ). Сыворотку крови для исследования брали на 5 и 15 сутки. Исследовали малоновый диальдегид (нмоль/мл), как основной маркер окислительного стресса.

Результаты. В таблице показано, что при кровопотере значительно увеличивается количество малонового диальдегида, если животным вводилась жидкость с отрицательным ОВП то этот показатель снижался более чем в 2 раза.

Контроль		Острая кровопотеря + жидкость с отрицательным ОВП	
5 сутки	15 сутки	5 сутки	15 сутки
26,96±4,2	18,7±2,7	10,67±2,8#	8,12±0,43#

Вывод: жидкость с отрицательным ОВП снижает в двое содержание МДА у крыс и, очевидно, положительно влияет на работу антиоксидантной системы крыс в послеоперационном периоде.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА В ЛЕЧНИИ ХРОНИЧЕСКИХ РАН

Жидких С.Ю., Горюнов С.В., Суздальцева Ю.Г., Жидких Н.В., Привиденцев А.И., Абрамов И.С., Ярыгин К.Н., Ступин В.А.

Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия
Городская Клиническая Больница №15 им. О.М. Филатова, Москва, Россия
Москва, ул. Вешняковская, 23, тел. +7 (916) 444-45-89, serzhi03@mail.ru

Цель исследования. Улучшение результатов лечения хронических ран различного генеза путем применения клеточной терапии культурой аллогенных фибробластоподобных клеток пуповины человека.

Материалы и методы. В исследовании использована культура мезенхимальных клеток, выделенных из пуповины, после нормальных родов на 38–40 неделе гестации от здоровых родителей, культивированных в лаборатории медицинских клеточных технологий ГОУ ВПО РГМУ (РНИМУ) Росздрава. В клиническом исследовании приняло участие 108 пациентов с хроническими ранами различного генеза. Из них 59 пациентов составили основную группу и 49 пациентов группу сравнения. Средний возраст больных в группах составил 60±4 лет. Распределение по полу и возрасту в группах было сопоставимо. Средняя площадь раневых дефектов на момент включения в исследование в конце I фазы и начале II фазы раневого процесса составила в основной группе 28,5 см^2, в группе сравнения 31,1 см^2. Распределение по генезу хронических ран в основной группе, так и в группе сравнения составило 17% венозная патология, 8% артериальная патология, 30% синдром диабетической стопы, 40% смешанная сосудистая патология и 3% пролежни. Нарушение микро- и макроциркуляции как в основной группе, так и в группе сравнения у 80% пациентов было в стадии субкомпенсации. По генезу раневых дефектов, послеоперационные раны составили 34%; трофические язвы 35%; синдром диабетической стопы 30%; пролежни 4%. Проводилось интрадермальное введение культуры аллогенных мезенхимальных клеток по периферии раневой поверхности и в дно раневого дефекта, культуры в количестве от 1 до 10 млн. клеток в зависимости от размеров раневого дефекта. Для оценки эффективности клеточной терапии использовали прямые показатели динамики раневого процесса, а также оценка изменений гликемического профиля, микробиологическое исследование раневого отделяемого и оценка микроциркуляции

Результаты. При анализе полученных данных отмечается статистически значимое увеличение скорости заживления, за счет уменьшения площади раневого дефекта относительно каждого последующего визита, в первые 10 суток после проведения клеточной терапии. Выявлено значимое ускорение репаративных процессов раневых дефектов в течение 12±2 суток после обкалывания культурой аллогенных мезенхимальных клеток.

Выявлены изменения качественных показателей, таких как активный рост грануляционной ткани в основной группе 62,9%, в отличие от группы сравнения 22,4% ($p>0,05$). Проведение клеточной терапии стимулировала регенерацию хронических ран и способствовало улучшению качественной подготовки раневых дефектов и уменьшению сроков подготовки к реконструктивно-пластическим операциям.

Выводы. Использование клеточной терапии аллогенными мезенхимальными клетками пуповины человека является безопасным и эффективным методом лечения хронических ран различного генеза, а также улучшает качество и снижает сроки подготовки к реконструктивно-пластическим операциям.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ И НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ ГЕТЕРОТОПИЧЕСКИМ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАТОМ И МОЗГОМ КРЫСЫ

Журавлева З.Н.

ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН», Россия
г. Пущино, ул. Институтская, 3, тел. +7 (4967) 739499,
zhuravleva@iteb.ru

Основой функциональной регенерации поврежденного мозга с помощью нейротрансплантации является формирование синаптических связей между трансплантированной тканью и мозгом реципиента. В условиях трансплантации незрелые клеточные предшественники донорской ткани взаимодействуют с нейронами-мишенями во взрослом мозге.

Целью настоящей работы было изучение возможности формирования регенеративных аксональных связей между нейрональными структурами, не контактирующими в нормальном мозге, а также оценка адаптивных субмикроскопических и нейрохимических преобразований в сформированных атипичных синаптических контактах.

Материалы и методы. Электронно-микроскопические исследования проведены на гетеротопических аллотрансплантатах зубчатой фасции гиппокамповой формации, развивающихся в соматосенсорной области неокортекса взрослых крыс в течение 5 месяцев. В качестве донорской ткани использовали закладки зубчатой фасции от 20-дневных плодов.

Результаты. Ультраструктурное изучение показало, что трансплантаты содержали хорошо дифференцированную ткань с типичными для зубчатой фасции нервными и глиальными элементами. Аксоны гранулярных нейронов в сопровождении отростков астроцитов прорастали в соседний неокортекс и устанавливали синаптические контакты с чужеродными дендритами пирамидных нейронов. Эктопические синапсы воспроизводили свои детерминантные признаки: гигантские размеры аксональной терминали и два типа функциональных взаимодействий – синаптические контакты с дендритными шипиками и адгезионные соединения с поверхностью дендритов. Вместе с тем, количественный

анализ показал, что в процесс адаптации трансплантированных нейронов к чужеродным постсинаптическим мишеням, активно вовлекаются нейропептидные котрансмиттеры и молекулы клеточной адгезии. При этом нейропептидные гранулы ассоциируются с синаптическими контактами, а адгезивные зоны – с местами ответвления дендритных шипиков.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 12–04–00812).

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В АЛЬГИНАТНЫХ СФЕРИЧЕСКИХ НОСИТЕЛЯХ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ВКЛЮЧЕНИЕМ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Зайков В.С., Петренко Ю.А., Правдюк А.И., Петренко А.Ю.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, отдел биохимии, г. Харьков ул. Переяславская 23., +380939729112, vedenii.zaikov@gmail.com

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК), инкапсулированные в альгинатные сферические носители являются перспективным объектом тканевой инженерии и регенеративной медицины. При культивировании МСК остаются сферической формы и прекращают пролиферировать, вследствие слабых адгезивных свойств альгината. Модификация альгинатного микроносителя, способная обеспечить адгезию и пролиферацию клеток, будет способствовать более широкому применению МСК в регенеративной медицине. В данной работе изучали влияние включения плазмы крови человека в состав альгинатных сферических микроносителей на жизнеспособность, метаболическую активность и морфологию МСК.

Результаты. Включение плазмы крови человека в состав альгинатных микроносителей не влияло на жизнеспособность иМСК, определенную по количеству клеток, способных метаболизировать МТТ, что сопровождалось накоплением нерастворимых кристаллов формазана. На 2–3 сутки культивирования МСК в модифицированных плазмой носителях было отмечено появление клеток с фибробластоподобной морфологией. Жизнеспособность клеток, оцененная через 28 суток культивирования, составляла более 90% от контроля для обоих типов носителей. В тоже время, показатели оптической плотности после растворения формазана для МСК в немодифицированных микроносителей составляли 50% относительно 1-х суток культивирования, что свидетельствует о снижении метаболической активности клеток. При культивировании МСК в альгинатных микросферах, модифицированных включением плазы, метаболическая активность увеличивалась на 26% по отношению к 1 суткам, что, очевидно, объясняется пролиферацией клеток. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования плазмы крови человека в качестве модификатора альгинатных сферических носителей.

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА НА ТЕЧЕНИЕ АСЕПТИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ХРОМОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Засорин Б.В., Насиров И.Н., Гебель В.В., Галата Л.В., Оразбаева К.Б.

РГКП Западно-Казахстанский государственный медицинский университет им.М.Оспанова, г. Актюбинск, Казахстан.
Актюбинск, ул. Маресьева, 66, тел. +7 (7132) 567243, zassorin@mail.ru

Актуальность. Известно, что хроническое поступление в организм малых доз тяжёлых металлов вносит коррективы в классическое течение и фазы воспалительного процесса. В связи с этим представляется актуальным изучение возможностей применения клеточных продуктов для коррекции подобных нарушений.

Цель исследования: оценить эффективность применения клеточного продукта при асептическом воспалении на фоне хронической хромовой интоксикации.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 60 крысах линии Вистар, у которых хроническая интоксикация вызывалась ежедневным пероральным введением 6% раствора бихромата калия в течение 30 суток. Затем формировался очаг асептического воспаления по Г. Селье. Через 3 дня, после этого, животные были разделены на 2 группы, опытной группе внутрибрюшинно вводились стромальные клетки костного мозга, полученные из бедренных костей новорожденных крысят, фенотипированые и трижды пассированные. Вторая группа служила контролем. Забой животных осуществлялся на 10-е сутки после введения клеток. Затем проводились гистологические исследования материала, взятого из очага воспаления.

Результаты. Установлено, что в опытной группе животных введение клеток резко изменяет процесс воспаления, проявляющийся сдвигом фазы экссудации, эмиграции макрофагов и фибробластов. На 10-е сутки процесс воспаления почти полностью завершается резорбцией остатка рубцовой ткани. Макроскопически отмечалось уплотнение грануляционной ткани размером 1–2 мм. В контрольной группе в этот период наблюдается наличие большего объёма некротической ткани с остатками фибрина и плотной инфильтрацией лимфоидными клетками. Макроскопически выявлялся тонкостенный грануляционный размером 19–20 мм, наполненный серозной жидкостью и некротическими массами.

Выводы: применение стромальных клеток костного мозга при асептическом воспалении на фоне хронической хромовой интоксикации обуславливает ускоренное разрешение воспалительного процесса и резорбцию рубцовой ткани.

ВЫБОР ЗАМЕЩАЮЩЕГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ КОСТНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОЗВОНОЧНИКА ПРИ МИЕЛОМНОЙ БОЛЕЗНИ

Захаров А.В., Киселев А.М., Кедров А.В., Биктимиров Р.Г.

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт, Москва, Россия
Москва, Щепкина 61/2, +7 (495) 681-68-86, fellazak@mail.ru

Миеломная болезнь (МБ) является системным заболеванием, при котором нередко отмечается опухолевое поражение отдельных позвонков, приводящее к их разрушению, сдавлению невральных структур, потере опорной функции и требующее проведения оперативных вмешательств. При планировании операций встает вопрос о выборе замещающего материала с целью фиксации и костной регенерации поврежденного позвоночного сегмента. Наряду с аутокостью широко используются формализированные аллотрансплантаты и титановые импланты.

Цель. Изучить процессы срастания кости с различными имплантами после проведения декомпрессивно-стабилизирующих операций на различных отделах позвоночника, используя методы лучевой диагностики в послеоперационном периоде.

Материалы и методы. Оперировано 8 больных с МБ, осложненной поражениями тел позвонков с их частичным или практически полным разрушением, потерей осевой устойчивости на шейном (2), грудном (3) и поясничном отделах позвоночника (3). Спондилодез осуществляли: у двух пациентов аутокостью, 2 – аллокость, 4 – титановый имплант.

Результаты. При динамическом наблюдении методами лучевой диагностики выявлено, что спондилодез аутокостью способствует ранней консолидации позвоночно-двигательного сегмента, но при этом сохраняется высокий риск продолженного опухолевого роста. Использование аллокости не снижало риск рецидива опухоли, но имплант не вовлекался в патологический процесс и сохранял опорную функцию. Установка титанового импланта увеличивала сроки консолидации, но позволяла проводить раннюю активизацию и отказ от длительной наружной иммобилизации.

Заключение. По нашим наблюдениям в очаг опухолевого поражения не следует устанавливать аутотрансплантаты, поскольку опухолевой процесс неизбежно распространиться и на них, приводя к повторным осложнениям. Предпочтительное использовать аллокость и титановые импланты.

ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ ИММУНОМОДУЛЯТОРНЫХ МОЛЕКУЛ В КУЛЬТУРАХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ВНЕЗАРОДЫШЕВЫХ ТКАНЕЙ И ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА

Захаров А.В., Сердюк Я.В., Метлюк Е.А., Чулкина М.М., Савилова А.М.

ФГБУ «НЦАГиП им. Кулакова» Минздрава РФ, Москва, Россия
Москва, ул. Академика Опарина, 4, тел. +7 (495) 438-49-51,
a_zaharov@oparina4.ru

Актуальность. Клеточная терапия является одним из самых многообещающих направлений в современной медицине. Важным преимуществом мезенхимальных стромальных клеток (МСК) является простота их получения из различных источников и культивирования. Исследователями описаны иммунорегуляторные свойства МСК, которые могут быть использованы с целью терапии различных воспалительных заболеваний, несостоятельности эндометрия, бесплодия и т.д.

Целью работы явилось определение и сравнение уровней экспрессии иммуномодуляторных молекул в культурах МСК из внезародышевых тканей (полученных из амниотической оболочки, пупочного канатика, ворсин хориона и трофобласта плаценты) и эндометрия взрослого человека.

Результаты. В исследованных МСК на разных пассажах были количественно охарактеризованы методом ПЦР «в реальном времени» мРНК ряда генов, участвующих в процессах пролиферации, воспалительных, противовоспалительных и ангиогенных процессах, такие как tgfβ, il6, il10, il1β, vegf165 и foxp3. Также методом ELISA была определена концентрация в культуральной среде таких иммунорегуляторных белков как IL10, IL6, IL1β, IFNγ и TGFβ. При культивировании МСК без индукторов в большинстве культур не удалось обнаружить мРНК генов таких провоспалительных факторов как TNFα и IFNγ. В целом экспрессия упомянутых факторов в МСК из различных источников происходила на сходном, достаточно высоком уровне Однако в культурах МСК из амниона экспрессия цитокина IL6 была в среднем в два раза выше, чем в МСК из других источников, а мРНК гена tnfα была обнаружена только в культурах МСК из хориона.

Полученные результаты свидетельствуют об иммунорегуляторной активности выделенных клеток даже в покое, без активации, что подтверждает возможность использования этих клеток в терапии хронических воспалительных процессов, несостоятельности эндометрия, бесплодия иммунного генеза, невынашивания и т.д.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОЧНО-НАПОЛНЕННОГО СОСУДИСТОГО ТРАНСПЛАНТАТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАПРАВЛЕННОЙ ВАСКУЛЯРНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Захарова И.С.[1,2,3], Шевченко А.И.[1,2,3], Живень М.К.[1,3], Саая Ш.Б.[2], Карпенко А.А.[2], Покушалов Е.А.[2], Иванова Л.Н.[1], Сухих Г.Т.[4], Закиян С.М.[1,2,3]

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10
2 – Федеральное государственное учреждение Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина Минздрава России, 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, 15
3 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8
4 – ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова Минздрава РФ, Москва, ул. ак. Опарина, 4.
e-mail: zakian@bionet.nsc.ru, тел. +7 (383) 363-49-37

В настоящее время наблюдается рост числа заболеваний с патологией кровеносных сосудов. Лечение этих заболеваний предусматривает замену сосудов на синтетические или аутологичные, в связи с чем разработка тканеинженерных протезов сосудов остается актуальной задачей. Работа направлена на создание клеточно-наполненных сосудистых трансплантатов, которые, за счет наличия васкулярных клеток, способных к синтезу компонентов внеклеточного матрикса, характеризуются долговечностью и имеют физиологические свойства, близкие к свойствам естественных кровеносных сосудов.

Предложено проводить направленную дифференцировку в монослое плюрипотентных стволовых клеток человека в васкулярные предшественники, которые затем дифференцируются в эндотелиальном и муральном направлении путем добавления соответствующих ростовых факторов. Проведены исследования способности пролиферации, наработки межклеточного матрикса эндотелиальными и муральными клетками на поверхности из синтетических материалов и децеллюляризованном сосудистом скэфолде в статических и ротационных условиях.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СМЕШАННЫХ КУЛЬТУР АУТОГЕННЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ТЕРАПИИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Зверева А.Е., Улыбин А.И., Бабушкина Ю.В., Макеев О.Г.

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия.
ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург, Россия
Екатеринбург, ул. Ключевская, 17, тел. +7 (343) 242-15-46, larim@mail.ru.

По данным Международной диабетической федерации к 2030 году число больных сахарным диабетом (СД) в мире составит 439 млн. человек. При этом у 10% больных сахарным диабетом формируются нейротрофические язвы нижних конечностей (НТЯНК), приводящие к ампутации у каждого четвертого больного.С целью повышения эффективности клеточной терапии НТЯНК и сокращения сроков лечения нами разработана технология, основанная на использовании смешанной культуры немодифицированных аутологичных фибробластов и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК).

Материалы и методы. Терапия повреждений кожных покровов с использованием клеточных культур проведена у 10 пациентов (7 женщин и 3 мужчин) с СД II типа тяжелой степени. Средний возраст пациентов составил 65,16 лет. Стаж СД – 8,16 лет. У всех пациентов имелись обширные язвенные дефекты на стопе или голени без признаков регрессии в течение 6 и более месяцев. У трех исследуемых достаточный объем жировой ткани в эксплантате позволил получить стабильные линии Stro-1, CD73, CD90 и CD105 позитивных и CD34, CD45 и CD14 негативных клеток, использованных для формирования смешанной культуры фибробластов и ММСК.

Результаты. При применении монокультур фибробластов сроки полного закрытия язвенной поверхности варьировали от 9 до 21 недели. При применении смешанных культур аутофибробластов и ММСК сроки заживления сокращались в 3 раза. При этом снижение скорости заживления не наблюдалось ни у одного из пациентов.

В ходе последующего наблюдения пациентов в течение трех лет (2009–2012 гг) случаев рецидива НТЯ в области первичного поражения не зарегистрировано.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИГРАЦИИ И ОСОБЕННОСТЕЙ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ

Зубарева К.Э.[1,2], Соловьева А.О.[1,2], Нечаева Е.А.[2], Повещенко А.Ф.[1], Коненков В.И.[1]

1 – ФБГУ «НИИКЭЛ» СО РАМН, Новосибирск, ул.Тимакова, 2, тел. +7 (383) 333-64-09
2 – ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Кольцово, Новосибирская область, тел. +7 (383) 336-60-10, zubareva_kje@vector.nsc.ru

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) являются средством выбора клеточной терапии для адресной доставки в опухоль противоопухолевых препаратов. В связи с этим актуально исследование количественных и временных показателей распределения мигрирующих ММСК в организме реципиента-опухоленосителя.

Цель – изучение особенностей миграционной активности трансплантированных ММСК в опухоль и органы реципиента-опухоленосителя на модели меланомы B16.

Методы. Самкам мышей линии C57Bl, носителям перевиваемой опухоли- меланомы B16, вводили культивированные ММСК костного мозга самцов. Через 1 час, 3, 7, 14 суток после трансплантации донорских клеток забирали органы: легкие, кожу; опухоль; лимфоузлы; сердце; печень; селезенку; костный мозг; головной мозг. В качестве маркера введенных клеток была использована специфическая последовательность Y-хромосомы, наличие которого количественно оценивалось в органах реципиента при помощи полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. Показано, что через 1 час после введения ММСК маркер донорских клеток присутствует во всех органах. Его максимальное количество отмечается в легких, печени и селезенке. Через 3 суток после введения ММСК максимальное количество маркера клеток донора отмечено в лимфатических узлах, легких. Через 7 суток после введения ММСК большое количество маркера обнаружено в опухоли. Также на данном сроке отмечается достаточно высокий уровень маркера ММСК в легких. Через 14 суток после трансплантации отмечается большое количество маркера, как в опухолевой ткани, так и в органах метастазирования: легких, селезенке, головном мозге. Также высокий уровень маркера выявлен в лимфатических узлах.

Таким образом, маркер трансплантированных клеток обнаруживался во всех исследуемых органах, на всех сроках после введения. Высокий уровень миграции ММСК в опухоль был обнаружен через неделю после трансплантации, а через 2 недели – в органах метастазирования меланомы B16 – легкие, печень, селезенку.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛАЗЕРНОЙ ФОТОХИМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В РЕГЕНЕРАЦИИ ЭНДОМЕТРИЯ

Зуев В.М., Ищенко А.И., Александров М.Т., Калинина Е.А., Джибладзе Т.А., Везирова В.Р., Арутюнян Н.А., Хомерики Т.А.

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, кафедра акушерства и гинекологии №1, Москва, Россия
Москва, ул.Еланского, д. 2, +7 (495) 248-74-89, vlzuev@bk.ru
Клиника «АртЭКО», Москва, Россия,
Москва, ул. Погодинская, д. 10/15

Актуальность. Хронический эндометрит и гормональная дисфункция эндометрия неизбежно приводят к бесплодию, невынашиванию, осложнениям беременности и родов. Медикаментозное лечение морфо-функциональных расстройств эндометрия, обусловленных нарушением регенеративных процессов до настоящего времени малоэффективно.

Цель исследования: Повышение регенеративной активности эндометрия у женщин с бесплодием и привычным невынашиванием.

Материал и методы. Проведено обследование и лечение 260 пациенток в возрасте от 28 до 47 лет, из 95% – пациентки с неуспешными попытками ЭКО. Оценка состояния эндометрия до, в процессе (мониторинг), и после лечения проводилась с помощью рамановской флюоресцентной диагностики, цито-морфологического, иммуногистохимического и ультразвукового исследований. Определялись пролиферативная активность клеток эндометрия, внутритканевая оксигенация и микроциркуляция, метаболизм и рецептивность эндометрия. Комплексное лечение включало природные фотосенсибилизаторы, антиоксиданты и внутриматочное лазерное облучение эндометрия.

Результаты. Выявлены повышение регенеративной активности эндометрия и активация его функциональных резервов у 238 (91,5%) женщин. Отмечены повышение индекса аэробности, микроциркуляции, пролиферативной активности, уровня метаболизма и рецептивности эндометрия. Беременность в течение 3 месяцев после лечения наступила у 95 (36,5%) пациенток.

Выводы. Лазерная конверсионная диагностика является эффективным неинвазивным сособом оценки и мониторинга морфо-функционального состояния эндометрия. Лазерная фотохимическая внутриматочная терапия позволяет повысить регенеративную способность и улучшить морфо-функциональные характеристики эндометрия.

РАЗВИТИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ СТРАТЕГИИ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ВЫСОКОСЕЛЕКТИВНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ НА ОСНОВЕ АЛКАЛОИДОВ

Зюзьков Г.Н., Жданов В.В., Суслов Н.И., Дыгай А.М.

ФГБУ «НИИ фармакологии» СО РАМН, 634028, г. Томск, пр. Ленина, д. 3,
Тел. +7 (3822) 418372, e-mail: zgn@pharm.tsu.ru

«Фармакологическая стратегия регенеративной медицины», основанная на принципе подражания деятельности естественных регуляторных систем, представляет собой наиболее физиологичный и перспективный подход к решению задач регенераторной медицины. В эксперименте показана принципиальная возможность терапии ряда заболеваний с помощью различных аналогов эндогенных регуляторов функций СК и высокая эффективность иммобилизированной гиалуронидазы. Однако универсальность механизма действия данного средства определяет его недостаточную избирательность в отношении органа-мишени. В связи с этим представляется актуальной разработка высокоселективных средств для регенеративной медицины.

Цель: Оценить перспективность разработки лекарственных средств для регенеративной медицины на основе алкалоидов.

Материалы и методы. Исследовались дитерпеновые алкалоиды: напеллин, зонгорин, гипаконитин, мезаконитин, Z77 и др. Экспериментальными моделями служили: кожная рана, цитостатическая миелосупрессия, постгипоксическая энцефалопатия, острое нарушение мозгового кровообращения. Использовались гистологические, функциональные, культуральные, гематологические и др. методы исследования.

Результаты. Выявлены алкалоиды с различными видами регенеративной активности. Наиболее выраженные ранозаживляющие свойства обнаружены у напеллина, зонгорина и гипаконитина; эритро- и гранулоцитопоэзстимулирующие – у зонгорина и напеллина соответственно; а церебропротекторные – у Z77. Установлено, что механизмами действия веществ является их прямое воздействие на рецепторный аппарат (рецепторы к факторам роста) клеток-предшественников и повышение функциональной активности элементов микроокружения тканей. При этом в передаче стимулирующего сигнала прогениторным клеткам задействованы «резервные» внутриклеточные IKK-, PKC1-, PKB-, PKA-зависимые направления NF-κB и p38 MAPK-сигналинг, которые в реализации ростового потенциала СК в условиях оптимальной жизнедеятельности не участвуют.

Выводы: Полученные результаты свидетельствуют о высокой перспективности разработки на основе обнаруженных алкалоидов селективных средств для регенеративной медицины.

ПРИМЕНЕНИЕ ИМПЛАНТАТОВ И СОЗДАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ КОЛЛАГЕНОВЫХ МАТРИЦ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДЕФЕКТОВ СУСТАВНОГО ХРЯЩА

Иванников С.В., Люндуп А.В., Жарова Т.А., Тельпухов В.И., Тоненков А.М., Данилевский М.И., Елистратов П.А., Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Николенко В.Н.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел. +7 (495) 609-14-00,
lyundup@gmail.com

Актуальность. Разработка технологий восстановления хрящевых поверхностей крупных суставов актуальна в связи с высокой частотой встречаемости патологии. Одним из перспективных источников прогениторных клеток для восстановления суставного хряща является костный мозг.

Цель. Оценить эффективность двух пластических коллагеновых материалов для основе возможность создания тканеинженерной конструкции на коллагеновых матриц и культивированных мезенхимальных стромальных клеток (МСК) костного мозга.

Материалы и методы. В качестве матриц были использованы: хондрогайд (Chondro-Gide®) и аналогичная матрица производства Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Проведено две серии опытов: 1) сравнение имплантатов без клеток (n=19); 2) сравнение конструкций с МСК. Крысам Вистар (n=10) с дефектом суставного хряща имплантировали конструкцию с аутологичными МСК (2 пассаж) на матрице. В контрольной группе животных с дефектом хряща (n=10) имплантацию не проводили.

Результаты. Морфологическое исследование конструкции после 7 суток культивирования на ней МСК показало, что клетки формируют слой на поверхности матрицы, при этом отдельные клетки проникают во внутренние слои матрицы. Через 2 месяца после пластики хондрогайдом дефект уменьшился более чем в 2 раза, после пластики коллагеновой мембраной дефект определяется в виде небольшого углубления поверхности хряща. На тот же срок в контроле дефект прежних размеров.

Выводы. Коллагеновая матрица собственного производства не уступает по эффективности коммерческому продукту – хондрогайду. Использованные матрицы пригодны для создания тканеинженерных конструкций.

ГИБРИДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ AL2O3-ZRO2 И АЛИФАТИЧЕСКИХ ПОЛИЭФИРОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В НОВЫХ БИО- И МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЯХ

Ильющенко А.Ф.[1], Цедик Л.В.[1], Белов Д.А.[1], Бухарова Т.Б.[2], Волков А.В.[3], Эшмотова Г.К.[3] Антоневич Н.Г.[4], Квачева З.Б.[4], Гончаров А.Е.[4]

1 – Государственное научное учреждение «Институт порошковой металлургии», РБ, 220071, Минск, Платонова 41, +375 17 293-98-70, tslara@rambler.ru
2 – ФГБУ «МГНЦ» РАМН, Россия, 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1
3 – ФГБУ «НИИМЧ» РАМН, Россия, 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3
4 – РНПЦ эпидемиологии и микробиологии МЗ РБ, РБ, 220114 г. Минск, Филимонова, 23

Изучение адгезии клеток различного генеза на поверхностях с различной топографией и функциональным покровом относится к актуальным вопросам фундаментальных и прикладных исследований, связанных с развитием инновационных биотехнологий регенерации утраченных тканей и органов с использованием тканеинженерных конструкций, созданием эффективных и чувствительных лекарственных и диагностических средств нового поколения, улучшенных экспериментальных моделей и др.

Цель работы: изучение изменения структуры и медико-биологических свойств модифицированных материалов на основе Al_2O_3-ZrO_2 и полимеров молочной кислоты.

Материалы и Методы: 3 D Al_2O_3-ZrO_2 высокопористые носители плотностью 0,25–0,8 г/см^3 с наносимым L-PLA покрытием. Методы модифицирования поверхности материалов: золь-гель покрытия и высокоэнергетическая лазерная обработка Al_2O_3-ZrO_2, обработка L-PLA в натрий содержащих растворах с pH=7,01–8,0. Оптическая, сканирующаяй электронной, атомно-силовой микроскопии и рентгеноструктурный анализ.

Результаты. Показано:

– отсутствие цитотоксического действия экспериментальных образцов материалов–носителей на культуры стволовых и прогениторных клеток;

– увеличение гистерезиса краевого угла смачивания (Δθ) по отношению к раствору Рингера с 11° до (28–30)° на модифицированных обработкой в щелочных средах PLA покрытиях;

– активный «захват» культурой фибробластов поверхностей 3 D Al_2O_3-ZrO_2 материалов-носителей, подвергнутых высокоэнергетической лазерной обработке.

СОЗДАНИЕ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Истранов Л.П., Истранова Е.В., Абоянц Р.К., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Гуллер А.Е., Люндуп А.В., Данилевский М.И., Бутнару Д.В., Елистратов П.А., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел. +7 (916) 777-32-31,
butnaru_dv@mail.ru

Актуальность. Создание тканеинженерных конструкций невозможно без использования соответствующих матриц для роста клеток. Матрицы, получаемые из различных видов соединительной ткани животных и человека, имеют в основе волокнистый белок коллаген. Процедура изготовления тканевых матриц на основе коллагена в значительной мере определяет их биосовместимость, скорость биорезорбции, и, в конечном итоге, биоадекватность. Целью нашей работы явилась разработка методик получения децеллюляризированных матриц для тканевой инженерии из разных видов соединительной ткани.

Материалы и методы. В качестве биотканей использовали кожи коров, лошадей, рыб, а также артерии человека; для каждого вида ткани разрабатывали индивидуальную методику обработки. Готовили матрицы двух видов: 1) из биотканей, подвергнутых децеллюляризации; 2) из растворов коллагена, полученных тех же тканей, с последующей реконструкцией волокнистого коллагена в форме губок или пленок.

Результаты. Было показано, что для децеллюляризации кожи коров, лошадей и рыб эффективно последовательное применение механической, щелочно-солевой или кислотной обработки, нейтрализация, промывка и сублимационное высушивание. Для удаления клеточных элементов из артериальной стенки после отмывки в солевых растворах необходимы дополнительная ферментная обработка и высушивание. Технология получения губок и пленок из реконструированного коллагена требует получения 1% раствора уксуснокислого коллагена из нативных биотканей и дифференцированных способов высушивания.

Выводы. Предложенные нами методики химической и ферментативной обработок позволяют освободить соединительную ткань от клеточных элементов при сохранении исходной или реконструированной волокнистой структуры и использовать ее в качестве матрицы для культивирования клеток.

ТЕКТОНИЧЕСКАЯ И МЕЛИОРАТИВНАЯ КЕРАТОПЛАСТИКА С ПРИМЕНЕНИЕМ БИОМАТЕРИАЛА АЛЛОПЛАНТ ДЛЯ ПОСЛОЙНОЙ КЕРАТОПЛАСТИКИ

Кадыров Р.З., Усманова А.Ф.

ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ, Уфа, Россия
Уфа, ул. Р. Зорге 67/1, тел. +79174227736, radkad@yandex.ru

Актуальность. Лечение истонченных бельм, фистул роговицы и десцеметоцеле вызывает определенные трудности в связи с дефицитом донорской роговицы, а своевременно не проведенная операция может привести к гибели глаза. При новообразованиях лимбальной зоны определенные сложности вызывает хирургическое моделирование и фиксация небольших трансплантатов из донорских тканей.

Цель. Изучить возможность использования биоматериала Аллоплант (БМА) в качестве альтернативного донорской роговице материала при проведении послойной тектонической кератопластики (ПТК) и послойной мелиоративной кератопластики (ПМК).

Материалы и методы. При проведении ПТК и ПМК использовался биоматериал Аллоплант толщиной 100 или 200 мкм, круглой формы (диаметром 6–10 мм) или атипичной формы. Данный трансплантат выпускается во флаконах, готовый к применению, хранится при комнатной температуре до 5 лет. Было прооперировано 100 больных, из них мужчин – 63, женщин – 37. Возраст от двух до 80 лет. В 95 случаях была проведена ПТК и в 11 случаях ПМК. При фистулах роговицы были прооперированы лишь те случаи, когда фистулизирующее отверстие было диаметром до трех мм и тампонировано радужкой.

Результаты. Изучены отдаленные результаты у 38 пациентов (40 случаев) в сроки от шести месяцев до шести лет. Распределение пациентов по диагнозам было следующим: новообразования роговицы и лимбальной зоны – 21 случай, неравномерное бельмо роговицы – 11 случаев, фистула роговицы – 6 случаев, лентовидная дистрофия роговицы – 2 случая. Прозрачное замещение биоматериала для послойной кератопластики мы наблюдали в 11 случаях (27,5%), почти прозрачное – 4 (10%), полупрозрачное – 15 (37,5%), мутное – 10 (25%). В тех случаях, когда проводилась ПТК в отдаленный период поверхность роговицы была ровная и гладкая. Во всех случаях с фистулой роговицы удалось сохранить глаза. Как правило, в этих случаях в отдаленный период формировалось бельмо. Этим пациентам в дальнейшем планировалось проведение оптико-реконструктивных операций.

Выводы. Таким образом, в условиях острого дефицита донорской роговицы, использование БМА для послойной кератопластики с тектонической и мелиоративной целью позволяет решить проблему донорского материала. Что особенно важно при массовом поступлении пострадавших, с поражением органа зрения.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ МОНОНУКЛЕАРОВ И КУЛЬТИВИРОВАННЫХ МСК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ПОСТИНФАРКТНОМ КАРДИОСКЛЕРОЗЕ У КРЫС

Кананыхина Е.Ю.[1,2], Арутюнян И.В.[1,2], Ельчанинов А.В.[1,2], Макаров А.В.[1,2], Фатхудинов Т.Х.[1,2]

1 – ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ, г. Москва, Россия
117997, Москва, ул. Ак. Опарина, д.4, тел. +7 (495) 531-44-44, e_kananykhina@oparina4.ru
2 – ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН, г. Москва, Россия
117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д.3, тел. +7 (499) 120-14-56, e.kananykhina@gmail.com

Актуальность. Клинические испытания подтверждают наличие терапевтического эффекта трансплантации стволовых/прогениторных клеток при острых и хронических заболеваниях сердца, однако механизм терапевтической активности остается неизвестным.

Цель. Оценить миграцию и дифференцировку трансплантированных мононуклеаров (МНК) и МСК костного мозга, а также процессы репарации миокарда после острого инфаркта (ОИМ).

Материалы и методы. Крысам моделировали трансмуральный инфаркт миокарда по Селье с восстановлением животных. Спустя 30 дней после ОИМ 5 млн клеток, меченных PKH26, трансплантировали через катетер в левом желудочке при пережатой аорте. Через 1,7, 14 или 30 суток животных подвергали эвтаназии, готовили серийные срезы сердца.

Результаты. На всех сроках исследования меченые клетки выявляли только в рубце. Наибольший графтинг наблюдали в группе МНК на 14 сутки после трансплантации, при этом к 30-м суткам количество МНК уменьшалось, в то время как в группе с МСК количество выявленных меченых клеток оставалось неизменным. Трансплантированные клетки имели фибробластоподобную морфологию, часть из них положительно окрашивалась антителами к фибробластам (FAP-α) и миофибробластам (α-SMA). Не было получено данных, подтверждающих дифференцировку трансплантированных клеток в кардиомиоциты, эндотелиоциты или гладкие миоциты кровеносных сосудов. В группах с трансплантацией клеток толщина стенки левого желудочка была достоверно больше, чем в контроле. При этом в группе МНК и контроле увеличивался индекс дилатации левого желудочка, что говорит о патологическом ремоделировании.

Вывод. Трансплантированные МНК и МСК в условиях постинфарктного кардиосклероза дифференцируются в клетки фибробластического дифферона и стимулируют фиброз, но только в рубце, а не в перифокальном миокарде. Трансплантация МСК приводит к обратному ремоделированию левого желудочка и восстановлению функций сердца.

ПРИМЕНЕНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО КОНТРОЛЯ ПРИ ВВЕДЕНИИ АУТОЛОГИЧНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫМ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ КОНЕЧНОСТЕЙ

Каргин В.Д., Чечеткин А.В., Солдатенков В.Е., Бураков В.В., Волошин С.В., Розанова О.Е., Чубукина Ж.В., Павлова И.Е., Глазанова Т.В.

ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» Федерального медико-биологического агентства
Санкт-Петербург, 191023, 2-я Советская ул., дом 16

Актуальность. Одним из актуальных вопросов регенеративных методов лечения у пациентов с облитерирующими заболеваниями периферических артерий нижних конечностей с использованием аутологичных стволовых клеток периферической крови (СКПК) является оптимизация введения СКПК в анатомическое образование, перспективное для терапевтического неоангиогенеза. Чаще всего используется прямое внутримышечное введение. Процедура введения аутологичного трансплантата должна обеспечивать минимальные потери стволовых клеток, точное введение в мышечные ткани и достаточное равномерное распределение концентрата клеток, отсутствие повреждения сосудов при пункции атрофированного мышечного массива.

Цель: изучить возможности использования ультразвукового исследования (УЗИ) для интраоперационного контроля введения концентрата СКПК.

Материалы и методы. Объект исследования: 18 больных. Мужчины составили 15 пациентов. Средний возраст 61 год. Критерии включения: пациенты старше 18 лет; ишемия конечности не менее 1 месяца IIa–IV стадии по А.В. Покровскому-Фонтейну; проходимость проксимального артериального русла; наличие неоперабельного дистального поражения артерий или недостаточность коллатеральных путей кровотока. Стимуляция G-CSF (филграстим 10 мкг/кг массы тела) с автоматической сепарацией СКПК. Введено 0,480 +/-0,043x10^6 СД34+ клеток на килограмм массы тела. Введение трансплантата (концентрат СКПК) проведено внутримышечно из 25–30 точек по 1 мл, под контролем УЗИ (Aloka 1700, программа MS, линейный датчик 7,5 МГц). Расстояние между пункциями и их глубина определялось под контролем УЗИ. Применялись инъекционные иглы G29 без лазерного усиления эхосигнала. УЗ контроль позволил во всех 18 случаях: контролировать введение СКПК строго субфасциально, контролировать глубину введения и распределение в мышечной ткани (феномен расслоения перистой структуры мышц), добиться равномерного распределения трансплантата по объему мышц без образования полостей накопления (псевдогематом), локализовать малую подкожную вену, мышечные артериальные ветви и избежать пункции сосудов.

Выводы: Применение ультразвукового контроля повышает безопасность и эффективность введения СКПК в мышцы голени у больных с ишемией нижних конечностей.

УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ МЫШЕЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА ОТ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ДОНОРОВ

Карнаухов А.В., Карнаухова Е.В., Сергиевич Л.А., Богданенко Е.В., Жукоцкий А.В., Смирнов А.А., Карнаухова Н.А., Карнаухов В.Н.

ИБК РАН, Россия, Московская обл., Пущино, ул. Институтская, 3, тел. +7 4967 731796, AlexeyKarnaukhov@yandex.ru

Изучение влияния трансплантации различных типов стволовых клеток (СК) на продолжительность жизни экспериментальных животных представляет собой актуальное направление клеточной биологии. В настоящей работе проводилась безрадиационная трансплантация костного мозга (КМ) самкам инбредной линии C57Bl/6 EGFP. Реципиентам, начиная с 5–8 месячного возраста, проводили трансплантацию КМ через каждые 3 месяца. С целью минимизации развития иммунной реакции, использовался КМ от их потомков – детенышей первого и последующих поколений в возрасте 1.5–2 месяцев. КМ выделяли из бедренных костей донора (возраст – 1.5–2 месяца) путем их измельчения и последующей фильтрации через капроновое сито, с расстоянием между нитями 70 мкм. Трансплантацию проводили с помощью инсулинового шприца в объеме 100 мкл цельной фракции КМ ($2*10^6$ клеток, включая мезинхимальные СК) непосредственно после ее выделения в боковую вену хвоста реципиента.

На рисунке представлены кривые выживания в контрольной и экспериментальной группе. Средняя продолжительность жизни (ПЖ) в экспериментальной группе составила 20.6±2.2 месяцев, что на 34% превышало ПЖ в контроле (15.4±2.6 месяца, p=0.05). Таким образом, в работе была показана принципиальная возможность увеличения ПЖ млекопитающих (ревитализация) при использовании клеточных технологий.

ИССЛЕДОВАНИЕ КАРДИОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА МИОКАРД ПОСЛЕ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Карпов А.А.

ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, +7 (951) 678-7006,
a--karpoff@mail.ru

Актуальность. Хроническая сердечная недостаточность остается одной из основных проблем современной кардиологии, и требует разработки принципиально новых методов лечения.

Цель. Исследование кардиопротективного действия мезенхимальных стволовых клеток (МСК) различного происхождения, введенных в периинфарктную область после ишемии-реперфузии миокарда у крыс.

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах-самцах линии Wistar (n=51) массой 235±34 г, имеющих ишемически-реперфузионное повреждение, проводили трансплантацию МСК. Животные были случайным образом разделены на три группы: 1) контроль (n=20) – в периинфарктную зону вводился фосфатный буфер; 2) группа МСК-ККМ (n=17) – вводились МСК из красного костного мозга; 3) группа МСК-ЖТ (n=14) – МСК из жировой ткани. Через 2 недели после введения МСК производилось исследование функционального состояния левого желудочка.

Результаты. В группе МСК-ККМ в сравнении с контролем на модели перфузии изолированного сердца было выявлено достоверно более высокая амплитуда ишемической контрактуры, что свидетельствует о большей сохранности миокарда ЛЖ, участвующего в генерации контрактуры, а также меньший размер инфаркта по данным гистологического исследования. Между контролем и МСК-ЖТ подобных различий обнаружено не было.

Выводы: показано кардиопротективное действие МСК, полученных из красного костного мозга, на миокард крысы после регионарной ишемии-реперфузии. Трансплантация МСК из жировой ткани не приводила к кардиопротективному эффекту.

ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА SNAIL ЭНДОМЕТРИЯ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ГИПЕРПЛАЗИИ И ГИПОПЛАЗИИ

Катанугина А.С., Маркитантова Ю.В., Красный А.М.

ФГБУ «НЦАГиП» им Кулакова Москва, Россия
117997 г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4 тел. +7 (963) 750-35-35
alexred@list.ru

Метапластические изменения эндометрия, такие как гиперплазия и гипоплазия, являются причиной нарушений женской репродуктивной функции. В данной работе исследована роль белков семейства SNAIL в пролиферации нормального эндометрия и при метапластичеких изменениях. Белки данного семейства представляют собой транскрипционные факторы, подавляющие экспрессию Е-кадгерина. Угнетение экспрессии Е-кадгерина приводит к высвобождению бета-катенина, образуещего с Е-кадгерином адгезионный комплекс, и транслокации бета-катенина в ядро (Thiery 2006) . Бета-катенин определяет митогенную клеточную активность (Niehrs, Acebron 2012). Мы предположили, что белки семейства SNAIL регулируют пролиферативную активность клеток эндометрия, воздействуя на уровень экспрессии Е-кадгерина. Для исследования были взяты пять образов функционального эндометрия: один без патологий, два образца с гиперплазией без атипичных изменений, а также два образца с гипоплазией. Чтобы вызвать у клеток эндометрия пролиферативную активность, была использована модель кратковременного клеточного культивирования (четверо суток), при этом в культуре наблюдалась экспрессия Ki67. Было проведено сравнение уровня экспрессии мРНК методом РВ-ПЦР генов SNAI1 и SNAI2 (семейство SNAIL) и Е-кадгерина в ткани и культуре нормального эндометрия. Установлено, что экспрессия SNAI1 при культивировании возрастает в четыре раза, SNAI2 в девять раз. Уровень экспрессии Е-кадгерина снижается в 10 раз. Также методом иммуногистохимии показано, что SNAI1 в пролиферирующей культуре нормального эндометрия локализован в ядре и отсутствует в ядрах ткани эндометрия. Эти данные позволяют предположить, что белки семейства SNAIL играют активную роль в пролиферации клеток эндометрия, многократно снижая уровень экспрессии Е-кадгерина. При сравнении уровней экспрессии мРНК SNAI1, SNAI2 и Е-кадгерина в культуре нормального эндометрия с культурами, полученными при патологиях эндометрия – гиперплазии и гипоплазии было показано, что при гиперплазии экспрессия Е-кадгерина снижается в четыре раза по сравнению с нормой, однако экспрессия SNAI1 и SNAI2 существенно не изменяется. При гипоплазии наблюдается увеличение в 1.5 раза экспрессии Е-кадгерина, но четкой корреляции с экспрессией генов семейства SNAIL не обнаружено. Таким образом, мы показали, что уровень экспрессии Е-кадгерина может служить диагностическим критерием метапластических изменений эндометрия, а белки семейства SNAIL представляют собой перспективную мишень для проведения таргетной терапии при гиперплазии и гипоплазии эндометрия.

КОСТНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ТЕЛ ШЕЙНЫХ ПОЗВОНКОВ ПОСЛЕ ПЕРЕДНЕГО СПОНДИЛОДЕЗА ИМПЛАНТАТАМИ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА

Кедров А.В., Киселев А.М., Биктимиров Р.Г.

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт, Москва, Россия
Москва, Щепкина 61/2, +7 (495) 631-73-95, ravilbik@mail.ru

Исследовались процессы костной регенерации имплантатов на основе гидроксиапатита в сравнении с консервированной аллокостью.

Материалы и методы. В 2008–2013 гг. прооперировано 66 больных в возрасте 22–53 лет с травмой и остеохондрозом шейного отдела позвоночника. Применяли консервированную аллокость свода черепа (18), синтетические имплантаты БАК-1000 (33) и БКС (15). БКС отличался по составу от БАК-1000 наличием в структуре 5% α-ТКФ для ускорения его резорбция. Изучены 3 группы больных. Уровни фиксации CII-ThI. Сроки костной регенерации и сращения с имплантатами оценивали по рентгенологическим признакам: исчезновение щели между имплантатом и костной тканью, отсутствие четких границ у самого импланта.

Результаты. Сращение зафиксировано во всех случаях в сроки 2–2,8 месяца. На МРТ 1–3 месяца имплантат был «невидим», в зоне операции – «пустое пространство» с четкими контурами. В 6–12 месяцев в месте установки имплантатов – вкрапления костной плотности (П), свидетельствующие о срастании и колонизации костными клетками. На РКТ отмечается меняющаяся П имплантата и окружающей костной ткани. При начальной П 139Н (единицы Хаунсфилда), отмечено постепенное увеличение средних величин П имплантов (831Н, 847Н и 872Н) и уменьшение П кости рядом с имплантами (542,551 и 441) и в смежных позвонках (427,402 и 368Н). П кортикальной кости оставалась практически неизменной (951,1013 и 977Н). У 3-х пациентов («БКС») были произведены реоперации с заменой БКС.

Выводы. Импланты «БАК-1000» и «БКС» могут заменить ауто и аллокость, срастаясь с костным ложем в сроки 2–2,8 месяца. Костная регенерация осуществляется за счет костных клеток материнского ложа и губчатого вещества соседних тел позвонков с некоторым уменьшением их плотности. Наличие α-ТКФ в материале «БКС» неоднозначно сказывается на окружающей костной ткани и прочности самого материала в отдаленной перспективе, снижая опороспособность оперированного сегмента.

ПОЗДНЕСРОЧНЫЕ РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В НАДПОЧЕЧНИКЕ КРЫСЫ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ЛАЗЕРНОЙ ДЕСТРУКЦИИ

Кемоклидзе К.Г., Александров Ю.К., Дворников М.В., Тюмина Н.А.

ГБОУ ВПО «ЯГМА Минздрава РФ», Ярославль, Россия, ул. Революционная, 5,
тел. +7 (4852) 25-86-04, k_g_k@mail.ru

Актуальность. В настоящее время наиболее перспективным методом локальной деструкции ткани в патологическом очаге, в том числе и надпочечника (НП), является воздействие лазером. При этом реакция НП на лазерное повреждение и характер восстановительных процессов после него, особенно в отдалённые сроки, остаются малоизученными.

Цель исследования: изучить гистологическую картину НП спустя 21,28 и 56 суток после воздействия лазерным излучением в хирургическом диапазоне (1020 нм).

Материалы и методы. Исследованы НП 18 взрослых лабораторных крыс-самцов линии Wistar массой 354,4±18,5 г на 21,28 и 56 сутки (6 животных на срок) после частичной деструкция НП с помощью диодного лазерного аппарата «Лами» (суммарная энергия воздействия 71,25 Дж) под хлороформным наркозом. Контролем послужили НП 5 интактных крыс той же массы и возрастной группы.

Результаты и выводы. В указанный период в пораженной части органа наблюдается формирование рубцовой ткани, продолжительная обильная фагоцитарная реакция с участием многоядерных гигантских клеток инородных тел и инкапсуляция нерезорбированных фрагментов лазерного струпа. Поражённая часть НП подвергается контракции. С 28 суток и до конца наблюдения (56 суток) среди фагоцитов доминируют гигантские многоядерные клетки инородных тел. Выжившая часть НП не демонстрирует гипертрофии. В случае выживания хотя бы 1/3 паренхимы её морфофункциональное состояние в неповреждённой части соответствует нормальному, при более обширном поражении выжившие эндокриноциты деградируют, а НП превращается в соединительнотканный узел.

Продолжительная обильная фагоцитарная активность в поражённой части органа предположительно связана с наличием в струпе значительного объёма медленно распадающихся комплексов органических веществ с промежуточной степенью структурной редукции между быстро резорбирующимися коагулировавшими массами и нерезорбируемым углём.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ОСТЕОГЕНЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОСТНО-ПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА «КОСТМА»

Кирилова И.А., Подорожная В.Т.

ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, Новосибирск, Россия
г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, тел. +7 (383) 363-31-31
доб. 1351, IKirilova@niito.ru

В настоящее время возрос интерес к разработке новых отечественных материалов на основе аллогенных тканей, к ним относится композиционный костно-пластический материал (ККПМ) «Костма».

Цель исследования: изучение в эксперименте эффективности ККПМ «Костма». Методы исследования: экспериментальный, рентгенологический и морфологический. В эксперименте на 12 половозрелых крысах-самцах (n=12) по линии нижнего резца челюсти сформирован сквозной дефект круглой формы диаметром до 2 мм. В первой серии изучали процессы остеогенеза в экспериментальных костных дефектах (ЭКД) без заполнения последних ККПМ. Во второй серии при заполнении ЭКД новым ККПМ «Костма». Сроки наблюдения 14, 30 и 90 суток Процесс остеогенеза изучали на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону.

Результаты. В первой серии через 14 суток костный регенерат остеоидного типа губчатого строения по периферии дефекта. В центральных отделах остеогенез не отмечен. Через 90 суток остеогенез выражен от периферии к центру дефекта, регенерат губчатого строения, остеоидного типа, местами отделен от материнского ложа, местами переходит непосредственно в кость челюсти. В межбалочных промежутках кровеносные сосуды капиллярного типа и красный костный мозг. Во второй серии через 14 дней определяются множественные лакуны с костными безостеоцитными фрагментами, различающимися по форме и величине, резорбирующиеся остеокластами. Местами остеобласты проникают во фрагменты ККПМ, образуя остеоид. Через 90 суток определяются множественные лакуны с остаточными фрагментами ККПМ, который не полностью резорбирован к данному сроку наблюдения. Между лакунами тяжи соединительной ткани. С периферии костного дефекта новообразованная костная ткань пластинчатого строения.

Таким образом, при имплантации в дефект нижней челюсти ККПМ «Костма» на всех сроках наблюдения отмечен процесс остеокластической резорбции и остеобластического остеогенеза на основе имплантата от периферии к центру. Учитывая данные, полученные в эксперименте можно предположить, что костно-пластический материал «Костма» является биоактивным костно-пластическим материалом. Поскольку на морфопрепаратах на все сроки наблюдения наблюдается формирование новообразованной костной ткани и отсутствие фиброзной капсулы вокруг имплантата.

ЭФФЕКТ МОДИФИКАЦИИ БИОПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОЧНЫХ МАТРИЦ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ РОСТА КЛЕТОК IN VITRO

Кирошка Е.В.[1], Юрчук Т.А.[1], Бондаренко Т.П.[1], Чуб Н.Н.[1], Петрова В.А.[2], Черняков Д.Д.[2], Скорик Ю.А.[2]

1 – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины 61015, г. Харьков, ул. Переяславская, 23
2 – Институт высокомолекулярных соединений РАН, 199004 Санкт-Петербург, Большой пр. ВО, 31
e-mails: vvkiroshka@mail.ru, yury_skorik@mail.ru

В настоящее время интенсивное развитие одной из основных областей биотехнологии – тканевой инженерии – требует разработки новых материалов, которые могут служить внеклеточными матрицами для культивирования различных типов клеток. Наиболее широкое использование для создания биодеградируемых двухмерных полимерных матриц нашли синтетические полимеры – полилактиды, полиоксиалканоаты и природные полимеры – хитин, хитозан, коллаген. Биополимерные внеклеточные матрицы (БВМ) создают микроокружение, которое является одним из ключевых факторов, определяющим адгезивные характеристики клеток, скорость их пролиферации и направленность дифференциации.

Цель данной работы – исследовать характер адгезии клеток, морфологию при их распластывании и динамику пролиферации перевиваемой культуры эпителиоподобных клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ) в условиях культивирования на БВМ хитозана (БВМ-1) и его композитов с нановолокнами хитина (БВМ-2) и коллагеном (БВМ-3).

Методы. Адгезию клеток изучали стандартным методом подсчета количества неприкрепившихся клеток к субстрату через 24 часа после посева клеток. Характер морфологии клеток при распластывании оценивали микроскопически на 1 и 3 сутки культивирования. Скорость пролиферации культуры определяли как отношение количества клеток, снятых через 1, 3 и 5 суток культивирования, к количеству посеянных.

Результаты. Показано, что индекс адгезии клеток на БВМ-1 и БВМ-2 составлял 74,2 и 62,5%, что достоверно не отличается от такового показателя при культивировании на пластике (76,2%). При этом характер морфологии качественно отличался в зависимости от физико-химической структуры БВМ. Так, при культивировании на пластике образовывались клетки веретеновидной формы, тогда как при использовании БВМ-1 и БВМ-2 клетки имели округлую, сферическую форму, которая впоследствии приводила к образованию пространственных трехмерных структур, состоящих из плотно организованных конгломератов клеток. Следует отметить, что динамика пролиферации культуры клеток на пластике и на БВМ-2 была сопоставима между собой, тогда как скорость роста клеток на БВМ-1 снижалась в 2 раза. Использование БВМ-3 приводило к снижению индекса адгезии до 5%, в этом случае наблюдалось уменьшение размеров клеток, их внутриклеточная визикуляция и гибель на 3-и сутки культивирования.

Таким образом, физико-химическая модификация структуры поверхности БВМ определяет характер адгезии, морфологию клеток при распластывании и динамику их пролиферации в условиях культивирования на БМП на основе хитозана и его композитов с нановолокнами хитина и коллагеном. При этом культивирование клеток на БВМ-1 и БВМ-2 приводит к образованию клеток округлой формы и формированию пространственных 3D-структур, что качественно отличается от типичного монослоя при культивировании на пластике.

ПОЛУЧЕНИЕ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ИЗ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРОЛИКОВ

Кирсанова Л.А., Баранова Н.В., Бубенцова Г.Н., Скалецкий Н.Н.

ФГБУ «ФНЦТИО им. ак. В.И.Шумакова», Москва, Россия
Москва, ул. Щукинская, 1. Тел. +7 (499) 190-42-66. Skalink@mail.ru

Актуальность. Применение интрапортальной аллотрансплантации островков поджелудочной железы при лечении тяжелых форм сахарного диабета 1 типа позволяет добиться инсулинонезависимости у 50–60% реципиентов в течение 1 года при обеспечении идеального глюкозного метаболизма. Однако широкое применение указанного трансплантационного метода невозможно из-за острого дефицита доноров, которыми оказываются чаще всего люди, погибшие от черепно-мозговой травмы. Поэтому актуальным является получение дополнительного количества островковых клеток поджелудочной железы из их предшественников – прогениторных клеток.

Цель исследования – получение прогениторных клеток из поджелудочной железы новорожденных кроликов как доступной и перспективной экспериментальной модели.

Материалы и методы. Поджелудочную железы 1–2 дневных кроликов обрабатывали по оригинальной методике (Скалецкий и др., 1994). Полученные панкреатические микрофрагменты культивировали в среде 199 с эмбриональной телячьей сывороткой. На определенных сроках инкубации (10, 15 дней) образцы культивируемого материала исследовали с использованием гистологических и иммунофлуоресцентного методов с окрашиванием на инсулин, глюкагон, цитокератины 18 и 19. Результаты. Иммуногистохимический анализ показал, что свыше 90% клеток, формирующих однослойную культуру, интенсивно окрашивались антителами к цитокератину 18, что характерно для эпителия энтодермального происхождения. Кроме того, эти клетки активно экспрессировали специфический маркер протокового эпителия – цитокератин 19. При этом негативная реакция на инсулин и глюкагон свидетельствовала об отсутствии дифференцировки прогениторных клеток в островковые клетки на данном сроке культивирования. Заключение. Поджелудочная железа новорожденных кроликов может служить подходящей экспериментальной моделью для получения прогениторных клеток и изучения их способности дифференцироваться в островковые клетки in vitro и in vivo.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИММЕНЕНИЯ СВЕТА ВИДИМОГО СПЕКТРА В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Кирьянова В.В., Емельянов А.Н., Гузалов П.И.

СЗГМУ им. И. И. Мечникова, каф Физиотерапии и медицинской реабилитации, Россия, Санкт-Петербург, 191015, ул. Кирочная, д. 41, тел. +7 (964) 327-39-60, EAN-6868@vail.ru

Как дополнительный высокоэффективный физиологический стимулятор на всех необходимых уровнях лечения стволовыми клетками (СК) хорошо показало себя облучение электромагнитным полем видимого и инфракрасного диапазонов. Существует некоторое количество обзоров, обобщающих эффекты воздействия светом на клетки в красной и ближней инфракрасной областях. На основе этих обзоров авторами составлены общие рекомендации для получения положительного влияния красного и инфракрасного света на пролиферацию: 1. клеточная культура – в области 20% конфлюентности; 2. желательно на время облучения заменить питательную среду на фосфатный буфер; 3. облучение желательно выполнять в темноте; 4. плотность энергии – от 0,05 до 10 Дж/см2 в зависимости от типа клеток (пик пролиферативного эффекта наблюдался в области плотностей энергии от 0,5 до 4 Дж/см^2 при длинах волн от 600 до 700 нм); 5. клетки должны находиться в относительно неактивном состоянии либо функционально, либо по причине неблагоприятных условий, например, при голодании, при культивировании с повышенным количеством глюкозы, в клеточной модели раны или будучи взяты от больных пациентов; 6. очень часто сам по себе свет не вызывает никаких клеточных реакций, но при добавлении тех или иных стимуляторов (например, ЭФР) значительно усиливает их эффект, а также снижает эффект ингибиторов роста. По мнению экспертов коммерческих компаний, занимающихся производством и продажей клеточных продуктов, применение светотерапии в области регенеративной медицины (РМ) – очень перспективно. Например, эксперты компании «Entest Bio» в своём программном обзоре, посвящённом лечению СК дегенеративных заболеваний лёгких, выделили следующие причины использования света в РМ, привлекшие их коммерческое внимание: 1. простой, физиологичный, неинвазивный, тканеспецифичный и дешёвый способ воздействия на СК; 2. способствует приращению регенеративного потенциала СК; 3. способствует концентрации СК в пораженной области (хоумингу); 4. может модулировать активность СК, пришедших в поражённую область; 5. может быть использован вместе с другими агентами для модуляции активности СК in vitro и эндогенных СК пациента.

ПРИНЦИПЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ И ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ НЕСРОСШИХСЯ ПЕРЕЛОМОВ ЗУБОВИДНОГО ОТРОСТКА С2 ПОЗВОНКА

Киселев А.М., Киселев А.А., Михневич Ю.С.

МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.
Москва, ул. Щепкина 61/2, +7 (495) 631-73-95; kiselevam@inbox.ru

Актуальность. Несросшиеся переломы и ложные суставы зубовидного отростка аксиса являются частым осложнением травмы С-2 позвонка, особенно при переломе II типа по классификации Anderson и D'Alonzo.

Цель работы: оптимизация хирургического лечения несросшихся переломов зубовидного отростка аксиса в соответствие с процессами репаративной регенерации костной ткани.

Материал и Методы: проведено хирургическое лечение 12 пациентов с застарелыми переломами зубовидного отростка аксиса и образованием в нем ложного сустава. Диагноз обосновывался клиническими данными и дополнительными методами исследования (рентгенография, функциональная спондилография, РКТ и МРТ краниовертебральной области с 3D реконструкцией) Оценка неврологических нарушений производилась по классификации ASIA/IMSOP. Абсолютным показанием к хирургическому лечению явилось наличие несросшегося перелома и ложного сустава зубовидного отростка аксиса. Стимуляции процессов репаративного остеогенеза, ликвидации ложного сустава достигалось остеосинтезом застарелого перелома канюлированным винтом.Оперативное вмешательство состояло их двух этапов. Первым этапом проводился модифицированный окципитоспондилодез по авторской методике, вторым этапом, посредством переднего доступа, проводился остеосинтез зубовидного отростка компрессионным канюлированным винтом для фиксации перелома, разрушения ложного сустава и создания возможностей для остеогенеза между отломками.

Результаты: во всех случаях хирургического лечения нами были достигнуты хорошие результаты, с образованием костного блока в области перелома зубовидного отростка. Инфекционных осложнений или осложнений со стороны металлоконструкций нами не наблюдалось.

Выводы: несросшийся перелом и ложный сустав зубовидного отростка аксиса является абсолютным показанием к операции. Хирургическое лечение состоит из фиксации и иммобилизации краниовертебральной области во всех плоскостях движений посредством окципитоспондилодеза, и остеосинтеза зубовидного отростка канюлированным винтом для создания условий остеогенеза между отломками зубовидного отростка.

ПОДХОДЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ ОРГАНОВ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Киселева Е.В.[1], Батухтина Е.В.[2], Кунакова Т.А.[3], Терских В.В.[1]

1 – ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, idbras@bk.ru, Москва, ул. Вавилова, д. 26, +7 (499) 135-40-81
2 – ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России; Москва, ул. Живописная, д. 46
3 – ФГБУ «МНИИ Глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19

Проблема хирургической реабилитации пациентов с врожденными или приобретенными дефектами органов головы и шеи остается актуальной до настоящего времени не смотря на широкий спектр способов восстановления хрящевой ткани (пластика местными тканями, применение имплантатов и эспандеров, протезов, ауто- и аллодермотрансплантатов, биополимеров, металлов и их сплавов и т.д.). Использование аутологичного хряща позволяет укрепить бельмо роговицы перед этапом кератопротезирования.

Цель работы: разработать эквивалент хрящевой ткани и на экспериментальной модели ожога роговицы и дефекта хрящевой ткани ушной раковины кролика исследовать его поведение при трансплантации в область дефекта.

Материалы и методы. В работе использовали культуры аутологичных хондроцитов кролика. Тканевые эквиваленты разработаны в 2-х вариантах: хондроциты, заключенные в коллагеновый гель и хрящевой эквивалент без подложки. На 90 сутки после химического ожога в бельмо роговицы трансплантировали хрящевой эквивалент на основе коллагенового геля, гистологический анализ проводили через 16 недель. В дефект хрящевой ткани ушной раковины трансплантировали хрящевой эквивалент без подложки, гистологический и иммуногистохимический анализ проводили через 8 и 12 недель.

Результаты. Показано приживление трансплантата, как в области дефекта хрящевой ткани, так и в роговице кролика. С помощью иммуногистохимического анализа показана экспрессия специфических маркеров хрящевой ткани (коллагена II типа, хрящевого протеогликана, аггрекана) в разработанных эквивалентах как в условиях in vitro, так и в условиях in vivo после трансплантации.

Таким образом, доказано гистотипическое соответствие разработанных конструкций с хрящевой тканью. На экспериментальных моделях доказана способность разработанных эквивалентов сохранять жизнеспособность и встраиваться в структуру тканей реципиента.

Работа поддержана грантом РФФИ №13–04–12052.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДОЛГОСРОЧНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ И СТАНДАРТНОЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

Князев О.В.[1], Парфенов А.И.[1], Ручкина И.Н.[1], Лазебник Л.Б.[2], Коноплянников А.Г.[3]

1 – ГБУЗ «Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии Департамента здравоохранения Москвы»; Москва, Москва, Шоссе Энтузиастов, д. 86, +7 (495) 304-30-78, oleg7@bk.ru
2 – Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова
3 – Медицинский радиологический научный центр МЗиСР, г. Обнинск

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) в настоящее время широко используются в клинических исследованиях при различных заболеваниях, оказывая свой позитивный эффект за счет иммуномодулирующих и паракринных механизмов. Однако профиль безопасности этих клеток остается недоказанным.

Цель: сравнить безопасность терапии язвенного колита у больных, получавших комплексную противовоспалительную терапию с применением МСК и стандартную терапию препаратами 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК) и глюкокориткостероидами (ГКС).

Материалы и методы. В период с 2008 по 2013 г.г. системная трансплантация аллогенных МСК осуществлена 74 больным ЯК. В первую группу включены 56 пациентов, среднее время наблюдения за которыми составило в среднем 62±4 месяца. Из них 29 (51,78%) мужчин и 27 (48,22%) женщин. Средний возраст составил 35,4±1,42 лет. Во вторую, контрольную группу включили 84 больных ЯК, которые получали стандартную противовоспалительную терапию препаратами 5-АСК и ГКС. Из них 46 (54,8%) мужчин и 38 (45,2%) женщин. Средний возраст – 34,98±1,23 лет.

В данную группу не включали больных, которые получали антицитокиновую терапию.

Безопасность проводимой терапии оценивалась по наличию осложнений, возникших за время наблюдения, таких как инфекционные осложнения, обострение хронических воспалительных заболеваний, серьезные инфекционные осложнения, злокачественная трансформация, летальный исход.

Результаты. В первой группе больных ЯК развитие нетяжелых инфекционных осложнений или обострение хронических воспалительных заболеваний было зарегистрировано у 7 больных из 56, что составило 12,5%, во второй – у 14 (16,7%) пациентов из 84. При сравнении двух групп не было выявлено различий в риске развития инфекционных осложнений и обострения хронических воспалительных заболеваний на фоне проведения стандартной противовоспалительной терапии ЯК и с введением МСК (ОР-0,75,95%ДИ 1.5–23.58; x2–0,16; p=0.66). Тяжелые инфекционные осложнения (пневмония, плеврит, активация латентного туберкулеза) в первой группе выявлены у 1 больного (1,8%) из 56,

во второй у 5 (5,9%) из 84. При сравнении двух групп также не было выявлено различий в риске данного типа осложнений (ОР-0,3; 95%ДИ 0.04–2.5; x2–0,59; p=0.44). Развитие колоректального рака было зарегистрировано только у одной больной из первой группы (1,8%). Время между введением МСК и диагностированным раком толстой кишки составило 10 дней. Во второй группе больных за 5 лет наблюдения злокачественная трансформация отмечена у 4 (4,8%) пациентов из 84 (ОР-0,5, 95%ДИ 0.05–4.96; x2–0,01; p=0.97). За 5 лет наблюдения в первой и во второй группах больных было зарегистрировано по одному летальному случаю, что составило 1,8% и 1,2% соответственно (ОР-1,5; 95%ДИ 0.1–23.49; x2–0,19; p=0.66).

Вывод. Проведенный анализ не выявил различий в развитии инфекционных осложнений, обострении хронических воспалительных заболеваний, серьезных инфекционных осложнений, злокачественной трансформации и смертельных случаев у больных ЯК, которые получали МСК в сравнении со стандартной противовоспалительной терапией.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ С РЕФРАКТЕРНЫМИ ФОРМАМИ БОЛЕЗНИ КРОНА – 5 ЛЕТ НАБЛЮДЕНИЯ

Князев О.В.[1], Щербаков П.Л.[1], Парфенов А.И.[1], Ручкина И.Н.[1], Коноплянников А.Г.[2], Лазебник Л.Б.[3]

1 – ГБУЗ «Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии Департамента здравоохранения Москвы», Москва, РФ;
2 – Медицинский радиологический научный центр МЗиСР, Обнинск, РФ;
3 – Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва, РФ.
Москва, Шоссе Энтузиастов, д. 86, +7 (495) 304-30-78, oleg7@bk.ru

Частота обострений болезни Крона (БК) составляет примерно 20–25% за 1 год и 75% за 3 года. У больных с локализацией процесса в тонкой кишке обострение наблюдается более часто, чем при толстокишечной локализации. Если ремиссия продолжалась меньше 12 мес, то имеется 65% вероятность, что обострение наступит в последующие 18 мес. При продолжительности ремиссии в течение 12 мес и более вероятность возникновения обострения в ближайшие 18 мес снижается до 20%.

Цель: оценить влияние культуры аллогенных мезенхимальных стромальных клеток (МСК) костного мозга на продолжительность ремиссии у больных с рефрактерной формой БК.

Материалы и методы. Первая группа больных БК (n=30) получала МСК, доза преднизолона составляла не более 20 мг/сут. Вторая группа больных (n=30) получала стандартную противовоспалительную терапию препаратами 5-аминосалициловой кислоты

(5-АСК) и глюкокортикостероидами (ГКС). Возраст больных составил от 19 до 49 лет (Me-36 лет). Время наблюдения составило от 42 до 60 месяцев. Клиническая активность БК оценивалась по индексу Беста (ИАБК). Культуру аллогенных МСК вводили капельно в дозе 2,5 млн. на 1 кг массы тела по схеме 0–1–2–6 недель.

Результаты. Исходный ИАБК в 1-й группе составил 242,6±11,7 баллов, во 2-й 240,9±12,9 баллов (p=0,83), уровень СРБ в 1-й группе составил 29,3±6,4 мг/л, во второй – 27,8±4,8 (p=0,47). Через 1 год наблюдения ИАБК в 1-й группе составил 70,0±11,0 баллов, во 2-й – 133,8±22,2 балла (p<0,001), уровень СРБ в 1-й группе составил 6,36±1,5 мг/л, во второй – 12,2±2,9 (p<0,001). Через 2 года индекс Беста в 1-й группе составил 99,6±19,3 баллов, во 2-й – 147,1±22,1 балла (p<0,001), уровень СРБ в 1-й группе составил 16,0±6,0 мг/л, во второй – 18,8±4,4 (p=0,156). Через 3 года ИАБК в 1-й группе составил 110,5±21,9 баллов, во 2-й – 180,6±20,3 балла (p<0,001), уровень СРБ в 1-й группе составил 10,9±2,6 мг/л, во второй – 16,9±3,0 (p<0,001). Через 4 года – ИАБК в 1-й группе составил 120,0±22,3 баллов, во 2-й – 208,7±17,6 балла (p<0,001), уровень СРБ в 1-й группе составил 11,3±2,6 мг/л, во второй – 15,5±2,4 (p<0,001). Через 5 лет – ИАБК в 1-й группе составил 126,0±23,8 баллов, во 2-й – 248,7±14,6 балла (p<0,001), уровень СРБ в 1-й группе составил 12,3±2,8 мг/л, во второй – 19,5±3,1 (p<0,001). В первой группе больных ремиссия через 1,2, 3,4 года и 5 лет сохранялась у 70%, 56,6%, 50%, 46,7% и 33,3% больных соответственно. Во второй группе больных через 1,2, 3,4 года и 5 лет ремиссия сохранялась у 36,6%, 26,6%, 13,3%, 6,67% и 6,67% больных соответственно. Полное заживление слизистой оболочки кишки у 60% больных в первой группе в течение 1-го года наблюдения наблюдалось и у 13,3 % – через 5 лет. За весь период наблюдения ни в одном случае не было выявлено злокачественной трансформации, угрожающих жизни инфекционных осложнений и летального исхода, связанных непосредственно с введением МСК.

Выводы. Трансплантация МСК способствует поддержанию более длительной клинической и эндоскопической ремиссии у больных с рефрактерной формой болезни Крона по сравнению со стандартной терапией ГКС и/или препаратами 5-АСК.

РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ КОЖИ НА ОСНОВЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОЙ ВОДНОЙ СРЕДЫ

Ковалев А.В., Омельяненко Н.П.

ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова», Минздрав РФ, Москва, Россия
Москва, ул. Приорова, 10, тел. +7 (495) 450-42-31, omel156@yandex.ru

Актуальность. Для восстановления кожи при полнослойном дефекте, применяют различные тканеинженерные конструкции (ТИК), в том числе насыщенные клеточными элементами эпителиального и соединительнотканного дифферонов. Однако полноценного структурно-функционального восстановления поврежденного кожного покрова получить до настоящего времени не удалось. Очевидно, что использование только имплантата

не достаточно. В связи с этим, предложен комплексный метод восстановления кожи на месте полнослойного раневого дефекта, предусматривающий использование клеточно-матриксной тканеинженерной конструкции и обеспечивающий нахождение всего участка поврежденного кожного покрова вместе с имплантатом в условиях адекватной водной среды на протяжении всего периода заживления раны.

Материалы и методы. У лабораторных крыс на спине наносился полнослойный дефект кожи диаметром 1 см. 1 контрольная группа – после травмы воздействиям не подвергалась. Во 2-й опытной – рана покрывалась специальным куполом, под которым сменяемая жидкая питательная среда F-12 (ЖС) постоянно окружала рану. В 3-й группе в рану устанавливалась ТИК (матрица из аллогенной ацеллюлярной дермы, частично заполненная фибрином) и инфильтрированная суспензией аутологичных фибробластов, на 2 сут на поверхность пересаживались аутологичные кератиноциты. В 4-й опытной группе, в отличие от 3-й, рана дополнительно покрывалась куполом со сменяемой ЖС. Выведение животных из эксперимента осуществлялось через 3, 5, 14 дней и через 2 месяца. Регенераты кожи иссекались и с ними проводилось гистологическое исследование.

Результаты. Регенерат кожного типа, заполняющий весь дефект на месте ТИК, интегрированный с неизмененной кожей и существенно отличающийся от рубца и приближающийся к тканеспецифичной структуре формируется только во 4-й опытной группе. В контроле (1 группа) и в 3-й опытной группе кожные регенераты соответствуют по структуре рубцу. Во 2-й группе не полностью восстанавливается объем утраченных тканей.

Вывод. Сочетание условий адекватной водной среды вокруг раны с клеточно-матриксным имплантатом открывает новую возможность влиять на процесс посттравматической регенерации кожного покрова, что приводит к формированию тканеспецифичного регенерата кожного типа.

ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ СЕМЕЙНОГО АДЕНОМАТОЗА ТОЛСТОЙ КИШКИ

Коган Е.А., Вышегородцев Д.В., Файзуллина Н.М., Демура Т.А., Кузьминов А.М., Шелыгин Ю.А., Сухих Г.Т.

ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии МЗ РФ», Москва, ул. Саляма Адиля, 2.
e-mail: vyshegorodtsev@mail.ru. ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ». Москва, ул. Академика Опарина, 4

Актуальность. Семейный аденоматоз толстой кишки (САТК) является наследственным заболеванием и характеризуется поражением толстой кишки множеством полипов с неизбежным развитием рака в случае отсутствия своевременного хирургического лечения, которое предусматривает удаление всей толстой кишки.

Цель. Улучшение результатов лечения САТК.

Материалы и методы. Использован новый метод хирургического лечения САТК, при котором сохраняется нижнеампулярный отдел прямой кишки, лишенный слизистой оболочки. С целью формирования реконструированной слизистой оболочки в демукозированную прямую кишку осуществляется введение аллогенного клеточного материала. Хирургические вмешательства по поводу САТК с использованием клеточных биотехнологий выполнены 44 пациентам в возрасте от 17 лет до 51 года.

Результаты. Послеоперационные осложнения развились у 4 (9,1%) пациентов. У 77,3% пациентов в течение 4–6 недель после операции отмечено формирование реконструированной слизистой оболочки прямой кишки. Морфологические и иммуногистохимические исследования показали, что репарация слизистой прямой кишки после мукозэктомии происходит на более ранних сроках при ведении аллотрансплантата из эмбриональных клеток по сравнению с контрольной группой. Репарация слизистой оболочки прямой кишки происходит при участии клеток с признаками стволовости и включает развитие механизмов мезенхимально-эпителиального перехода. У всех пациентов при морфологических исследованиях участков дисплазии эпителия не обнаружено. Роста полипов в сохраненной части прямой кишки не отмечено при наблюдении от 5месяцев до 7 лет.
Выводы. Предложенный метод лечения может быть использован при САТК, поскольку отодвигает развитие полипов и рака прямой кишки на многие годы.

ЭКСПРЕССИЯ ACA, TRA-1–81 И CD117 В «ЗОНАХ РОСТА» ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ ОПУХОЛЕЙ МАТКИ

Коган Е.А.[1], Демура Т.А.[1], Файзуллина Н.М.[1], Беккер-Коич З.[2], Сухих Г.Т.[1]

1 – ФГБУ НЦАГиП им. В.И. Кулакова Минздрава РФ, Москва, Россия
Москва, ул. Академика Опарина, 4, тел. +7 (495) 438-23-11,
e-mail: koganevg@gmail.com
2 – ACA CELL Biotech, Heidelberg, Germany

Актуальность. Рост гладкомышечных опухолей матки – лейомиом (ЛММ) бывает непредсказуемым и может не коррелировать ни с морфологическими, ни с клиническими признаками. До сих пор нет единого мнения об источнике роста ЛММ, обсуждается роль биомаркеров ACA, TRA-1–81 и CD117-положительных клеток (телоцитов) в прогрессии ЛММ. ACA играет важную роль в процессах регуляции и самообновления клеток человека и, вероятно, запускает сигнальный путь PI3K-Akt-mTOR, участвующий в росте лейомиом (ЛММ).

Целью исследования было выявление « зон роста» ЛММ и изучение особенностей экспрессии и внутриклеточной локализации ACA, TRA-1–81 и CD117 в них.

Материалы и методы. Исследование выполнено на операционном материале от 31 пациентки с ЛММ матки. Средний возраст женщин с ЛММ – 34 года. Использовались

гистологические, иммуногистохимические методы и иммунофлуоресцентная микроскопия. Применялись первичные антитела ACA, разработанные в Institute of Immunology, Department of Transplantation Immunology, University of Heidelberg, Otto Meyerhof Centre, Terness Laboratory Heidelberg, Germany, патент № EP 1745126 A1), а также антитела к TRA-1–81, SMA, CD117 и Ki- 67 (Dako Cytomation) и к рецепторам стероидных гормонов PR и ER (Dako Cytomatione).

Результаты. Обнаружена экспрессия ACA и CD117 в клетках периваскулярных «зон роста» ЛММ и в единичных клетках сохранного миометрия. Уровень внутриклеточной экспрессии ACA колебался в разных типах опухолей и был минимальным в сохранном миометрии и максимальным в ЛММ. Кроме того, в простой и клеточной ЛММ и миометрии отмечалась мембранная локализация белка в клетках, а в «зонах роста» митотически активной ЛММ – продукт реакции в основном выявлялся в цитоплазме опухолевых клеток.

Выводы. В «зонах роста» ЛММ установлено наличие CD117 -положительных телоцитов и дисрегуляция ACA, что проявляется в повышении его экспрессии, в потере его связи с цитоплазматической мембраной, что приводит к дислокации в цитоплазму, ядра опухолевых клеток и потенцирует пролиферативную активность опухолевых клеток.

ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СФЕРОИДНЫЕ СТРУКТУРЫ В РЕПАРАЦИИ СЛИЗИСТОЙ ШЕЙКИ МАТКИ: ИССЛЕДОВАНИЕ IN VIVO

Коган Е. А., Файзуллина Н. М., Демура Т.А., Сухих Г.Т.

ФГБУ «Научный центр акушерства гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия
Москва, ул. Академика Опарина, 4, тел. +7 (495) 438-23-11,
e-mail:koganevg@gmail.com

Актульность. Репарация эпителия слизистой шейки матки играет ведущую роль в патологии шейки матки, вызванной ВПЧ. Сфероидные клеточные структуры (СКС) описаны в клеточных культурах и используются для изучения межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий. В то же время участие СКС в репарации в условиях in vivo остается неизученным.

Целью исследования явилось изучение морфологических особенностей и клеточных трансформаций при репарации слизистой шейки матки в условиях хронического воспаления, вызванного ВПЧ.

Материалы и методы. На цитологическом и биопсийном материале от 223 пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с ВПЧ (ВПЧХЦ), проведены молекулярное тестирование ВПЧ ДНК методом PCR-RT с генотипированием, CISH, иммуноцито- и иммуногистохимические исследования экспрессии маркеров p16INK4A, Ki67, SMA, Vimentin, CD34, E-cadherin, Oct4, CD44, CKW.

Результаты. В зоне ниши стволовых клеток обнаружены сфероидные структуры с пролиферативной активностью и признаками стволовости клеток их образующих, которые участвуют в репарации слизистой цервикального канала при ВПЧХЦ.

Выводы. Персистенция ВПЧ в клетках зоны ниши стволовых клеток шейки матки обуславливает хронизацию воспаления в этой зоне с возможностью патологической репарации. Иммунофенотип клеток сфероидных структур при ВПЧ-ассоциированном ХЦ включает клетки с признаками стволовости и мезенхимально-эпителиальной дифференцировки.

ОПЫТ ВЫДЕЛЕНИЯ И ДЛИТЕЛЬНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТРОФОБЛАСТОВ ТЕРМИНАЛЬНОЙ ПЛАЦЕНТЫ

Колокольцова Т.Д.[1,2], Нановская Т.В.[2], Ахмед М.С.[2], Сабурина И.Н.[1,4], Репин В.С.[1,4], Сухих Г.Т.[3]

1 – ФГБУ НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия
2 – Кафедра акушерства и перинатологии Медицинского отделения Техасского университета (UTMB), Галвестон, Техас, США
3 – ФГБУ НЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова МЗ РФ, Москва, Россия
4 – Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Россия

Культуры клеток плаценты человека рассматриваются как один из перспективных источников клеток для клеточной терапии. Кроме того, в последние годы большое значение культура трофобластов приобретает в качестве модели для изучения механизмов и контроля биохимии переноса или прохождения лекарственных препаратов через клеточный барьер плаценты. Из литературы известно, что популяция свежевыделенных трофобластных клеток термальной плаценты гетерогенна по составу, что подтверждается разницей их биохимических и морфологических свойств.

Целью настоящего исследования было создание метода выделения однородной популяции трофобластов человека и изучение их характеристик при длительном культивировании in vitro.

Материалы и методы. В работе использовали терминальную плаценту, полученную после кесарева сечения при нормальных родах с информированного согласия пациентов. Трофобласты выделяли из микроворсинок плаценты и высевали на чашки Петри в плотности 5×10^5 клеток/мл в питательной среде DMEM/F12 с добавлением 10% FBS и антибиотиков. Наблюдение за культурами осуществляли при помощи инвертированного микроскопа Olympus CKX41 (Япония). Экспрессию специфических маркеров контролировали методами проточной цитофлуориметрии, иммуноцитохимического и иммуногистохимического окрашивания моноклональными антителами к цитокератину 7(CK7), виментину, E-кадгерину, CD9, CD90 и CD45.

Результаты. В результате проведенных исследований был разработан новый метод выделения клеток из терминальной плаценты человека, позволяющий получать однородные мононуклеарные популяции трофобластных клеток, свободных от контаминации другими типами плацентарных клеток. Новым методом было выделено и охарактеризовано более 30 субпопуляций культур трофобластов, имеющих эпителиоподобную или веретеновидную морфологию и характерный "crazy pavement" тип роста на 1–3 пассажных уровнях. Иммуноцитохимический анализ культуры трофобластов на 1 и 2 пассажах показал высокий уровень экспрессии внутриклеточного цитокератина 7 (СК7) – маркера, специфичного для цитотрофобластов, а также Е-кадгерина – молекулы межклеточной адгезии, характерной для эпителиальных клеток. Трофобластная природа клеток подтверждена по экспресии СК7, Е-кадгерина и отсутствию маркеров CD9, CD45 и CD90.

Впервые показана возможность длительного культивирования клеток человека (более 15 пассажей), сохраняющих характеристики трофобластов (СК7+). Начиная с 3 пассажа клетки изменяли морфологию и были представлены, главным образом, длинными биполярными клетками с направленным поточным ростом, характерным для мезенхимных клеток. Полагаем, что изменение морфологии, характер роста, экспрессия СК7, а также коэкспрессия маркеров клеток мезенхимного ряда виментина и CD90, при отсутствии CD9 и CD45 свидетельствуют о состоянии эпителио-мезенхимного перехода культивированных трофобластов.

Заключение. Проведенные исследования подтвердили возможность выделения и длительного культивирования трофобластов человека. Морфология, характер роста клеток, а также коэкспрессия маркеров эпителиальных и мезенхимных клеток подтвердили эпителио-мезенхимную пластичность клеток. Охарактеризованные и криоконсервированные культуры трофобластных клеток могут быть использованы при создании продуктов для регенеративной медицины, а также служить моделью или инструментом для исследования дифференцировки и функций трофобластов in vitro.

МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНЫХ ТКАНЕЙ

Комлев В.С., Баринов С.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук (ИМЕТ РАН), 119991, г. Москва, Ленинский пр., 49
e-mail: komlev@mail.ru

Миллионы людей имеют функциональные нарушения, возникшие в результате патологических заболеваний костных тканей, таких как остеосаркома, остеомиелит, остеопороз, а также в результате травм и повреждений. В последние годы разработаны новые хирургические методы, которые позволяют спасти жизнь пациентам, но часто приводят

к расширенным послеоперационным дефектам, снижающим качество жизни. Возвращение к нормальной жизни и понижение сроков реабилитации больных после хирургических операций на костных тканях является важной и актуальной социальной проблемой. Решение ее во многом зависит от разработки материалов, предназначенных для замещения или регенерации костных тканей. Наилучшим решением проблемы могло бы стать использование синтетических наноструктурированных материалов, из которых наиболее перспективными представляются кальцийфосфатная керамика и композиты на ее основе.

В ИМЕТ РАН проведен цикл исследований, направленных на разработку материалов на основе фосфатов кальция, предназначенных для новых медицинских технологий восстановления костных тканей. Изучены особенности синтеза фосфатов кальция с заданными химическим и фазовым составами и морфологией частиц методами осаждения из водных растворов и механоактивируемого взаимодействия. В широком диапазоне температур изучена термическая стабильность синтезированных веществ; установлено влияние их состава и способа синтеза на термическую стабильность. Разработан широкий спектр керамических наноматериалов на основе фосфатов кальция, различающихся по химическому, фазовому составу и структуре. Созданы основы технологии пористых кальцийфосфатных керамических матриксов для тканевой инженерии, характеризующихся контролируемой скоростью биодеградации в организме человека и высокой биосовместимостью. Изучены фундаментальные проблемы формирования структуры и свойств керамики на основе фосфатов кальция при физиологических температурах с использованием принципа реакционного твердения в вяжущих системах (костные цементы). Установлена возможность достижения высокопрочного состояния реакционно-связанной керамики, регулирования в широких пределах ее пористости, химического и фазового состава, механических свойств, времени схватывания и твердения. Проведены исследования по созданию наноструктурированных керамических и композиционных материалов, особенно подобных по структуре и свойствам костной ткани, в том числе по разработке материалов на основе прекурсоров минерализации апатита в организме, которые могут обладать имманентной остеоиндуктивностью.

Работы проведены при финансовой поддержке
РФФИ №№ 12-03-33074, 12-03 00079, 12-03-00704 и 13-03-12021.

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЛЕЧЕНИЯ ТЯЖЕЛОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ (ХСН), КАК АЛЬТЕРНАТИВА ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Коненков В.И.[1,2], Повещенко О.В.[1,2], Караськов А.М.[2], Покушалов Е.А.[2]

1 – ФГБУ «НИИКЭЛ» СО РАМН, Новосибирск, Россия
2 – ФГБУ «ННИИПК им. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, Россия
630117, Новосибирск, ул.Тимакова, 2. Тел. +7 (383) 333-64-09, lymphology@soramn.ru

У значительной части пациентов, перенесших обширный инфаркт миокарда, развивается ХСН. Зачастую это патологическое состояние глубоко инвалидизирует человека и является торпидным к медикаментозной терапии. До сих пор единственным способом радикального лечения при этом является трансплантация сердца, по разным причинам редко проводимая в России. Альтернативным способом лечения тяжелой ХСН, на наш взгляд, является трансплантация собственных клеток предшественников, мобилизованных к выходу из костного мозга в периферическую кровь введением препаратов гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ).

Целью исследования является оценка результатов интрамиокардиального введения мононуклеаров (МНК) периферической крови после мобилизации Г-КСФ.

Методы. В клиническом исследовании приняло участие 77 пациентов ИБС с III–IV функциональным классом (ФК) хронической сердечной недостаточности (NYHA). Мобилизацию стволовых клеток проводили препаратом нейпоген, сепарированную кровь после мобилизации получали путем цитафереза на аппарате Hemanetics. Интрамиокардиальные инъекции осуществлялись под навигационным контролем системы NOGA XP в зоны гибернированного миокарда в количестве 3х107 МНК.

Результаты. Интрамиокардиальное введение МНК приводит к улучшению качества жизни, снижению класса стенокардии напряжения, ФК по NYHA более чем у 80% пациентов, толерантности к физической нагрузке, увеличению фракции выброса левого желудочка на 4,9%, улучшению перфузии миокарда в местах введения МНК, увеличивает двулетнюю выживаемость пациентов более чем в 3,5 раза по сравнению с изолированной медикаментозной терапией. Клеточный трансплантат содержит пул гемопоэтических и эндотелиальных прогениторных клеток, обладает секреторным потенциалом для стимуляции репаративных процессов.

Выводы. Аутологичная трансплантация мобилизованных прогениторных клеток периферической крови является высокоэффективным методом лечения ХСН.

РЕГЕНЕРАЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ФИБРОБЛАСТОВ В ПРИСУТСТВИИ МЕТАЛЛОКЕРАМРЧЕСКИХ И КЕРАМИЧЕСКИХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Кононенко В.И., Хубаев С.-С.З., Берсанов Р.У.

ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации ФМБА России», Москва, Россия
Москва, ул. Гамалеи, 15, тел. +7 (499) 196-48-75, olesova@bk.ru

Сравнение биосовместимости современных материалов зубных протезов обусловлено нарастанием токсико-аллергических реакций в ортопедической стоматологии, а также появлением новых конструкционных керамических материалов и технологий.

Цель исследования: в эксперименте сопоставить биосовместимость и влияние на ростовую активность фибробластов современных стоматологических конструкционных материалов.

Материалы и методы. Проведено экспериментальное исследование биосовместимости и влияния на ростовую активность клеток фибробластов человека (ФЭЧ) с использованием МТТ-теста после 48-часового пребывания в культуре клеток следующих конструкционных материалов: металлокерамика на фрезерованном или литом хромкобальтовом каркасе; прессованная керамика или керамика на оксидциркониевом каркасе.

Результаты. Коэффициент пролиферации клеток по оптической плотности клеточной культуры в опыте по биосовместимости (с учетом худшего результата из двух изучаемых сторон конструкционного образца) для металлокерамики на литом каркасе составлял 0,89, на фрезерованном 0,94, для керамики на оксидциркониевом каркасе 0,85, для прессованной керамики 0,82. В опыте по ростовой активности коэффициент пролиферации тех же материалов составлял 0,91, 1,00, 1,05, 0,83.

Современные конструкционные материалы для несъемного протезирования в клеточной культуре фибробластов человека проявляют разную степень биосовместимости и влияния на ростовую активность клеток; она более выражена у керамики на циркониевых или фрезерованных хромкобальтовых каркасах и менее – у керамики на литых хромкобальтовых каркасах и у прессованной керамики.

ВОЗМОЖНОСТИ И ПРЕРСПЕКТИВЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ФИЗИОТЕРАПИИ

Кончугова Т.В, Бобровницкий И.П., Орехова Э.М., Пузырева Г.А., Королев Ю.Н., Ильинская Г.В.

ФГБУ «Российский научный центр медицинской реабилитации и курортологии» Минздрава России, Москва, Россия
Москва, Борисоглебский переулок, д. 9, тел. +7 (495) 690-50-01, rncvmik@inbox.ru

К настоящему времени накоплены многочисленные данные, свидетельствующие об ускорении регенерации мышечной, нервной, костной, эпидермальной ткани под влиянием различных физических факторов: электромагнитных волн оптического (лазерного излучения), микроволнового диапазонов, ультразвуковых колебаний, магнитных полей. Можно считать доказанным, что физиотерапевтические воздействия способны изменять функциональную активность клеток, в том числе иммунокомпетентных и гемопоэтических. Эти факты, наряду с бурным развитием регенеративной медицины, обосновали необходимость выделения нового мультидисциплинарного раздела современной биомедицины – регенеративной физиотерапии, изучающей механизмы и эффективность применения различных физических факторов в целях восстановления поврежденных тканей с помощью активации эндогенных стволовых клеток или с помощью трансплантации клеток.

Имеющиеся к настоящему времени данные свидетельствуют о принципиальной возможности комплексного использования стволовых клеток и различных физических факторов с целью ускорения регенерации поврежденных тканей. Установлено, что низкоинтенсивные физиотерапевтические воздействия способны повлиять на скорость миграции, пролиферативную активность и дифференцировку стволовых клеток, увеличить количество эндогенных стволовых клеток, выделяемых костным мозгом в кровь, повысить физиологическую устойчивость и жизнеспособность стволовых клеток при их трансплантации. Таким образом, имеются веские основания для проведения междисциплинарных фундаментальных и клинических научных исследований в этом направлении, что позволит в полной мере использовать регенераторный потенциал физиотерапевтических методов.

ДОЛЯ ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ 1 ТИПА СРЕДИ БЕЛКОВ БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО СЕКРЕТА ОТРАЖАЕТ АКТИВНОСТЬ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЕГКИХ

Корецкая Н.А.[1], Ткачев Г.А.[2]

1 – ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, кафедра биохимии, Москва, Россия.
2 – ФГБУ РКНПК Минздрава, отдел нейрогуморальных и иммунологических исследований, Москва, Россия.
Москва, ул. 3-я Черепковская, д15 А, тел. +7 (495) 414-62-25, sonysony@inbox.ru

Более ¾ известных болезней легких связаны с тем или иным вариантом воспаления. При воспалении в легких повышается активность протеолитических ферментов, которым противостоят ингибиторы протеиназ. Усиление протеолиза может привести к эмфиземе легких. Но, к счастью, эмфизема не всегда является итогом легочной патологии. Поэтому актуален поиск маркеров, показывающих интенсивность деградации и перестройки межклеточного матрикса.

Цель: определить, отражает ли содержание в бронхоальвеолярном смыве тканевого ингибитора металлопротеиназ 1 типа (ТИМП1) и предшественника матриксной металлопротеиназы 1 (проММП1) различия в ремоделировании соединительной ткани.

Материалы и Методы: 18 пациентам с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) (11) и внебольничной пневмонией (7) проводили процедуру бронхоальвеолярного лаважа в 1-е и 10-е сутки стационара. Концентрацию проММП1 и ТИМП1 в бронхоальвеолярном смыве определяли иммуноферментным методом, концентрацию общего белка – методом Брэдфорд. Результаты представлены в виде «среднее ± среднеквадратичное отклонение»:

Группа	N	проММП1, нг/г белка*10^3		ТИМП1, нг/г белка	
		1-е сутки	10-е сутки	1-е сутки	10-е сутки
ХОБЛ	11	86±57	62±36	273±174	252±135
пневмония	7	104±68	83±58	196±115	561± 270*

Доля проММП1 среди белков бронхоальвеолярного смыва не изменилась за время пребывания в стационаре. У пациентов с пневмонией удельная концентрация ТИМП1 статистически значимо (критерий Вилкоксона, p=0,03) выросла, в отличие от ХОБЛ, осложнением которой может быть эмфизема. Т.о., отсутствие повышения доли ТИМП1 отразило дисбаланс в системе «протеолиз-антипротеолиз», характерный для ХОБЛ.

Вывод: полученные данные позволяют рекомендовать удельную концентрацию ТИМП1 смыва для оценки процессов заживления в тканях бронхолегочной системы.

МЕТОД НЕИНВАЗИВНОЙ ОЦЕНКИ КОМПОЗИЦИИ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА И УЛУЧШЕНИЕ ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МЕТОДОМ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО БИОУПРАВЛЕНИЯ

Косов И.С., Михайлова С.А

ФГБУ «ЦИТО» им. Н.Н. Приорова, Москва, Россия
Москва, ул. Приорова, 10, тел. +7 (499) 15376805, cytobiom@gmail.com

Основой разработки индивидуальной реабилитационной программы пациента с патологией опорно-двигательного аппарата является достоверная оценка состояния скелетной мускулатуры, её сократительной функции, в свою очередь, определяющейся соотношением содержания (или композиции) фазических и тонических волокон.

Цель исследования: обоснование принципов и разработка реабилитационных программ и критериев эффективности их использования в клинике травматологии и ортопедии.

Материалы и Методы: За 2001–2013 в лаборатории клинической физиологии и биомеханики прошли обследование 725 человек с врожденными и приобретенными заболеваниями опорно-двигательного аппарата нижних конечностей. Лечение методом функционального биоуправления (биологическая обратная связь по электромиограмме (БОС поЭМГ)) – 258 человек. Для оценки функционального состояния мышц использовали глобальную ЭМГ (с постпроцессорным спектральным анализом записей), тонусометрию, механомиографию (ММГ) (ответ мышцы на прямую стимуляцию с использованием малогабаритного механодатчика) на комплексном анализаторе ConAn. Сравнивали с данными здоровых лиц (12 человек) и (или) неповрежденной конечности перед лечением, в процессе и после окончания.

Результаты. Выявлены типичные изменения биоэлектрической активности мышц, коррелирующие с изменениями ММГ. Максимум частот диапазона осцилляций ЭМГ «здоровой» стороны располагался в диапазоне 20–160 Гц (в зависимости от преобладания тонической или фазической функции мышцы), на стороне повреждения смещался в высокую часть спектра (90–260 Гц), там же прослеживалось снижение тонуса (индивидуально от 8,8 до 71,2 кПа) и изменение формы ММГ по соотношению длительности фаз сокращения и расслабления.

Основные изменения мышц пораженной конечности характеризовались значительным снижением фазической активности и функции тонических двигательных единиц, что свидетельствовало о перестройке их архитектоники.

С целью коррекции патологических изменений использовали метод БОС по ЭМГ с процессом обучения избирательному напряжению мышц. Методики лечения составляли индивидуально, эффективность применения подтвердили данные клинического статуса пациентов, с приближением биомеханических и электрофизиологических параметров к норме у 87% пролеченных больных.

Выводы: разработан и апробробирован метод оценки композиции скелетных мышц, позволяющий дать качественную и количественную оценку сократительной функции мышечной ткани. Использование метода функционального управления позволяет значительно улучшить функциональное состояние околосуставных мышц и повысить эффективность реабилитации.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАЗМЫ БОГАТОЙ ФАКТОРАМИ РОСТА КАК МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ APC-СИНДРОМА (ADDUCTOR–RECTUS–SYMPHISYS–SYNDROME) У СПОРТСМЕНОВ

Коструб А.А.[1], Блонский Р.И.[1], Лучко Р.В.[1], Вовченко А.Я.[1], Тютюнник И.Н.[2]

1 – ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев
2 – Диагностический центр МЕДЕКС г. Киев

Актуальность. Повреждение связаны с хроническим перенапряжением составляют 30–50% в структуре всего спортивного травматизма. Среди них синдром хронической перегрузки сухожилий (тендинопатия) является самой распространенной причиной перерыва в тренировках и соревнованиях спортсменов и составляет 15–25% от всех случаев. Частота и локализация тендинопатий напрямую зависит от вида спортивной деятельности. Так ARS-синдром (тендинопатия сухожилий mm. Adductorlongus et/or brevis, m. Gracslis, дистальной части m. Rectus abdominis, а также передней части m. Adductor magnus в местах их прикрепления к лонной и/или седалищной кости), составляет 60% случаев всех травм паховой области у спортсменов и наиболее характерен для футболистов.

Методы: Клинический, МРТ, УЗИ.

Результаты. Продемонстрировано результаты лечения 139 больных с APC синдромом. Установлено, что эффективность лечения больных напрямую зависит от правильно и своевременно установленного диагноза. Диагностику APC синдрома проводили используя клиничекое, сонографическое исследования, а также новый метод МРТ исследования с цветным картированием. Выбор методики лечения больных с APC синдромом направления зависел от стадии течения заболевания. Так нами было выделено 4 стадии заболевания, отражавшие патофизиологические и структурные изменения, происходящие в зоне повреждения. Анализируя результаты консервативного лечения больных с APC синдромом у которых было диагностировано тендинопатии вышеуказанной локализации на

1–3 стадии заболевания, следует отметить высокую эффективность использования аутологической плазмы богатой факторами роста, что проявлялось полным устранением клинических и сонографических проявлений данного синдрома на 1–2 стадии заболевания, при этом только в 15% больных на 3 стадии заболевания, после проведенного лечения оставались проявления патологического процесса, данные больные нуждались в оперативном лечении.

ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АУТОЛОГИЧЕСКИХ МСК, АУТОЛОГИЧЕСКИХ ФИБРОБЛАСТОВ И АУТОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАЗМЫ БОГАТОЙ ФАКТОРЫ РОСТА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ СУХОЖИЛИЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Коструб А.А.[1], Грищенко В.И.[2], Блонский Р.И.[1], Бруско А.Т.[1], Магомедов А.Т.[1], Гочарук Е.И., Довбешко Г.И., Волкова Н.А.[2]

1 – ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», Клиника спортивной и балетной травмы, Киев, Украина
2 – «Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины» Отдел криобиологии репродуктивных систем, Харьков Украина
3 – «Институт физики НАН Украины» Отдел физики биологичниих систем, Киев, Украина

Цель исследования. Изучение влияния аутологических фибробластов, факторов роста, а также культуры аутологических МСК на репаративные процессы в сухожилия при его дегенеративном повреждении.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 368 крысах – самцах с смоделированным дегенеративным повреждением ахиллова сухожилия. При исследовании руководствовались «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и другими научными целями» (Страсбург, 18.03.86). Опытные животные были разделены на 4-х группы. В первую группу вошли животные которым с целью лечения дегенеративного повреждения сухожилий вводились однократно аутологические МСК. Во вторую группу вошли животные которым с целью лечения дегенеративного повреждения сухожилий вводились однократно аутологические фибробласты. В третью группу вошли животные которым с целью лечения дегенеративного повреждения сухожилий вводились однократно аутологическая плазма обогащенная факторами роста. К четвертой группе вошли животные которым с целью лечения дегенеративного повреждения сухожилий вводились однократно 0.025 мл физиологического раствора. Исследовательских животных выводили из эксперимента на седьмой, двадцать первый и 45-е сутки, забирая кровь стерильной иглой для биохимического исследования.

Мы проводили патоморфологическое исследования сухожилий опытных животных на разных сроках лечения, определяли и сравнивали их прочностные характеристики, а также проводили ИК спектроскопическое исследование сухожилий.

Исследуя сыворотку крови опытных животных на разных сроках лечения мы определяли содержание коллагеназы, гиалуронидазы, глюкозаминогликанов (ГАГ), свободной и белковосвязанной фракции гидроксипролина, характеризующие репаративное тендогенез в процессе лечения экспериментальных животных.

Проводя анализ полученных данных и сравнивая их с группой плацебо следует отметить, что наилучшие результаты мы получили в опытной группы животных которым с целью лечения дегенеративного повреждения сухожилий вводились аутологические фибробласты, следующей за эффективности лечения была группа животных которым с целью лечения дегенеративного повреждения сухожилий вводились аутологические МСК, худшие результаты по сравнению с 1-й и 2-й исследовательскими группами были у животных 3 -й опытной группы которым с целью лечения дегенеративного повреждения сухожилий вводились аутологическая плазма обогащенная факторами роста.

Выводы. Благодаря использованию аутологических МСК, а также аутологических фибробластов, ожидаем достичь оптимизации тендорепарации сухожилий при их дегенеративном повреждении. С практической точки зрения планируется улучшение функции конечности и качества жизни больного.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧЕСКИХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАЦИИ СУСТАВНОГО ХРЯЩА

Коструб А.А., Засаднюк И.А., Гончарук Е.И.[1], Волкова Н.

Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины, г. Киев
1 – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Проблема восстановления поврежденного суставного хряща в современной ортопедии остается актуальной. По данным разных авторов, у больных с внутрисуставными повреждениями коленного сустава, которым выполнялись артроскопические исследования, повреждения суставного хряща составляло 63–92%. Высокая частота повреждений суставного хряща, сложность клинической диагностики, особенно в раннем периоде, а также не всегда удовлетворительные результаты лечения замедляют восстановление функции и приводят к развитию остеоартроза.

Цель работы – обосновать возможность применения аутологических МСК костного мозга для оптимизации репаративних процессов суставного хряща после его механического травматического повреждения.

Материалы и методы. Работа выполнена на 30 взрослых кроликах-самцах, массой 3,0±0,25 кг. У всех животных скальпелем во фронтальной плоскости по надколенниковой

поверхности бедренной кости наносили повреждение на всю глубину суставного хряща размером 6 на 3 мм, без повреждения целостности субхондральной костной платинки.

Животным первой серии, которые служили контролем для животных второй и третьей серий опытов, на 5 день после ушивания послеоперационной раны, в полость оперируемого коленного сустава вводили по 0,25 мл солевого физраствора (плацебо). Животным второй и третьей серии на 5 день в полость оперируемого коленного сустава вводили по 106 недифференцированных аутологичных МСК костного мозга и МСК с направленным хондрогенным дифференцированием соответственно.

Кроме того, для изучения непосредственного участия в формировании регенерата МСК, культивированных in vitro и имплантированных в полость травмированного коленного сустава, их перед введением в сустав метили красным флюорисцентным зондом PKH-26 (Sigma, США).

За всеми животными проводили клиническое наблюдение. Из опыта кроликов выводили путем применения летальных доз эфира для наркоза через 45 суток после травмы. Животных, которым вводили меченые МСК, выводили из эксперимента через 7, 14 и 21 сутки после введения МСК. Качество репаративных процессов в месте дефекта оценивали учитывая поверхностное строение регенерата, морфологию новообразованной ткани, структуру ее матрикса, характер и жизнеспособность хондроцитов, состояние кальцифицированной зоны хряща и субхондральной костной пластинки, наличие зон вторичной осификации кровеносных сосудов.

Для оценки использовали альтернативную OS шкалу, согласно которой качество регенерата считали неудовлетворительным при получении суммарного балла – 0 и оптимальным при суммарно полученном балле – 10.

Источником аутологичных МСК была спонгиозная костная ткань, которая механическим путем забиралась из крыла подвздошной кости кролика. Культивирование и хондрогенное дифференцирование аутологичных МСК костного мозга осуществляли по общепринятой методике.

Результаты и их обсуждение. При анализе полученных данных за альтернативной OS шкалой (M±m) выявлен достоверно лучший результат при применении недифференцированных культур МСК (8,6±0,24) в модели механического травматического полнослойного повреждения суставного хряща по сравнению с культурой МСК с направленным хондрогенным дифференцированием (7,6± 0,24, ($p<0,05$)). У животных, которым были трансплантированы меченые аутологические МСК, во всех случаях на криостатных срезах выявляли клетки с меткой донорских МСК. На 7 день клетки были расположены диффузно, без заметных скоплений. На 14 день – меченые клетки, которые флюоресцировали в красной зоне спектра, создавали компактные конгломераты преимущественно возле зоны дефекта. На 21 день меченые клетки удалось выявить лишь в зоне регенерата.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о непосредственном участии аутологичных МСК в процессах хондрорепарации при их экзогенном введении в полость сустава. Выявлен достоверно лучший результат при применении недифференцированных культур МСК для лечения повреждений суставного хряща.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ПОДСЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ УРЕТРЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СТРИКТУР. КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Котенко К.В., Кызласов П.С., Еремин И.И., Мурзабеков М.Б., Пулин А.А., Наделяева И.И., Еремин П.С., Чаузова Т.С., Жгутов Ю.А., Лазарева Н.Л.

ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия.
Москва, ул. Живописная, 46, тел. +7 (499) 190-86-58, cd105@mail.ru

Актуальность. Неудовлетворительные результаты лечения больных со стриктурами уретры наблюдаются часто и достигают 16–25%. Основным кандидатом на роль патогенетического терапевтического и профилактического средства может рассматриваться собственная жировая ткань пациента и аутологичные регенеративные клетки (стромально-васкулярная фракция, СВФ), содержащиеся в ней.

Цель исследования: изучение эффективности и безопасности эндоскопического введения стромально-васкулярной фракции в подслизистую оболочку уретры для лечения стриктур. Дизайн исследования. Был разработан протокол инициативного открытого несравнительного когортного исследования с автоматизированной процедурой выделения аутологичных регенеративных клеток жировой ткани на аппарате Celution (Cytori Therepeutics Inc., США; регистрационное удостоверение №ФС3 2012/12193 от 24.05.2012). Протокол исследования получил одобрение Независимого междисциплинарного Комитета по этической экспертизе клинических исследований и был зарегистрирован в международной базе данных клинических исследований на сайте www.clinicaltrials.gov (NCT 01889888).

Критерии включения: 1. Мужчины в возрасте от 18 до 75 лет включительно. 2. У пациента на протяжении как минимум 1 года верифицирован диагноз стриктура уретры. 3. Умеренная или выраженная степень нарушения мочеиспускания (обструктивный тип). 4. Пациент ознакомился с информационным листком и подписал форму информированного согласия. Критерии исключения: 1. У пациента имеются противопоказания для местной анестезии (например, повышенная чувствительность к местным анестетикам). Кроме того, критериями исключения для пациентов, перенесших оперативное вмешательство по поводу злокачественной опухоли предстательной железы, являются: 2. Наличие рецидива злокачественной опухоли и (или) метастазов. 3. Уровень простат-специфичного антигена более 0,008 нг/мл.

Эффективность исследуемого метода оценивалась в шести контрольных точках (на 1,3, 7 сутки и 1,3, 6 месяцев после процедуры введения клеточного продукта) по следующим критериям: 1. максимальная скорость мочеиспускания, мл/сек; 2. объем остаточной мочи, мл; 3. ретроградная уретроцистограмма; 4. Вопросник по оценке качества жизни

SF-36 (русскоязычная версия) – сумма баллов; 5. вопросник по выявлению нарушения мочеиспускания (International Prostatic Symptom Score, IPSS) – сумма баллов.

Забор жировой ткани проводился на передней брюшной стенке, под местной анестезией методом шприцевой липосакции. Выделение аутологичных регенеративных клеток жировой ткани из липоаспиратов осуществлялось путем ферментативной обработки в стерильных условиях по стандартной методике. Аутологичные регенеративные клетки жировой ткани сразу после выделения вводились однократно эндоскопически под слизистую оболочку уретры в область стриктуры после механической дилатации (бужирования) под визуальным контролем.

Результаты. В исследуемую группу были включены 6 пациентов (две когорты) в возрасте от 24 до 74 лет, с верифицированным диагнозом стриктура уретры. Протяженность стриктур составляла от 3 до 5 см, скорость мочеиспускания до операции составляла в среднем 3,04±2,12 мл в секунду. Тяжесть состояния по шкале IPSS до лечения составляла 25,4±5,7 баллов. После подписания информированного согласия всем пациентам была выполнены процедура бужирования и липосакции. Липоаспираты были получены в объеме от 40 до 80 мл. Количество выделенных аутологичных регенеративных клеток жировой ткани составляло 80–340 млн. Клетки были введены в подслизистый слой уретры в 5–8 точках, общий объем инъекции в каждом случае составил 4,5 мл. Осложнений, связанных с процедурой введения СВФ, отмечено не было.

Через месяц после выполнения процедуры средняя скорость мочеиспускания составила 17,8±4,6 мл в секунду. Рентгенографически было выявлено восстановление проходимости уретры на всем протяжении. Тяжесть состояния по шкале IPSS через месяц после лечения уменьшилась и составила 6,2±2,8 балла. За период наблюдения (3 месяца) рецидивов заболевания, а также других серьезных нежелательных реакций и серьезных нежелательных явлений отмечено не было. В настоящее время осуществляется набор третьей когорты пациентов, и продолжается наблюдение за пролеченными пациентами.

Выводы. Использование аутологичных регенеративных клеток жировой ткани является патогенетически обоснованным, малоинвазивным, экономически более выгодным (по сравнению с традиционными подходами) способом лечения стриктур уретры различной этиологии и степени выраженности.

Полученные предварительные данные в рамках представленного клинического исследования и результаты пилотных исследований, выполненных нами ранее, позволяют говорить об эффективности и безопасности предложенного метода.

Поданы соответствующие отчеты о безопасности, клиническое исследование продолжается.

КОРРИГИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПИДНОЙ ФРАКЦИИ ПЛАЦЕНТЫ В ОТНОШЕНИИ CD4+CD25+ Т-КЛЕТОК ПРИ АДЪЮВАНТНОМ АРТРИТЕ У КРЫС

Кравченко М.А., Гольцев А.Н.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Известный факт иммуномодулирующей активности субстанций липидной природы делает актуальным разработку технологий их получения и апробации в качестве иммунотропных препаратов. В последнее время большое внимание уделяется возможности их получения из биологически активного тканевого сырья, в частности тканей плаценты, липидный состав которой обуславливает один из механизмов реализуемой ей иммуносупрессивной активности.

Цель данной работы – изучить содержание $CD4^+CD25^+$ Т-клеток в региональных лимфоузлах крыс с экспериментальным адъювантным артритом (АА) до и после введения липидной фракции плаценты (ЛФП).

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Wistar, АА индуцировали субплантарным введением полного адъюванта Фрейнда. ЛФП получали методом криогенного молекулярного фракционирования (КМФ) из тканей плаценты свиньи. ЛФП вводилис 14-х по 28-е сутки развития АА через день внутримышечно в дозе 100 мг/кг. Содержание в лимфоузлах $CD4^+CD25^+$ клеток определяли методом прямой иммунофлуоресценции на проточном цитофлуориметре FACSCalibur® с использованием мАТ к мембранным структурам CD4 (PE) и CD25 (FITC). Регистрировали процентное содержание $CD4^+CD25^+$, $CD4^+CD25^{high}$ клеток, а также среднюю интенсивность их флуоресценции (СИФ).

Результаты. Показано волнообразное изменение изученных показателей в динамике развития АА, при этом введение животным с патологией ЛФП максимально приближало значения данных показателей к значениям интактных животных, что клинически сопровождалось снижением выраженности отека лап.

Липидная фракция плаценты, полученная методом КМФ, обладает иммунокорригирующей активностью в отношении как содержания так и функциональной активности $CD4^+CD25^+$ Т-клеток, что приводит к снижению выраженности клинической манифестацииАА. Полученные результаты свидетельствуют в пользу перспективности дальнейшего изучения иммуномодулирующих свойств ЛФПс целью оценки возможности ее клинического применения для лечения заболеваний аутоиммунного генеза.

БЕЛКОВЫЙ СПЕКТР, ПРОДУЦИРУЕМЫЙ ДЕРМАЛЬНЫМИ ФИБРОБЛАСТАМИ У ДЕТЕЙ

Кропотов В.С., Колесов С.А., Васильева Е.А.

ФГБУ «Нижегородский НИИ детской гастроэнтерологии» Минздрава России
603005, Нижний Новгород, ул. Семашко д.22, тел. +7 (831) 436-01-13, immunol@ mail.ru

Фибробласты – активные продуценты большого количества биологически активных компонентов, оказывающих влияние на процессы воспаления и регенерации в тканях. Значимость исследований белкового спектра, продуцируемых ими компонентов определяется возможностью применения новейших технологических платформ и биоинформационных подходов в диагностике различных заболеваний, выяснении закономерностей функционирования клеток и открытием новых молекулярных мишеней для лекарственных соединений.

Цель исследования. Определить спектр биологически-активных компонентов, выделяемых культурой фибробластов в ходе многократного пассирования.

Материалы и методы. Объектом исследования были супернатанты (СН) двух культур, полученных из биоптатов кожи больных детей (от родителей каждого ребенка получено информированное согласие). Клетки культивировались согласно стандартному протоколу до 6 пассажей. СН отбирались и анализировались методом масс-спектрометрического анализа MALDI-TOF (матричной лазерной десорбционно-ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии) на времяпролетном спектрометре Bruker Autoflex (США).

Результаты и обсуждение. Исследовались СН от шести пассажей. Получено разделение на пять фракций по молекулярной массе в зависимости от интенсивности сигнала от 0,8 кДа до 3,3 кДа, от 3,3 кДа до 6,00 кДа, от 6 кДа до 11 кДа, от 11 кДа до 16,6 кДа и более 16,6 кДа. В материале от обоих больных к четвертому пассажу наблюдалось достоверное ($p<0,05$) уменьшение доли белковых фрагментов с молекулярной массой от 3,3 кДа до 6,00 кДа и увеличение доли с массой от 11 кДа до 16,6 кДа. Рост продукции белковых компонентов с молекулярной массой от 11 до 16,6 кДа в СН может быть обусловлен, согласно данным литературы, повышенным содержанием эпидермального фактора роста фибробластов.

Полученные результаты дают возможность выбрать период наибольшей активности культуральных фибробластов для последующего изучения или применения в клеточной терапии.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПАНТЕНОЛ-СПРЕЯ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ КОНСЕРВАТИВНОМ ЛЕЧЕНИИ ЭРОЗИИ ШЕЙКИ МАТКИ У НЕРОЖАВШИХ ЖЕНЩИН

Кузнецов М.И., Кузнецова Е.М., Проничкина Т. В., Рассказова Т. В.

ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия
Москва, ул. Делегатская, д.20, стр. 1, +7 (903) 778-85-29, premihig@yandex.ru

Эрозия шейки матки является наиболее распространённым гинекологическим заболеванием. В 49,2% случаев выявляется в группе молодых женщин до 25 лет. Основными причинами эрозии шейки матки у нерожавших женщин являются частые инфекционно-воспалительные заболевания, раннее начало половой жизни, нерациональная контрацепция, гормональные и иммунные нарушения. Различают истинную эрозию и приобретенную, или псевдоэрозию. При лечении эрозий применяются консервативные и хирургические методы. Однако консервативное лечение считается малоэффективным, а для ряда оперативных методов существуют ограничения, связанные с рубцовым изменением наружного зева, что неблагоприятно влияет на раскрытие акушерского зева в родах и служит причиной обширных родовых травм.

Целью исследования являлось определить эффективность Пантенол-спрея в комплексной консервативной терапии эрозии шейки матки у нерожавших женщин, с последующей оценкой исходов родов у данных пациенток. Препарат Пантенол обладает противовоспалительным и регенерирующим свойствами. Под наблюдением находилось 270 нерожавших пациенток с эрозией шейки матки. У 180 пациенток была выявлена псевдоэрозия, у 90 – истинная эрозия. Обязательным условием перед назначением лечения было проведение кольпоскопии с идентификацией атипических зон и проведение ПЦР соскоба с эрозированного участка на наличие онкогенного вируса. Лечение состояло из 3-х компонентов: Доксициклин 0,1х2 р/д – с 1-го дня менструации – 10 дней; Виферон 1000 ед. – ректальные свечи, 2 р/д – 10 дней; Пантенол-спрей – 1 р/д, после окончания менструальных выделений, 14 дней ежедневно. У 70% пациенток эффект излечения наблюдался после первого курса терапии; у 17% – после второго; у 13% – после 3-го. Роды у всех наблюдаемых в последующем произошли без явлений дистоции акушерского зева и разрывов шейки матки. Учитывая все вышеизложенное, можно сделать вывод, что Пантенол-спрей при использовании в составе комплексной консервативной терапии эрозии шейки матки у нерожавших женщин является эффективным средством выбора.

ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ РАЗМЕРА, ГРАНУЛЯРНОСТИ И ИММУНОФЕНОТИПА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Кузьмина Е.Г., Неприна Г.С., Лепехина Л.А., Коноплянников А.Г.

МРНЦ Минздрава России, Обнинск, Россия
Обнинск, ул. Королева, 4. Тел. +7 (48439) 9-32-00,
kuzmina_e_g@mail.ru

Актуальность исследования обусловлена необходимостью развития регенеративной медицины, направленной на восстановление тканей, поврежденных дегенеративными процессами, вызванными сердечно-сосудистыми заболеваниями, проведением химиолучевого лечения онкологических больных, а также последствий другой патологии.

Цель исследования состояла в определении принадлежности культивируемых стволовых клеток, используемых в качестве материала для регенерации тканей при развитии лучевых повреждений, к разряду мезенхимальных стволовых клеток, МСК.

Материал и методы. Иммуноцитометрический анализ, выращиваемых МСК из клеток костного мозга 10 пациентов, проводили по показателям прямого светорассеяния, позволяющего определять размер клеток и бокового светорассеяния, отражающих оптическую плотность цитоплазмы, характер клеточных включений и гранулярность, а также определяли специфический сигнал флюоресценции для определения процента меченных флюорохромами клеток. Иммунофенотип стволовых клеток костного мозга на 3–11 пассаже культивирования изучали, используя моноклональные антитела к поверхностным маркерам, по данным литературы специфичные для МСК: CD10, CD13, CD44, CD54, CD90, CD105, CD117 и др. При этом клетки не должны экспрессировать гемопоэтические или эндотелиальные поверхностные маркеры CD11b, CD14, CD31, CD34 или CD45 и HLA-DR.

Результаты. Анализ показал, что клетки формируют 2 области: одна с низкими характеристиками прямого и бокового светорассеяния (клетки небольшого размера с низкой гранулярностью), другая сформирована клетками большого размера с высокой гранулярностью, что согласуется с морфологией МСК, полученной с помощью фазово-контрастной микроскопии. В 8 культурах клетки имели комбинацию маркеров CD10+, CD13+, CD90+, CD117+, что многими исследователями считается типичным для МСК. Причем в «крупных» клетках процент МСК был в 2–3 раза больше, чем в «мелких». В то же время в 2 культурах выявлялась также экспрессия CD34, CD45 или HLA-DR, что не вписывается в характеристику МСК.

Выводы. Иммунофенотипирование клеток должно предшествовать проведению трансплантации МСК во избежание нежелательных потенциальных осложнений.

РАЗРАБОТКА ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКИХ СПОСОБОВ КОМПЕНСАЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Куликов А.В., Куликов Д.А., Архипова Л.В., Смирнова Г.Н., Куликова П.А., Филюшкин Ю.Н., Машков А.Е.

ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН, г. Пущино, Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова,
ГБУЗ МО МОНИКИ им.М.Ф. Владимирского, г. Москва, Россия. 142292, Пущино, Моск. обл., ул.Институтская, 3, тел. +7 (915) 334-55-54, 29.04.55@mail.ru

Для внедрения в практику здравоохранения новых инновационных методов необходима предварительная проработка предлагаемых методов на экспериментальных моделях. В своих разработках мы использовали как иммунопривилегированные области, так и зоны, не защищенные от действия иммунной системы гисто-гематическими барьерами, в последнем случае, как правило, трансплантировали антологические клетки.

В результате многолетних исследований удалось:

– значительно снизить темп необратимой возрастной инволюции тимуса в разных возрастных группах, другими словами, замедлить скорость старения Т-клеточного звена иммунологической системы, повышая защиту организма от инфекций, онко- и канцерогенов, последствий стрессов;

– достоверно увеличить среднюю (на 19±5%) и максимальную (до 21%) продолжительность жизни животных;

- после радиационного стресса (4–8 Гр) добиться ускоренного восстановления иммунологического статуса организма;

– добиться пожизненной полной или частичной компенсации сахарного диабета у животных;

– добиться восстановления репродуктивной функции с нормализацией количества тестостерона при первичном мужском гипогонадизме у крыс;

– разработать способ лечения анальной инконтиненции (клиническое применение: 8 пациентов). Патент РФ на изобретении №2405573 от 19.02.2010.

– разработать метод клинической пересадки аутологичного костного мозга для лечения гематогенного остеомиелита (клиническое применение: 11 пациентов). Патент на изобретение РФ №2405573.

Работа выполнена при финансовой поддержке программ президиума РАН «Поддержка инноваций и разработок», 2007, 2009, 2011; «Фундаментальные науки – медицине» 2012, 2013 гг.

НОВЫЕ СПОСОБЫ ТОРМОЖЕНИЯ НЕОБРАТИМОЙ ВОЗРАСТНОЙ АТРОФИИ ТИМУСА И КОМПЕНСАЦИИ ЭНКОПРЕЗА

Куликов Д.А., Архипова Л.В., Смирнова Г.Н., Куликова П.А., Филюшкин Ю.Н., Машков А.Е., Куликов А.В.

ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН, г. Пущино, Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова,
ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, Россия.
142292, Пущино, Моск. обл., ул. Институтская, 3,
тел. +7 (985) 300-29-04, zdolsk2@gmail.com

Известно, что с возрастом у всех млекопитающих происходит необратимая атрофия тимуса. С возрастом также учащаются случаи различных инфекционных заболеваний, аутоиммунных процессов, новообразований и др. Связь столь широкого круга связанных с возрастом патологических процессов с дефектами иммунной системы привела к появлению предположения, что старение иммунной системы может ограничивать продолжительность жизни.

Для проверки некоторых из выше следующих положений авторами был разработан способ, позволяющий значительно замедлить необратимую возрастную атрофию тимуса у крыс. Для этого тимус от молодых животных пересаживали в иммунопривилегированную область организма – переднюю камеру глаза – стареющих крыс. При этом важно было узнать, приводит ли замедление старения Т-клеточного звена иммунной системы к увеличению средней и максимальной продолжительности жизни. Показано, что предложенный способ позволяет увеличить как среднюю (на 19±5%), так и максимальную (до 21%) продолжительность жизни животных.

Для компенсации энкопреза использовали аллогенные в эксперименте или аутологические в рамках клинической работы клетки костного мозга. На большом экспериментальном материале удалось показать возможность компенсации энкопреза у крыс. Адаптация метода для клиники позволила к настоящему моменту провести 8 операций. Получен патент на изобретение №2405573.

Работа выполнена при финансовой поддержке программ президиума РАН
«Поддержка инноваций и разработок», 2007, 2009, 2011;
«Фундаментальные науки – медицине» 2012, 2013 гг.

СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ПЕРВИЧНОГО МУЖСКОГО ГИПОГОНАДИЗМА ПУТЕМ АТОПИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ТКАНИ АЛЛОГЕННОГО КОСТНОГО МОЗГА

Куликова П.А.[1], Архипова Л.В.[2], Смирнова Г.Н.[2], Куликов Д.А.[3], Машков А.Е.[3], Филюшкин Ю.Н.[3], Куликов А.В.[2]

1 – ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, РФ;
2 – ФГБУН ИТЭБ РАН, г. Пущино, РФ; ЗГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, РФ
3 – ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Ломоносовский пр-т., дом 31, корп. 5.
e-mail: polinikul@mail.ru

Мужской гипогонадизм – патология, характеризующаяся уменьшением уровня андрогенов или снижением чувствительности к ним. До 20% взрослых мужчин страдают приобретенным гипогонадизмом, причем отмечается тенденция к росту заболеваемости. Эта патология обуславливает разнообразные нарушения, как в социальной сфере, так и в соматическом здоровье мужчин. Снижение андрогенов может приводить к нарушению сперматогенеза и, как следствие, – к бесплодию. На сегодняшний день основной метод лечения гипогонадизма – терапия андрогенами, имеющая ряд противопоказаний и осложнений. Очевидна необходимость разработки новых подходов коррекции этой патологии. Несовершенство всех имеющихся на сегодняшний день экспериментальных моделей гипогонадизма усложняет задачу разработки новых методов лечения.

Целью нашего исследования является поиск способа восстановления андроген-продуцирующей и репродуктивной функций при гипогонадизме. На пути к осуществлению этой цели мы выделили две последовательные задачи, во-первых, создание доступной модели мужского гипогонадизма со стойким нарушением гормонообразующей и репродуктивной функций, во-вторых, разработка трансплантологического метода коррекции этой патологии.

Методы. Работа проводилась на крысах Вистар массой 200–220 гр. Созданная нами модель гипогонадизма основана на временной ишемии тестикул, она характеризуется стойким нарушению гормоонобразующей и репродуктивной функций, быстрым достижением эффекта, технологической доступностью. Для коррекции патологии нами был разработан метод трансплантации аллогенной ткани костного мозга в пораженную область, что приводило к стойкому восстановлению как гормонообразующей, так и репродуктивной функций.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» 2013 г.

СВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И БИОМАРКЕРОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В КРОВИ ДЕТЕЙ-РЕЦИПИЕНТОВ ПЕЧЕНИ

Курабекова Р.М.[1], .Цирульникова О.М.[1], Луговская С.А.[2], Наумова Е.В.[2], Кунцевич Н.В.[1], Цирульникова И.Е.[1], Долгов В.В.[2], Шевченко О.П.[1]

1 – ФГБУ «ФНЦ Трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» МЗ РФ, Москва, ул. Щукинская, д.1, тел. +7 (499) 190-38-77, transplant2009@mail.ru
2 – ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» МЗ РФ, Кафедра клинической лабораторной диагностики, Москва, 2-й Боткинский пр., д.5.

Актуальность. После трансплантации печени гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) реципиента обнаруживаются в донорской печени, однако, их роль в регенерации печени и механизмы регуляции содержания остаются неясными. Мобилизация ГСК в кровоток регулируется множеством факторов, в том числе и иммунных, наиболее значимыми из них для трансплантологии являются: анти-HLA антитела I и II классов, растворимые формы лиганда CD40 (sCD40L) и CD30 (sCD30), неоптерин, а также С-реактивный белок (СРБ).

Цель. Оценить связь между количеством ГСК (CD34/CD45+) и уровнем биомаркеров иммунной системы в периферической крови реципиентов печени.

Материалы и методы. Обследовано 15 детей (8 мальчиков) с терминальной стадией печеночной недостаточности в возрасте 4–60 месяцев (медиана – 8 месяцев) до и после трансплантации сегмента печени от живого родственного донора. Содержание ГСК определяли в венозной крови до, на 2–4 и 5–7 сутки после операции методом проточной цитометрии и выражали как число стволовых клеток на миллион событий. Концентрацию биомаркеров в плазме крови измеряли методом ИФА.

Результаты. До трансплантации у детей с печеночной недостаточностью количество клеток составляло 361±247. После операции число ГСК снизилось и составило: на 2–4 сутки – 152±141, на 5–7 сутки – 161±145 (p=0,001 в сравнении с уровнем до операции). Уровень биомаркеров до операции составлял: анти-HLA I, II – 25% и 40% позитивных, соотв.; sCD40L -3,3±2,4 нг/мл; sCD30 – 77,0±57,6 нг/мл, неоптерин – медиана 15,2 (4,9–129,0) нмоль/л; СРБ – медиана 10,7 (5,0–34,0) мг/л. До трансплантации печени количество ГСК обратно коррелировало с уровнем СРБ (r=-0,69, p<0,05) и не коррелировало с другими изученными маркерами. На 2–4 сутки после операции количество клеток коррелировало с дооперационным уровнем sCD40L (r=0,64, p<0,05).

Заключение. У детей с печеночной недостаточностью количество ГСК в кровотоке отрицательно связано с активностью воспаления, после трансплантации печени – количество клеток связано с активацией Т-лимфоцитов до операции.

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ВНУТРИВЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ПУПОВИНЫ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

Курсенко В.В., Бурунова В.В.

ФГБУ «НИИОПП» РАМН, Москва, ул. Балтийская, 7; НПО «Стемма», Москва, Денежный переулок, 1, тел. +7 (495) 215-06-13, petrova@cellmedicine.ru

Введение и цель исследования. Рассеянный склероз (РС) – неизлечимое нейродегенеративное заболевание, при котором происходит связанная с аутоиммунными процессами демиелинизация нервных волокон. Данные экспериментов на животных и первые результаты клинических тестов свидетельствуют о том, что мезенхимальные клетки из пуповины (пМК) обладают способностью подавлять аутоагрессивные иммунные реакции и не вызывают серьезных осложнений при системном введении. Наше исследование проведено с целью проверки безопасности и предварительной оценки эффективности внутривенной трансплантации пМК при РС.

Дизайн исследования. Пациенты после собеседования, подписания согласия на исследование, МРТ обследования и оценки по международной шкале инвалидизации Expanded Disability Status Scale (EDSS) были разделены на 3 группы по 5 человек: 1) легкие больные с ремитирующей формой РС (EDSS 1–4), 2) больные средней тяжести с ограниченной способностью к передвижению (EDSS 4,5–6), 3) тяжелые больные (EDSS выше 6). Пациенты получали 5 миллионов пМК внутривенно дважды с интервалом 3 месяца, после чего наблюдались на протяжении 1,5 лет. Больные проходили курсы психологической и физической реабилитации и общеукрепляющей и интерферонотерапии.

Результаты. Тяжелых побочных эффектов не было. У 4 больных из 15 наблюдали субфибрильную температуру и головную боль в течение 3–4 часов после трансплантации. У больных группы 1 наблюдали уменьшение числа ежегодных обострений с 1–2 до 0–1 и снижение EDSS на 1–3 балла. Новые очаги демиелинизации обнаружились лишь у 1 из 5 пациентов. Группа 2 (средней тяжести): у 1 пациента повышение EDSS на 3 балла, у 2 – на 1 балл, у 1 – стабильное состояние, у 1 – прогрессирование РС. Группа 3 (тяжелые): 1 пациент показал повышение EDSS на 1 бал, 2 – без изменения, 2 – прогрессирование болезни. Таким образом, по данным настоящего исследования внутривенное введение пМК при РС можно оценить как безопасную и, возможно, эффективную терапевтическую процедуру, в особенности на ранних стадиях заболевания.

ТЕЧЕНИЕ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ СПОНДИЛИТАХ КРАНИО-ВЕРТЕБРАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ

Лавров В.Н., Киселев А.М.

НИИ фтизиопульмонологии ММА им. И.М. Сеченова,
МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия.
Москва, ул. Щепкина 61/2, +7 (495) 631-73-95; kiselevam@inbox.ru

Туберкулезные и неспецифические спондилиты краниовертебральной области выявляются в 3,5% случаев воспалительных поражений позвоночника, являются следствием септического процесса, чаще из локальных воспалительных очагов.

Цель исследования: определение диагностических критериев течения репаративных процессов при спондилитах краниовертебральной области.

Материалы и Методы: наблюдалось 25 пациентов спондилитов краниовертебральной области, из них 17 больных с туберкулезным и 8 – с неспецифическим воспалительным процессом. Возраст больных составил от 27 до 58 лет. Диагностика базировалась на клинической картине поражения краниовертебральной области дополнительных методов исследования (рентгенотомография, функциональная спондилография, КТ, ЯМР-томографии позвоночника).

Результаты и обсуждение: выявленный характер деструктивных изменений и дислокации в краниовертебральном отделе, степень сдавления спинного мозга и выраженности неврологической симптоматики позволили определить тактику предоперационного ведения больного и объем хирургического вмешательства. У пациентов без нарушения опорных структур (24 пациента) проводилась антибактериальная и внешняя фиксация. Интенсивная антибактериальная терапия с внешней иммобилизацией позвоночника купировала воспалительный процесс и активизировала репаративные процессы с восстановлением структуры костной ткани через 6–8 месяцев.

Во второй группе (ли 18 пациентов с поражением основного среднего опорного комплекса. В этой группе пациентов выполняли оперативное лечение – трансфарингеальная декомпрессия с полной санацией воспалительного очага и передний атланто-аксиалиный спондилодез и одновременно окципитоспондилодез. В этих двух группах достигнуто формирование костного блока в сроки 6–8 месяцев.

РЕГЕНЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ИШЕМИЧЕСКИ ПОВРЕЖДЕННОГО МИОКАРДА КРОЛИКОВ, ИНДУЦИРОВАННЫЙ БИОМАТЕРИАЛОМ АЛЛОПЛАНТ®

Лебедева А.И., Мусина Л.А.

ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии МЗ РФ», Уфа, Россия
Уфа, ул. Р. Зорге, 67/1, тел. +7 (347) 293-42-35, Jeol02@mail.ru

Ишемические повреждения миокарда способствуют развитию кардиосклероза и нарушению функции органа в целом. Поэтому, вопрос ремоделирования или профилактики рубцовых изменений в ткани перед исследователями стоит наиболее остро.

Целью исследования явилось выявление механизмов регенерации ишемизированного миокарда после использования биоматериала Аллоплант® (БМА).

Материалы и методы. 48-ми кроликам моделировали острую ишемию путем перевязки передней нисходящей ветви левой коронарной артерии. Через 5 суток опытной группе интрамиокардиально вводили суспензию диспергированного БМА, а в контрольной группе применяли физиологический раствор. В различные сроки после операции проводили гистологическое, электронномикроскопическое и иммуногистохимическое (PCNA, TGFb1) исследования.

Результаты. У кроликов контрольной группы в области ишемии наблюдались признаки выраженной воспалительной реакции, исходом которой являлось образование аваскулярной плотной соединительной ткани с последующей трансформацией в жировую. Выявлялась выраженная митотическая активность фибробластических клеток и экспрессия фиброгенных факторов. У кроликов в опытной серии имплантированные частицы БМА инициировали миграцию моноцитов, их фенотипическое созревание в макрофаги и их фагоцитарную активность. Выявлялось снижение миграционной и секреторной фибробластической деятельности. Это, в свою очередь, способствовало адекватному, умеренному коллагеногенезу и формированию интенсивно васкуляризированной рыхлой волокнистой соединительной ткани в зоне имплантации и биодеградации БМА. Причем, между тонкими коллагеновыми волокнами обнаруживались клеточно-симпластические кластеры, состоящие из малодифференцированных миобластоподобных клеток. Со временем, прослеживалась дифференциация кардиомиоцитов от юных форм до зрелых клеточных симпластов. Таким образом, в ишемизированном миокарде БМА активирует макрофаги. Они, регулируя клеточное микроокружение, оказывают положительное влияние на структуру регенерата, замещающего погибшие кардиомиоциты, и создают условия для полноценного кардиомиогистогенеза и улучшения трофики ткани.

РЕГЕНЕРАЦИЯ СТЕНКИ РОГА МАТКИ КРОЛИКА ПОСЛЕ ЕЕ РАЗРЕЗА ЛУЧОМ ЛАЗЕРА И ПРИМЕНЕНИЯ БИОМАТЕРИАЛА АЛЛОПЛАНТÒ

Лебедева А.И., Муслимов С.А.

ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии МЗ РФ», Уфа, Россия
Уфа, ул. Р. Зорге, 67/1, тел. +7 (347) 293-42-35, Jeol02@mail.ru

Заживление дефекта матки часто заканчивается формированием грубоволокнистого рубца, приводящего к значительным деформациям архитектоники тканей и нарушениям кровоснабжения, что ставит под сомнение восстановление репродуктивной функции у женщин. Известно, что биоматериал АллоплантÒ (БМА) является стимулятором регенерации и обладает низкими антигенными свойствами. Оригинальная технология обработки биоматериалов разработана в ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии МЗ РФ».

Целью работы явилось выявление закономерностей регенераторных процессов мышечной ткани матки после разреза лучом СО2-лазера и применения БМА. 25-ти самкам кроликов производили разрез маточного рога. Контрольной группе животных (10 кроликов) ушивали рану викрилом. В опытной группе (15 кроликов) дефект заполняли объемно-волокнистым БМА. Брюшную стенку ушивали викрилом. Животных выводили из опыта через 2,7, 14,30,60,120 и 180 суток после операции. Применяли общегистологические, иммуногистохимические (PCNA, TGF-β1) и электронномикроскопические методы изучения. В результате исследования выявлено, что в контрольной группе в начальные сроки в зоне повреждения маточного рога наблюдалось острое воспаление, которое в дальнейшем трансформировалось в пролиферативное – образование грануляционной ткани. Выявлялась высокая митотическая активность клеток фибробластичесого ряда и выраженная экспрессия фиброгенных факторов (TGF-b), что приводило к формированию грубоволокнистого рубца. В опытной группе животных частицы БМА привлекали клетки макрофагального ряда, за счет чего подвергались лизису и резорбции. Наряду с биодеградацией частиц БМА происходило замещение его регенератом, состоящим из прослоек васкуляризованной рыхлой соединительной ткани и тяжей пролиферирующих мезенхимальных клеток, гладких миоцитов. Выявлялся низкий уровень экспрессии цитокина TGF-β1. Со временем, в месте повреждения наблюдался новообразованный мышечно-соединительнотканный регенерат с преобладанием мышечного компонента. Тяжи гладких миоцитов, расположенных в косом направлении разделяли тонкие прослойки соединительной ткани. Признаков грубого рубцевания не обнаруживалось. Таким образом, БМА ингибирует избыточный фиброгенез и стимулирует регенерацию тканевых элементов гладкой мышечной ткани.

КОСТНОПЛАСТИЧЕСКИЕ БИОКОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПРОЦЕССЫ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Лекишвили М.В.[1], Склянчук Е.Д.[2], Акатов В.С.[3], Очкуренко А.А.[1], Юрасова Ю.Б.[4]

1 – ФГБУ ЦИТО им. Н.Н. Приорова
2 – МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва
3 – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино
4 – Российская детская клиническая больница, Москва, Россия

Актуальность. Большое количество заболеваний и последствий травм костей скелета требуют обязательного восстановления ее целостности. Необходимость проведения восстановительных костнопластических операций продиктована наличием грубых функциональных нарушений костей или развитием обширных послеоперационных костных дефектов. Для восполнения подобных дефектов наряду с металлоконструкциями часто необходимы пластические материалы, обладающие набором различных свойств (безопасность, остеоиндуктивность, остеокондуктивность, антимикробные и т.д.).

Цель. Получение эффективных биологических деминерализованных и биокомпозиционных костнопластических материалов, предназначенных для реконструктивной хирургии.

Материалы и методы. Частично и полностью деминерализованные костные имплантаты (ДКИ), в виде пластин, стружки, блоков, чипсов, а также биокомпозиционные материалы на основе костного матрикса с рекомбинантным морфогенетическим белком (BMP-2), с бисфосфонатами, антиоксидантами и антибиотиками используются в более чем 70 клиник на территории России и стран постсоветского пространства.

Результаты. Высокие остеоиндуктивные свойства представленных костнопластических материалов позволило использовать их в качестве местного стимулятора остеогенеза при оперативном лечении ложных суставов и дефектов, послеоперационных костных полостей и удлинении конечностей на фоне локальных диспластических поражений. Использование костнопластических материалов позволило отказаться или резко снизить использование костных аутотрансплантатов. Отсутствие гнойных осложнений более чем у 850 пациентов свидетельствует о стерильности применяемых костных биопластических материалов. Использование аллотрансплантатов способствует заполнению больших по объему пострезекционных полостей, стимуляции остеогенеза, сокращению сроков госпитализации, а также отсутствует необходимость в дополнительной операционной травме.

Выводы. Учитывая благоприятные свойства костнопластических материалов, изготавливаемых в «тканевом банке» ЦИТО, необходимо более широкое внедрение их в клиническую практику различных регионов России. Необходимо увеличение числа подразделений, изготавливающих пластические материалы с учетом современных требований к ним и последними достижениями мировой биоимплантологии.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: ПРЯМЫЕ И ОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

Лисяный Н.И., Гнедкова И.А., Бельская Л, Н., Семенова В.М., Ключникова А.И., Задорожная Е.В., Стайно Л.П., Станецкая Д.И.

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМНУ», Киев, Украина
Киев, ул. Платона Майбороды, 23, тел. (044) 283-81-93, nimun.neuro.@gmail.com.

Одним из направлений регенеративной медицины является изучение регенеративного потенциала с аутологичных мезенхимальных клеток костного мозга (МСК) и жировой ткани, обладающих двумя свойствами: способностью к трансдифференцировке в различных гистотканевых направлениях, так и синтезу каскада биологически активных факторов, обладающих индукторным, супрессивным и стимулирующими свойствами. Если же дифференцировочный потенциал МСК интенсивно изучается и достигнуты в этом направлении обнадеживающие положительные результаты, то второе направление, связанное с изучением природы направленности и механизма действия гуморальных факторов, изучается недостаточно.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния МСК костного мозга и жировой ткани и их гуморальных факторов на регенеративные процессы в эксперименте на моделях регенерации кожи и восстановление нервной системы после аутоиммунного энцефаломиелита (АЄМ) у крыс.

Материалы и методы. Выделение адгезивных клеток костного мозга проводили по общепринятой методике из бедренных костей крыс. Выделение васкулярно-стромальной фракции жировой ткани проводили из подкожного жира с дополнительной обработкой коллагеназой I типа в течение часа. Адгезивные мезенхимальные клетки получали путем 2-х и 24-и часовой адгезии на пластиковых чашках с последующим культивированием в течение 18–20-и суток. Моделирование раневого процесса на коже у крыс проводили по методу Курилко Н.Л. и др. (2009) путем нанесения раны размером 8–9 мм. Моделирование АЭМ проводилось по методу Лисяного Н.И., Бельской Л.Н. (2001). Адгезивные клетки, предшественники МСК, полученные из жировой ткани и костного мозга, введенные в область кожной раны, тормозят процесс ее заживления на 4–5 дней, тогда как клетки 16–20-и суток культивирования, представляющие собой пролиферирующие фибробласты, ускоряют регенерацию кожи и способствуют более быстрому, на 2–3 дня, заживлению кожной раны. Введение длительно культивируемых клеток жировой ткани крысам на 7, 9, 11 сутки после индукции АЭМ, вызывало торможение развития АЭМ и подавляло интенсивность аутоиммунных реакций к нейроантигенам. Супернатанты клеточных культур адгезивных клеток ранних и поздних сроков культивирования обладали также различной биологической

активностью, в частности, последние достоверно угнетали реакцию трансплантант против хозяина в мыши F1 (CBAxC57BL).

Выводы. Адгезивные клетки костного мозга и жировой ткани обладают различной биологической активностью и способны как усиливать, так и тормозить регенетивные и иммунные процессы. Их активность зависит от сроков культивирования, дозы вводимых клеток и биологической модели, на которой изучается регенеративный процесс. Учитывая изменяющуюся активность адгезивных клеток в процессе культивирования и превращение их в МСК, можно предполагать прохождение ими нескольких стадий их трансформации от адгезивной клетки, так называемых «спящих» предшественников МСК к пролиферирующих, способных к трансдифференцировке МСК. Показано, что помимо самих МСК и их предшественников различной биологической активностью обладают и их гуморальные факторы, накапливающиеся в питательной среде в процессе культивирования – это указывает еще на одно научно-практическое направление – получение геноинженерных продуктов МСК и разработка показаний к их применению в регенеративной медицине.

ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ ЛЕЧЕНИЕ МЕТОДАМИ КЛЕТОЧНОЙ, ТКАНЕВОЙ И ОРГАННОЙ ТЕРАПИИ

Лубяко А.А.

ФГБУ «НИЦ КиР» ФМБА России, г. Сочи, Россия
354024 Краснодарский край, г. Сочи, ул. Дорога на Большой Ахун, дом 14
тел. +7 (862) 261-95-56; lubyako@rambler.ru; lubyako@bk.ru

Возможность нормализации функции и восстановления структуры того или иного органа, системы органов и тканей всегда была ключевой задачей для врача в борьбе за здоровье человека. С этой целью разрабатываются новые лекарственные средства, внедряются инновационные технологии, обращённые к тонким механизмам действия, генезу патологического процесса. Формируется фундаментальный подход патофизиологического лечения на новом уровне знаний. Одним из таких способов является органотерапия, издревле использующая биологически активные вещества (БАВ), получаемые из органов, тканей или экстрактов животных и человека.

Цель настоящей работы: изучение тонких механизмов действия одного из способов органотерапии, основанного на применении в качестве лечебного средства БАВ, получаемых путём 45-ти минутной изолированной экстракорпоральной перфузии ксеногенного биоматериала и оценка эффективности такого действия в эксперименте и клинике.

Материалы и методы. Экспериментальная часть исследования выполнена на белых мышах, беспородных крысах, новорожденных поросятах и обезьянах макаках резус. Клиническая часть работы обобщает опыт 1472 операций и процедур, выполненных на 1198 пациентах широкого нозологического спектра заболеваний, в том числе неизлечимых, трудноизлечимых, а также профессиональных и профессионально обусловленных.

Вывод. Применение БАВ позволяет наиболее полно использовать резервные возможности организма, его органов, тканей и систем, привлечь их к процессу восстановления структуры и функции «органа-мишени» до уровня референтных значений в качестве основного или вспомогательного способа патофизиологического лечения. При этом организм пациента становится более устойчивым к повторному действию фактора, вызвавшего первичное заболевание и более адаптивным к факторам действия иной природы.

ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ СВОЙСТВА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO

Лупатов А.Ю.[1], Каралкин П.А.[1], Савилова А.М.[2], Захаров А.В.[2], Верясов В.Н.[2], Вахрушев И.В.[1], Быстрых О.А.[2], Полтавцева Р.А.[2], Ярыгин К.Н.[1], Сухих Г.Т.[2]

1 – ФГБУ «ИБМХ» РАМН, Россия, Москва, ул. Погодинская, 10, тел. +7 (499) 246-86-22, bio_cell@mail.ru
2 – ФГБУ «ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, 4.

Использование аутологичных стволовых клеток для целей клеточной терапии, позволяет избежать опасности иммунологических реакций у пациента. Однако с возрастом количество стволовых клеток снижается, значительно уменьшаются их пролиферативный и дифференцировочный потенциалы. В качестве альтернативы могут быть использованы аллогенные источники клеточного материала, включая внезародышевые ткани. В связи с этим, исследование взаимоотношения аллогенных стволовых клеток и клеток иммунной системы становится чрезвычайно актуальным.

Целью данной работы явилось исследование влияния аллогенных стволовых клеток различного происхождения на такие ключевые процессы развития адаптивных иммунных реакций, как дифференцировка и созревание дендритных клеток (ДК) и пролиферативный ответ лимфоцитов.

Материалы и методы. ДК дифференцировали из моноцитов крови в присутствии GM-CSF и IL-4. Дальнейшее созревание ДК проводили, добавляя в среду TNFα и PGE2. Наличие дифференцировочных маркеров и маркеров созревания на клетках оценивали методом проточной цитометрии. Для стимуляции пролиферации лимфоцитов использовали поликлональный митоген ФГА. Культуры стволовых клеток были предварительно исследованы на способность к разнонаправленным дифференцировкам и экспрессию характерных поверхностных маркеров. Обработанные митомицином С стволовые клетки использовали в опытах по сокультивированию с иммунными клетками.

Результаты. Было установлено, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) из взрослых тканей: костного мозга, жировой ткани, пульпы молочного зуба, а также из

внезародышевых тканей: Вартонова студня пупочного канатика, амниотической оболочки, стромы ворсин хориона практически полностью подавляют дифференцировку ДК из моноцитов крови. МСК из ткани эндометрия и трофобласта, а также нейральные стволовые клетки не оказывали влияние на дифференцировку ДК. При этом ни одна из культур клеток не подавляла созревание ДК. Интересно, что МСК из ткани эндометрия и трофобласта, не способные подавлять дифференцировку ДК, в отличие от других культур, стимулировали пролиферацию аллогенных лимфоцитов. Таким образом, выявлены иммунологические отличия стволовых клеток различного происхождения, которые следует учитывать при разработке методов клеточной терапии.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИГРАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Ким И.И., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.

ФГБУ «НИИКЭЛ» СО РАМН; ФГБУ «ННИИПК им. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, Россия
Новосибирск, ул. Тимакова, 2, тел. +7 (383) 333-64-09,
lykovalex@freemail.ru

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) применяются для терапии хронической ишемии миокарда в силу их способности дифференцироваться в миокардиоциты и репарации поврежденных участков миокарда. Известно, что функциональная активность ММСК зависит от паракринного эффекта продуцируемых ММСК цитокинов и ростовых факторов, в том числе и эритропоэтина.

Целью исследования стало изучение влияния ростовых факторов на горизонтальную миграцию ММСК человека в режиме реального времени.

Материалы и методы. Миграцию ММСК (2–6 пассаж) от больных с ИБС с III–IV NYHA исследовали в тесте заживления раны в питательной среде с минимальным содержанием сыворотки (1%) и наличия 30% надосадочной культуральной среды от клеток эндотелиальной линии EA.Hy926,30 Ед/мл рекормона и 5 мкг/мл мирцеры на аппарате Cell-IQ.

Результаты. Показано, что горизонтальная миграция ММСК статистически значимо выше при добавлении к клеткам 30% кондиционной среды от клеток эндотелиальной линии EA.Hy926, по сравнению с уровнем спонтанной миграции ММСК (28,5; 17,0–30,0% и 51,0; 50,0–60,0%; соответственно площадь не покрытия раневой поверхности ММСК; p=0,045). Также, статистически значимо выше скорость закрытия раневой поверхности ММСК в присутствии рекормона (30,0; 21,0–34,0% не покрытия раневой поверхности; p=0,045). Скорость закрытия ММСК раневой поверхности в присутствии мирцеры существенно не отличалась от спонтанного уровня репарации раны (69,0; 63,0–73,0% не покрытия раневой поверхности). Необходимо добавить, что скорость покрытия ММСК раневой

поверхности в присутствии мирцеры была статистически ниже, чем при добавлении к ММСК кондиционной среды или рекормона (p=0,045).

Таким образом, миграционная способность ММСК зависела от наличия в культуральной среде паракринных факторов, продуцируемых EA. Hy926 и в частности, эритропоэтина.

ЭФФЕКТ ЖИДКОГО НИТРОГЛИЦЕРИНА НА МИГРАЦИОННУБ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА EA.HY926 ПО ДАННЫМ КЛЕТОЧНОГО ИМПЕДАНСА В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Ким И.И., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.

ФГБУ «НИИКЭЛ» СО РАМН; ФГБУ «ННИИПК им. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, Россия
Новосибирск, ул. Тимакова, 2, тел. +7 (383) 333-64-09, l ykovalex@freemail.ru

Известно, что эндотелиальные клетки обеспечивают процесс неоангиогенеза, опосредуемый через пролиферацию и миграцию эндотелиальных прогениторных клеток, функциональная активность которых зависит от ряда биологически активных веществ, в том числе и от оксида азота.

Целью исследования стал анализ миграционной активности клеток эндотелиальной линии EA.Hy926 на клеточном анализаторе xCELLigence System в присутствии жидкого нитроглицерина.

По изменению клеточного импеданса клеток эндотелиальной линии EA.Hy926 на аппарате xCELLigence System в двухуровневых камерах оценивали миграционную активность клеток эндотелиальной линии EA.Hy926, выражаемого в клеточном индексе (КИ). Изучали влияние на миграционный потенциал клеток эндотелиальной линии EA.Hy926 наличия сыворотки, 30% кондиционной среды (КС) от ЭПК пациентов с ИБС и 100 мкг/мл жидкого нитроглицерина в ППС.

Результаты. Миграция клеток EA.Hy926 в присутствии жидкого нитроглицерина была статистически значимо выше в сравнении с миграцией клеток при низком содержании сыворотки (1%) (КИ=0,96 и КИ=0,0513 соответственно; p=0,01). Также миграция клеток EA.Hy926 в присутствии жидкого нитроглицерина была статистически значимо выше по сравнению с миграцией клеток культивировавшихся в присутствии 10% сыворотки (КИ=0,96 и КИ=0,64 соответственно; p=0,04). В тоже время, миграция клеток EA.Hy926 в присутствии жидкого нитроглицерина была статистически значимо ниже по сравнению с миграцией в присутствии 30% кондиционной среды (КИ=0,96 и КИ=1,26 соответственно; p=0,01).

Таким образом, показано значение жидкого нитроглицерина для миграции эндотелиоцитов.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ СОЗДАНИИ ТКАНЕ-ИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДЕФЕКТОВ СУСТАВНОГО ХРЯЩА

Люндуп А.В., Елистратов П.А., Иванников С.В., Жарова Т.А., Тельпухов В.И., Тоненков А.М., Данилевский М.И., Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Николенко В.Н.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел. +7 (495) 609-14-00,
lyundup@gmail.com

Актуальность. Разработка технологий получения функционального гиалинового хряща актуальна для коррекции дефектов хрящевых поверхностей крупных суставов. Одними из перспективных клеток-предшественников хондробластов являются мезенхимальные стромальные клетки (МСК) костного мозга.

Цель. Оценить эффективность двух способов хондробластной дифференцировки МСК костного мозга человека для создания тканеинженерных конструкций. Дать морфологическую оценку получаемого из дифференцированных клеток органоида.

Материалы и методы. МСК выделяли из костного мозга человека. Клетки первые 2 пассажа культивировали в среде альфа-МЕМ с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки, глутамина, антибиотиков в инкубаторе с высокой влажностью и 5% CO2. Дифференцировку проводили, культивируя клеточный осадок 2 недели в пробирках, следующим образом: в контроле для культивации использовали неполную хондрогенную среду (НХС) – DMEM-HG ~89%, FBS 10%, ITS+, 10 mM дексаметазон, антибиотик. В экспериментальных образцах использовали полную хондрогенную среду – НХС с добавлением факторов роста TGF-β2 и BMP-6 в различных концентрациях.

Результаты. В экспериментальных образцах, где в культуральную среду были добавлены TGF-β2 и BMP-6, клеточно-матриксное соотношение сдвигается в сторону матрикса, что указывает на дифференцировку клеток в направлении более зрелых фибробластоподобных и хондробластоподобных элементов, активно синтезирующих компоненты матрикса. При добавлении к среде увеличенного количества TGF-β2 формируется тканеподобная структура, имеющая черты незрелого фиброзного хряща.

Выводы. При создании тканеинженерных конструкций можно путем изменения факторов дифференцировки получать из МСК органоиды с разным содержанием гиалиновых хрящевых структур.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННОЙ СОСУДИСТОЙ МАТРИЦЫ И КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ЩЕКИ

Люндуп А.В., Данилевский М.И., Елистратов П.А., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Гуллер А.Е., Бутнару Д.В., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел. +7 (916) 777-32-31,
butnaru_dv@mail.ru

Актуальность. Современные исследования в области тканевой инженерии демонстрируют высокую эффективность использования природных матриц для создания конструкций, в том числе для заместительной уретропластики. Слизистая оболочка щеки является доступным источником аутологичных эпителиоцитов для получения тканеинженерной конструкции.

Цель. Оценить возможность создания тканеинженерной конструкции на основе децеллюляризированной трупной артериальной стенки и культивированных клеток слизистой оболочки щеки.

Материалы и методы. В качестве матрицы была использована децеллюляризированная путем механической, химической и ферментативной обработки трупная артерия человека. Клетки выделяли из фрагмента слизистой щеки размером 5×5 мм с использованием 0,2% раствора диспазы. Выделенные клетки культивировали в полной культуральной среде, состоящей из бессывороточной среды Keratinocyte-SFM (Gibco®) с добавлением инсулина в концентрации 5 мкг/мл, гидрокортизона 5 мкг/мл, эпидермального фактора роста 10 нг/мл, холерного токсина 10–10 М, трансферрина 5 мг/мл, аденина 1,8х10–4 М, лиотиронина 2х10–11М; в увлажненной среде при температуре 37°С в СО2-инкубаторе при содержании СО2 5%. При высевании на матрицу был использован 3 пассаж эпителиоцитов.

Результаты. Морфологическое исследование децеллюляризированнной сосудистой матрицы после 7 суток культивирования на ней эпителиоцитов показало, что клетки формируют слой на поверхности матрицы, при этом клетки не проникают во внутренние слои матрицы.

Выводы. Децеллюляризированные сосудистые матрицы и эпителиоциты слизистой щеки пригодны для создания тканеинженерных конструкций.

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ И АПОПТОЗ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ПОСЛЕ АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Мавликеев М.О., Плотников М.В., Газизов И.М., Гумерова А.А., Максимов А.В., Киясов А.П.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия
Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, д.18., +7 (843) 233-71-09.
public.mail@kpfu.ru

Проблеме поиска современных методов лечения хронической артериальной недостаточности (ХАН) уделяется в последние годы большое внимание, ведутся многочисленные исследования генных и клеточных методов лечения ХАН.

Цель исследования – изучение пролиферативного ответа и апоптоза в мышечной ткани пациентов с ХАН после аутотрансплантации стволовых клеток периферической крови (СКПК).

Материалы и методы. Парафиновые срезы биоптатов икроножной мышцы 30 пациентов с ХАН IIБ степени, полученных до и через 3 месяца после внутримышечной трансплантации СКПК, окрашивали иммуногистохимически с антителами к CD34, ядерному антигену пролиферирующих клеток, каспазе 3, Bcl-2, проводили морфологический анализ окрашенных срезов.

Результаты. Анализ биоптатов выявил увеличение плотности капиллярной сети на 22,4% (p=0,0005). Значительный прирост плотности капиллярной сети (на 58,6±31,1%) сопровождал активную пролиферацию миосателлитоцитов, при меньших значениях прироста (10,3±26,7%) активная пролиферация не выявлена. Экспрессия каспазы 3 существенно не отличалась до и после трансплантации: были обнаружены отдельные сосуды и миосателлитоциты с позитивными ядрами. Морфологический анализ показал увеличение числа Bcl-2-позитивных клеток, причем до трансплантации Bcl-2 экспрессировали отдельные клетки в интерстиции, а после трансплантации – скопления молодых мышечных волокон и миосателлитоцитов.

Таким образом, трансплантация СКПК ведет к увеличению плотности капиллярной сети, значительный прирост которой, вероятно, вызывает пролиферацию миосателлитоцитов и предотвращает апоптоз мышечных клеток.

ИНЪЕКЦИОННЫЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СТРЕССОВОГО НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ

Макаров А.В., Фатхудинов Т.Х., Арутюнян И.В., Тетерина Т.А., Аполихина И.А., Попов В.К., Богородский С.Э.

ФГБУ «НЦАГиП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия
Москва, ул. Академика Опарина, 4, тел. +7 (903) 256-34-04, a_makarov@oparina4.ru

Актуальность. В связи с развитием клеточных технологий и регенеративной медицины разрабатываются новые подходы лечения стрессового недержания мочи, основанные на трансплантации стволовых/прогениторных клеток и тканеинженерных конструкций (ТИК). За последнее десятилетие накоплено большое количество экспериментальных данных, демонстрирующих эффективность трансплантации различных типов клеточных культур на разнообразных моделях стрессового недержания мочи.

Целью настоящей работы является создание инъекционной формы тканеинженерной конструкции для лечения урогинекологических заболеваний.

Материалы и методы. В качестве основы формообразующего препарата для создания тканеинженерной конструкции нами исследован ряд возможных носителей на основе гемостатической желатиновой губки, декстраномера и гиалуроновой кислоты, сополимеров молочной и гликолевой кислот. Проведены исследования материалов на цитотоксичность, способность к адгезии и пролиферации различных клеточных культур и носителей, резорбции материалов в условиях in vitro и in vivo. Проведено экспериментальное исследование на лабораторных животных.

Результаты. Показано отсутствие цитотоксичности исследуемых материалов, высокие адгезивные свойства. Охарактеризованы клеточные культуры, перспективные для применения в области регенеративной терапии стрессового недержания мочи. Показана эффективность использования суспензионных тканеинженерных конструкций у лабораторных животных.

Выводы. Использование именно суспензионных форм тканеинженерных конструкций обеспечивает повышение выживаемости клеток при трансплантации; ограничивает миграцию клеток в области введения; клеточные культуры, прикрепленные к поверхности носителя, более активно пролиферируют и синтезируют межклеточное вещество и сигнальные молекулы; кондуктивные свойства носителя стимулируют миграцию собственных незрелых клеток и образование экстрацеллюлярного матрикса.

ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО КОМПОНЕНТА КОМБИНИРОВАННЫХ БИОТРАНСПЛАНТАТОВ НА ОСНОВЕ ГУБЧАТОЙ КОСТИ

Макаров М.С., Конюшко О.И., Боровкова Н.В., Миронов А.С., Хватов В.Б.

ГБУЗ НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, ДЗ г. Москвы
Москва, Б. Сухаревская пл., д. 3, тел. 625-38-97, mcsimmc@yandex.ru

Актуальность. Разработка и применение клеточно-тканевых трансплантатов на основе деминерализованного губчатого вещества кости, содержащего живые клетки человека, является перспективной в современной травматологии. При этом определенную трудность представляет процедура заселения кости клетками.

Цель работы: провести морфофункциональное исследование клеток человека в составе биотрансплантата губчатой кости при различных условиях культивирования.

Материалы и методы. Культуру фибробластов человека линии М-22 выращивали в стандартных 6-ти луночных планшетах в присутствии образцов деминерализованной губчатой кости размером 1х1х2 см в течение 7 суток. В работе использовали образцы трансплантата кости (ТК), ТК с коллагеном I-го типа, ТК с коллагеном I-го типа, обработанного фибринолитически активной плазмой (ФАП) человека. Общее количество прикрепленных клеток на единицу площади трансплантата (тыс. на 1см^2) определяли с помощью метода морфофункциональной оценки клеточного компонента биотрансплантатов (Патент РФ на изобретение №2484472), который основан на окрашивании мембран клеток с помощью витальных флуорохромных красителей.

Результаты. Содержание фибробластов линии М-22 в образцах ТК было очень низким и не превышало 0,1–0,2 тыс/см^2 в течение всего срока культивирования. В то же время в образцах ТК с коллагеном количество прикрепленных клеток на 2-е сутки культивирования составило 2 тыс/см^2, на 4-е – 3 тыс/см^2, на 5-е – 4 тыс/см^2, после чего менялось незначительно. Предварительное выдерживание образцов ТК с коллагеном в ФАП приводило к усилению пролиферативной активности фибробластов – их содержание в биотрансплантатах увеличивалось с 2 тыс/см^2 на 2-е сутки до 9 тыс/см^2 на 5-е сутки, и затем значимо не менялось вплоть до 7 суток культивирования.

Выводы. Обработка деминерализованной губчатой кости коллагеном I-го типа значительно повышает адгезию фибробластов человека на ее поверхности. Дополнительная обработка губчатой кости с коллагеном ФАП позволяет в 2–3 раза увеличить пролиферативную активность клеток в составе такого биотрансплантата.

КАРДИОЛОГИЧЕСКАЯ СИСТЕМНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ — ЗАЛОГ МЕДИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ В РЕГИОНЕ

Малышев В.К.

Новые пищевые технологии «СОЗВЕЗДИЕ»
Самара, ул. Академика Павлова, 35, тел. +7 (846) 331-33-87
vladimir.malyshev@sozvesdie.su

Целью настоящего исследования является оценка эффективности ревитализационных и регенерационных процессов в организме человека при включении в комбинированную терапию больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями сбалансированного питания.

Материалы и Методы: в работе использованы запатентованные методики по управлению биологическим возрастом (БВ) человека, определению и коррекции возрастных изменений сердечно-сосудистой системы с помощью функционального питания (патенты РФ: 2423873, 2456824, 2463948, 2470528, 2481815, 2483745, 2489038).

Результаты: по программе «Активное долголетие» нашли клиническое применение следующие десять методов определения БВ: по вариабельности показателей кардиосинхронизированного механизма в кровеносных сосудах, по эхокардиографии, по биоэлектрической активности головного мозга, по изменениям плотности костной ткани, по показателям импедансметрии, по спирографии, по физической работоспособности, по умственной работоспособности, по антропометрии, по анализу крови. Демографический подход в управлении БВ позволяет проводить мониторинг эффективности проводимого медикаментозного и немедикаментозного лечения, скорости регенеративных процессов, а также ревитализационных мероприятий.

Взаимосвязь кардиобиопоказателей и кардиобиомаркеров с генетической, математической и биофизической оценками влияния фактора случайного мутагенеза как на геном человека в процессе жизнедеятельности, так и на популяцию в целом, позволяет оценивать степень и характер влияния полиморбидных заболеваний на скорость старения сердечно-сосудистой системы.

Выводы: 1) кардиологический лечебно-диагностический алгоритм во взаимосвязи с мониторингом БВ человека позволяет оценивать эффективность проводимого медикаментозного и немедикаментозного лечения (сбалансированного питания), ревитализационных мероприятий, а также скорость регенеративных процессов;

2) мониторинг ускоренного старения сердечно-сосудистой системы человека напрямую связан с определением приоритетных направлений медико-демографической стабильности в регионе.

ХРОНИЧЕСКАЯ ИШЕМИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА: РЕВИТАЛИЗАЦИОННАЯ РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ «САМАРСКИЙ ЗДОРОВЯК»

Малышев В.К.

Новые пищевые технологии «СОЗВЕЗДИЕ»
Самара, ул. Академика Павлова, 35, тел. +7 (846) 331-33-87
vladimir.malyshev@sozvesdie.su

Целью исследования является разработка диетического, профилактического и функционального питания при хронической ишемии головного мозга (ХИГМ).

Материалы и Методы: в настоящей работе использовались авторские патентные методики и инновационные технологии (патент РФ 2423873) и инновационные сбалансированные продукты для профилактики ХИГМ (патент РФ 2489038).

Результаты и обсуждение: в состав функционального продукта питания (ФПП) «Самарский здоровяк» при ХИГМ человека входит экологическое цельнозерновое и фитонатуральное сырье. Компоненты находятся в следующем соотношении, г/100 г готового сухого продукта:

1) зерно твердой пшеницы 19,5–20,5,
2) зерно ржи 19,5–20,5,
3) соя (окара) 19,5–20,5,
4) чечевица 10,5 -11,0,
5) семена льна 5,0–5,5,
6) расторопша 5,0–5,5,
7) топинамбур 2,5–2,75,
8) арбузные семена 2,5–2,75,
9) грецкие орехи 2,5–2,75,
10) кедровые орехи 2,5–2,75,
11) мед (перга) 2,5–2,75,
12) спирулина 2,5–2,75,
13) ламинария 2,5–2,75,
14) порошок женьшеня 0,5–0,75,
15) порошок каменного масла 0,5–0,75.

Вывод: в комбинированной терапии ХИГМ целесообразно применять ФПП «Самарский здоровяк», необходимый для профилактической ревитализации вазоактивной, нейрометаболической и нейропротективной функций головного мозга человека.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПОЗИЦИОННОГО БИОМАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ФИБРИНОВОГО ГИДРОГЕЛЯ И ГРАНУЛ ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТА В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЯ АУТОЛОГИЧНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА КРОЛИЧЬЕЙ МОДЕЛИ

Мамонов В.Е.[1], Дризе Н.И.[1], Чемис А.Г.[1], Берковский А.Л.[1], Сац Н.В.[1], Проскурина Н.В.[1], Каргальцев А.А.[1], Комлев В.С.[2]

1 – ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России
2 – Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук (ИМЕТ РАН)

Актуальность. Создание носителей, способных обеспечивать клеточную инвазию и пролиферацию во всем объёме биоматериала является актуальной проблемой тканевой инженерии костной ткани.

Цель. Доказать возможность клеточной инвазии и пролиферации культивированных аутологичных мезенхимных стромальных клеток в композиционном биоматериале на основе фибринового гидрогеля и гранул трикальцийфосфата (ТКФ) на кроличьей модели.

Материалы и методы. В составе композиционного материала использовали пористые гранулы бета-ТКФ, размером 250 мкм, общей пористостью 70%, размеры макропор варьировали от 150 до 50 мкм, микропор от 10 до 50 мкм. Концентрат фибриногена получали из криопреципитата человеческой свежезамороженной плазмы. Проводили двойную вирусинактивацию. Состав препарата: 50 мг/мл фибриногена, 20 – 30IU/мл фактора XIII, 2–5 мг/мл фибронектина. Для получения раствора к лиофилизированному препарату добавляли 2 мл дистиллированной воды для инъекций. Тромбин для полимеризации фибриногена получали из криосупернатанта человеческой свежезамороженной плазмы. Высокоочищенный тромбин также подвергали двойной вирусной инактивации. Состав препарата: человеческий – α-тромбин с удельной активностью 1500–1800 IU/мг белка – 500 IU/мл. Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (ММСК) получали из костного мозга дистального мыщелка бедра кролика посредством культивирования в питательной среде без дифференцировки. Одну десятую часть трансплантируемых ММСК трансдуцировали с помощью концентрированного (108 вирусных частиц/мл) LeGO вектора третьего поколения, кодирующего зеленый флуоресцентный белок (EGFP). Композиционный биоматериал получали посредством смешивания 1 мл раствора фибриногена с 1 мл гранул ТКФ. В раствор фибриногена предварительно помещали 3,6х106 ММСК виде взвеси, из которых 5% клеток были мечены EGFP. Полученный состав фиксировали добавлением 20 Ед тромбина. Композиционный биоматериал представлял собой плотно-эластичную субстанцию, которую делили на две части. Первую помещали в критический дефект лучевой кости кролика (сегментарная резекция 10 мм средней трети диафиза), вторую – подкожно. Длительность эксперимента составила 16 недель.

Результаты. В течение всего периода наблюдения не было отмечено воспалительных реакций в области операции. Макроскопически биоматериал окружен тонкой соединительной тканью с прорастанием сосудов. В зоне критического костного дефекта признаки новообразования кости наблюдали по периферии биоматериала. На гистологических срезах отмечено прорастание всего объёма материала низкодифференцированной соединительной тканью и сосудами. На поверхности керамических гранул ТКФ были расположены многоядерные клетки моноцитарно-макрофагального ряда. При ПЦР исследовании биоматериала показано наличие метки EGFP во всех образцах.

Выводы. Композиционный материал на основе фибринового гидрогеля с пористыми гранулами ТКФ обладает способностью обеспечивать клеточную инвазию и пролиферацию внутри самого материала. Культивированные ауто-ММСК сохраняют свою жизнеспособность и участвуют в регенеративных процессах внутри композиционного материала. Фибриновый гидрогель в составе композиционного материала обеспечивает быстрое прорастание сосудов и клеточную пролиферацию, являясь, таким образом, «быстрым» кондуктором клеточных элементов. Гранулы ТКФ, имея меньшую скорость резорбции, сохраняют форму материала и могут, за счет своих остеокондуктивных свойств, служить основой для новообразования костной ткани («медленный» кондуктор). Добавление в данную систему остеоиндуктивного фактора – клеточного, либо молекулярного – может создать высокоэффективную костезамещающую тканеинженерную конструкцию.

ВЛИЯНИЕ NO-СОДЕРЖАЩЕГО РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И СОСТОЯНИЕ ЛОКАЛЬНОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖОГОВОЙ РАНЕ

Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Соловьева А.Г., Мельникова Н.Б.[1], Перетягин П.В., Славкина В.М.[1]

ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
Н. Новгород, Верхне-Волжская наб., 18/1,
тел. +7 (831) 436-25-31, cryst-mart@yandex.ru
1ГБОУ ВПО «НижГМА» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

Целью исследования служило изучение характера действия NO-содержащих раневых покрытий на метаболический ответ организма и состояние микроциркуляторного русла в экспериментальной ожоговой ране.

Методы. Нами сформировано 2 группы животных (крысы линии Вистар; n=10 в каждой): крысам контрольной группы моделировали ожог кипятком по собственной методике (Перетягин С.П. с соавт., 2012), а затем проводили ежедневное лечение мазью, содержащей фурацилин. Животным основной группы, которым также моделировали контактный ожог, местное лечение осуществляли мазью, включающей нитрозильные комплексы

цитохрома С. Выведение крыс из эксперимента осуществляли на 14-е сутки с момента нанесения травмы.

Оценивали состояние про- и антиоксидантных систем крови методом Fe- биохемилюминесценции на аппарате БХЛ-06. Спектрофотометрически исследовали активность супероксиддисмутазы по методу Т.В. Сироты (1999). Состояние микроциркуляции изучали с помощью лазерной допплеровской флуометрии («ЛАКК-М»). Статистическую обработку данных производили с применением Statistica 6.0.

Результаты. Установлено, что применение местного лечения ожоговой раны, включающего донор монооксида азота способствует развитию как системных адаптивных реакций (нормализация баланса про- и антиоксидантных систем, стимуляция активности супероксиддисмутазы), так и оптимизации локальной микроциркуляции на раневой поверхности (нарастание показателя микроциркуляции, активация ее эндотелий-зависимых регуляторных механизмов). При этом данная тенденция значимо более выражена по сравнению с животными контрольной группы, лечение которых проводили мазью, содержащей только антибактериальный компонент ($p<0,05$).

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ NO ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАТОРНЫХ И РЕАДАПТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ

Мартусевич А.К.

ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
Н. Новгород, Верхне-Волжская наб., 18/1, тел. +7 (831) 436-25-31,
cryst-mart@yandex.ru

Многогранная роль монооксида азота (NO) как универсального биорегулятора состояния организма предопределяет возможность коррекции его уровня для обеспечения регуляции физиологических и метаболических процессов. В то же время непосредственные источники NO используют в медицине лишь в единичных случаях. Практически единственным подобным примером является NO-генератор «Плазон», создающий газовый поток с концентрацией монооксида азота (500 ppm и выше). Хотя в литературе имеются сообщения об эффективности его наружного применения, известно, что реальный уровень NO на 1–2 порядка ниже. Поэтому целью наших изысканий служит поиск и изучение возможностей альтернативных вариантов NO-терапии для различных задач биомедицины, в т.ч. для регенеративной медицины. Для обеспечения более адекватной доставки организму NO принципиально возможны 3 варианта регуляции эндогенного уровня соединения: экзогенное поступление малых количеств NO; введение депонированных форм NO с постепенным его высвобождением; стимуляция эндогенного синтеза и/или высвобождения NO из депо.

Следует отметить, что для всех указанных путей существуют технические средства реализации. Так, для генерации низких концентраций NO (20–100 ppm) создан специаль-

ный аппарат. Депонированные формы монооксида азота представлены динитрозильными или цитохромовыми комплексами железа. Стимуляция эндогенного синтеза NO может быть проведена фармакологически либо физическими факторами.

Нами было показано, что приведенные альтернативные варианты регуляции уровня NO обладают значительно более «мягким», адаптогенным действием на биожидкости in vitro и организм здоровых и имеющих травму животных по сравнению с эффектами высоких концентраций NO по параметрам энергетического метаболизма, ферментных систем детоксикации, баланса про- и антиоксидантных систем и др. Все вышеперечисленное создает благоприятные предпосылки для их успешного применения в качестве инструмента регенеративной медицины.

ЭНЗИМОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ИНГАЛЯЦИЙ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА СОСТОЯНИЕ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ТЕРМОИНГАЛЯЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ

Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Мартусевич А.А., Перетягин С.П.

ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
Н. Новгород, Верхне-Волжская наб., 18/1, тел. +7 (831) 436-25-31,
cryst-mart@yandex.ru

Целью исследования явилось изучение особенностей функционирования лактатдегидрогеназы легких при термоингаляционной травме и ее лечении ингаляциями синглетного кислорода (СК).

Методы. Было сформировано 3 группы крыс линии Вистар (n=10 в каждой), первая из которых являлась интактной (не проводили никаких манипуляций). Животным второй (контрольной) группы моделировали термоингаляционную травму по собственной методике (Перетягин С.П. с соавт., 2010,2011), проводили ежедневные внутрибрюшинные инфузии физиологического раствора. Крысы третьей (основной) группы, кроме инфузионной терапии, получали ежедневные ингаляции синглетно-кислородной смесью (10 процедур продолжительностью 10 минут каждая). Генерацию синглетного кислорода осуществляли с использованием аппарата «Airnergy» (Германия) при 100% мощности. Выведение животных из эксперимента производили путем декапитации под наркозом на следующий день после завершения полного курса ингаляций. В гомогенатах легких определяли активность ЛДГ в прямой (ЛДГпр) и обратной (ЛДГобр) реакциях по методу Г.А. Кочетова. Гомогенаты приготавливали с использованием гомогенизатора IKA Ultra Turrax (Германия). Полученные данные были подвергнуты статистической обработке в программном пакете Statistica 6.0.

Результаты. Установлено, что в гомогенатах легких крыс контрольной группы регистрировали умеренную активацию ЛДГпр ($p<0,05$), которая компенсировалась практически двухкратным увеличением активности ЛДГобр ($p<0,05$), приводя к накоплению лактата. В то же время применение синглетного кислорода обеспечивало пропорциональную стимуляцию каталитической активности фермента в обеих реакциях. Таким образом, включение ингаляций синглетного кислорода в схему лечения комбинированной термической травмы обеспечивает стимуляцию энергетического обмена в ткани легких.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ ФРАКЦИИ МАЛОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ИЗ ПУПОВИННОЙ КРОВИ

Маслова Е.В., Андреева Е.Р., Романов Ю.А., Буравкова Л.Б.

ГНЦ РФ – ИМБП РАН, Москва, Россия
Москва, Хорошевское шоссе, 76а, тел. +7 (499) 195-65-44,
evmaslova@mail.ru

Актуальность. Одним из основных ограничений применения пуповинной крови является недостаточное количество ранних гемопоэтических предшественников. Использование стромальных клеток, сходных с клетками кроветворного микроокружения in vivo, для обогащения мононуклеаров пуповинной крови (пкМНК) гемопоэтическими предшественниками in vitro является целесообразным с точки зрения физиологии и может быть востребовано для клинического применения.

Цель. Разработка методических подходов для получения фракции пкМНК, обогащенной малодифференцированными гемопоэтическими предшественниками с использованием мезенхимальных стромальных клеток, выделенных из жировой ткани (жтММСК).

Материалы и методы. Проводили кратковременное сокультивирование (72 часа) пкМНК и жтММСК, после чего удаляли суспензионную фракцию клеток. Оценивали способность к экспансии адгезирующей фракции пкМНК. В работе определяли жизнеспособность в тесте LIVE/DEAD, механизмы клеточной гибели с использованием набора Annexin V-FITC/PI, проводили гистологическое окрашивание методом по Гимзе, колониеобразующий тест с использованием среды MethoCult H4034 Optimum, а также выявляли клетки, образующих области булыжника (КООБ).

Результаты. жтММСК поддерживали жизнеспособность пкМНК, в том числе малодифференцированных гемопоэтических предшественников. Адгезирующая фракция пкМНК при дальнейшем культивировании генерировала популяцию ранних предшествен-

ников, содержащую КОЕ и КООБ, а также CD34+ клетки, доля которых в была 205 раз выше, чем в исходных пкМНК.

Выводы. Разработан методический подход на основе использования жтММСК и пкМНК, позволяющий выделить алгезирующие малодифференцированные гемопоэтические клетки. Полученные клетки при дальнейшем культивировании генерирует популяцию, обогащенную гемопоэтическими предшественниками разной степени коммитированности.

ЛИМФОТРОПНАЯ ИММУНОКОРРЕКЦИЯ И СТАДИЙНЫЙ ПОДХОД К МЕСТНОМУ ЛЕЧЕНИЮ ПРИ ВЕНОЗНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВАХ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ

Матвеев Д.В., Семенов С.В., Снигоренко А.С., Абдувосидов Х.А., Ломакин А.А.

1 – ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования
2 – Московский клинический научно-практический центр ДЗМ

Актуальность. Одним из наиболее распространенных заболеваний у людей старше 60 лет является хроническая венозная недостаточность (ХВН) нижних конечностей. Несмотря на достигнутые успехи современной медицины, лечение пожилых больных с трофическими язвами остается актуальным.

Цель исследования. Оценить эффективность комбинированного лечения трофических язв у больных старше 60-ти лет.

Материал и методы. Обследовано 50 больных старше 60 лет, страдающих венозными трофическими язвами. Основная группа – 28 больных, которым применяли лимфотропную иммунокоррекцию препаратом Имунофан, а для местного лечения в течение первых семи дней использовали антисептический препарат Пронтосан, затем липосомально-антиоксидантный комплекс Фламена. У 22 больных контрольной группы иммунокоррекцию не применяли, а для местного лечения в первые 7–10 дней применяли 1% раствор Хлоргексидина, затем Левомиколь.

Результаты. В результате лечения у больных основной группы отмечено уменьшение болевого синдрома на 4–5 день после начала лечения, и полное купирование к 12 суткам; в контрольной группе на 12 и 20 сутки соответственно.

Клинически, в основной группе, у больных на 4–5 день отмечалось выраженное усиление экссудации, на 7–8 сутки отмечалось практически полное очищение язв от фибриновых наложений с появлением сочной и ярко-розовой грануляционной ткани на язвенных поверхностях, а к 15–16 дню от начала лечения появлялись признаки краевой эпителизации язв с уменьшением язвенных дефектов до 25%. У больных контрольной группы такая динамика появлялась намного позже.

Выводы. Использование лимфотропной иммунокоррекции Имунофаном и применение стадийного местного лечения с использованием антисептика Пронтосан и липосомально-антиаксидантного комплекса Фламена снижает сроки лечения на всех стадиях течения раневого процесса.

ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

Матвейчук И.В., Розанов В.В., Литвинов Ю.Ю., Лекишвили М.В., Шутеев С.А.

НИЦ БМТ ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии, ФГБОУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова, ФБГУ НИМЦ «Базис», ФГБУ ЦИТО им. Н.Н. Приорова, Москва, Россия
Москва, ул. Красина, д. 2, тел. +7 (499) 254-45-97, nizbmtvilar@mtu-net.ru

В связи с увеличением случаев травматизма, количества посттравматических и послеоперационных осложнений постоянно растет и потребность в пластическом материале для замещения различных костных дефектов. Для решения этой актуальной проблемы новые эффективные технологии.

Целью данной работы и является разработка и внедрение в практику работы тканевых банков «технологической цепочки» по изготовлению костных имплантатов с использованием современных прогрессивных технологий на всех этапах. Работы ведутся в рамках тематики совместной научной лаборатории Биомедицинских технологий, созданной ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии, физическим факультетом МГУ им. М.В. Ломоносова и ФБГУ НИМЦ «Базис» Минобрнауки РФ на базе НИЦ БМТ ВИЛАР.

На основании результатов многолетних комплексных исследований предложен новый инновационный подход, основанный на использовании современных прогрессивных технологий механической обработки костных фрагментов на основе применения высокоэнергетической гидродинамической резки специально сформированной струей жидкости, химической обработки заготовки с поэтапным контролем качества – степени деминерализации или деорганификации гистоморфометрическим методом, а также структуры и физико-механических свойств методом акустической микроскопии. Кроме того, на всех этапах процесса изготовления имплантатов – начиная с заготовки донорского материала и заканчивая выпуском готового имплантата – должна быть обеспечена высокая степень стерильности, исключающая возможность инфицирования как персонала тканевого банка, так и будущих реципиентов. Для решения этой задачи предлагается использование комплексных технологий стерилизации на базе комбинированного воздействия различных физико-химических факторов, призванных обеспечить эффективную стерилизацию костных имплантатов при одновременном сохранении их высокой остеоиндуктивной способности.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

Матвейчук И.В., Розанов В.В., Денисов-Никольский Ю.И.

НИЦ БМТ ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии, ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова, ФБГУ НИМЦ «Базис» Минобрнауки РФ, Москва, Россия
Москва, ул. Красина, д. 2, тел. +7 (499) 254-45-97,
nizbmtvilar@mtu-net.ru

В последние десятилетия значительно возрос объем реконструктивно-восстановительных операций в травматологии, ортопедии, челюстно-лицевой хирургии ввиду увеличения случаев травматизма, ухудшения экологии, увеличения числа пострадавших в локальных военных конфликтах. Это обусловило возрастание потребности в пластическом материале. Однако, количество костей аллогенного происхождения, соответствующих установленным медико-техническим требованиям, постоянно снижается. Это диктует необходимость создания современных наукоемких технологий, позволяющих удовлетворить спрос на пластический материал, включая альтернативные источники получения костных имплантатов, в частности, ксеноимплантаты.

При решении рассматриваемой проблемы авторы уделяют особое внимание созданию и экспериментальной апробация новых, а также совершенствование существующих технологий создания костных имплантатов на основе комплексного анализа костной ткани как природного биополимера, с учетом концептуальной модели костной ткани, которая рассматривается в качестве многокомпонентной анизотропной гетерогенной среды, имеющей объемную ориентированную систему внутрикостных пространств.

Такая среда способна реагировать на факторы физико-химической и биомеханической природы, а возникающие при этом изменения структуры, композиционного и элементного состава подчиняются коррелирующим с физико-механическими характеристиками закономерностям, которые могут быть учтены в практических приложениях. Экспериментальные данные, полученные при использовании рассматриваемой методологии, являются базисными при установлении критериев и выработке требований к созданию современных имплантатов, в том числе и новых лекарственных форм с использованием костных имплантатов в качестве носителя лекарственных препаратов.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ УРОВНЯ ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ В МОЧЕ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРАКТИВНЫМ МОЧЕВЫМ ПУЗЫРЕМ (РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ)

Махмеджанова Ф.Н., Аполихина И.А., Беснощенко О.С.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Москва, Россия

На сегодняшний день теория денервации возникновения гиперактивного мочевого пузыря остается наиболее актуальной. Нейронам для регенерации необходимы трофические факторы из окружающей ткани, вырабатываемые клетками-мишенями. Причины, которые вызывают симптомы, характерные для гиперактивного мочевого пузыря (ГМП), крайне разнообразны, поэтому очень важна правильная диагностика.

Целью нашего исследования явилось: определить диагностическую значимость фактора роста нервов в моче у женщин с гиперактивным мочевым пузырем.

Материалы и методы исследования: в ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» в период с 2010 по 2013 год были обследованы 84 женщин с идиопатическим ГМП (средний возраст 53.80±1.58 года) и 40 женщин (средний возраст – 53.67±1.70 года) без ГМП, которые составили контрольную группу. Исключения или ограничения, сделанные при идентификации группы с ГМП, были в равной степени применены к контрольной группе. Уровень фактора роста нервов в моче (м-ФРН) определяли методом иммуноферментного анализа. Учитывая вариабельность концентрации мочи, для определения диагностической значимости использовали показатель соотношения уровня фактора роста нервов к креатинину в образцах мочи (м-ФРН/Кр). Количественный анализ данных проводили с применением Microsoft Office Exel 2007 и методов описательной статистики.

Результаты исследования продемонстрировали, что показатель м-ФРН/Кр у женщин с гиперактивным мочевым пузырем без недержания мочи соответствовал 0.033±0.01395 (95% ДИ 0.058; 0.008), у женщин с гиперактивным мочевым пузырем и недержания мочи – 0.037±0.01 (95% ДИ 0.057; 0.017) и был значительно выше показателя м-ФРН/Кр контрольной группы – 0.002±0.0005 (95% ДИ 0.003; 0.001; $p<0.001$). Необходимо отметить, что сопоставление показателей м-ФРН/Кр между группами с ГМП без недержания мочи (0.033±0.01395,95% ДИ 0.058; 0.008) и недержанием мочи (0.037±0.01,95% ДИ 0.057; 0.017) не выявило статистически достоверной разницы ($p>0.05$).

Вывод: уровень фактора роста нервов в образцах мочи у женщин с гиперактивным мочевым пузырем существенно выше относительно аналогичной контрольной группы без гиперактивного мочевого пузыря, что позволяет выявить проблемную зону у женщин с симптомами нарушения функции нижних мочевых путей неинвазивным и универсальным методом лабораторной клинической диагностики.

ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ НА РЕАКТИВНУЮ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ НЕЙТРОФИЛОВ

Маянская И.В., Васильева Е.А., Руднева Е. И., Ашкинази В.И., Толкачева Н.И.

ФГБУ «Нижегородский НИИ детской гастроэнтерологии» Минздрава России
г. Нижний Новгород, ул. Семашко, 22, тел. +7 (831) 436-01-13, immunol@ mail.ru

Фибробласты являются основными клетками соединительной ткани, главная функция которых синтез компонентов внеклеточного матрикса, принимающих участие в тканевой регенерации и воспалительных реакциях.

Цель исследования. Изучить возможность негативного и позитивного праймирования нейтрофилов супернатантами (СН) культур дермальных фибробластов, полученных от здоровых детей и больных болезнью Крона (БК) при их многократном пассировании.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись СН 4 культур фибробластов, полученных из биоптатов кожи двух здоровых детей и двух детей с БК (информированные согласия на проведение данной процедуры имеются). Фибробласты культивировали согласно стандартному протоколу до 6 пассажей. После каждого пассажа забирали СН фибробластов и определяли их влияние на хемилюминесценцию нейтрофилов здоровых доноров в четырех вариантах: контрольные нейтрофилы; нейтрофилы, стимулированные СН фибробластов; нейтрофилы, стимулированные опсонизированным зимозаном (О3); нейтрофилы, стимулированные сочетанием СН+ О3. В последнем случае СН добавляли на 30 мин раньше, чем О3. Хемилюминесценцию нейтрофилов регистрировали на Luminoskan Ascent (Швеция).

Результаты и обсуждение. Воздействие СН фибробластов существенно не влияло на хелмилюминесцию нейтрофилов, но оказывало на них праймирущий эффект, который был выражен неодинаково для различных дермальных фибробластов. Воздействие О3 на праймированные нейтрофилы (праймирование проводили при помощи СН фибробластов, полученных от здоровых детей и одного ребенка с БК (1–6 пассажей) значительно ($p<0.05$) усиливало их реактивность по сравнению с непраймированными нейтрофилами. Исключение составлял только один ребенок с БК, фибробласты которого продуцировали факторы, оказывающие негативный праймирующий эффект на хемилюминесценцию нейтрофилов. Это говорит о том, что продукты, секретируемые фибробластами, могут по-разному влиять на реактивность нейтрофилов, ослабляя или усиливая их воспалительные реакции.

ПРИМЕНЕНИЕ НОВЕЙШИХ МЕТОДОВ ГЕНОМНОЙ ИНЖЕНЕРИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПЕРСПЕКТИВНОЙ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА

Медведев С.П.[1,2,3,5], Елисафенко Е.А.[1,2,3], Устьянцева Е.И.[3,4], Васькова Е.А.[1,2,3], Валетдинова К.Р.[1,3], Стекленева А.Е.[1,2,3], Иванова Л.Н.[1], Покушалов Е.А.[2], Сухих Г.Т.[5], Закиян С.М.[1,2,3]

1 – ФГБУ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия;
2 – НИИПК им. Е.Н. Мешалкина Минздравсоцразвития РФ, Новосибирск, Россия;
3 – ФГБУ ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, Россия;
4 – Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия; 5ФГБУ НЦАГиП им. В.И.Кулакова Минздрава РФ, Москва, Россия
5 _ Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10, тел. +7 (383) 363-49-37 *1005, medvedev@bionet.nsc.ru

Плюрипотентные клетки являются уникальным материалом для изучения патогенеза заболеваний человека на клеточном и молекулярном уровнях, а также имеют огромный потенциал применения в регенеративной медицине. Бурное развитие технологий редактирования геномов, наблюдающееся последние годы, позволяет существенно расширить возможности применения плюрипотентных клеток для создания моделей наследственных заболеваний человека. В частности, данные технологии могут позволить получать модели тяжелых нейродегенеративных заболеваний.

Целью данной работы было создание системы инструментов для получения панели изогенных линий эмбриональных стволовых клеток человека несущих миссенс-мутации в гене SOD1 человека, вызывающих развитие различных форм бокового амиотрофического склероза. В ходе работы были созданы генетические конструкции экспрессирующие искусственные нуклеазы TALENs (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) и компоненты системы CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas9 предназначенные для внесения двунитевых разрывов ДНК в определенных точках гена SOD1, а также произведен дизайн донорных ДНК-олигонуклеотидов несущих спектр мутаций SOD1 (Ala4Val, Gly12Arg, Gly37Arg, Leu38Val, Gly41Ser, Ala89Val, Asp90Ala, Glu100Lys, Gly114Ala, Val118Leu, Gly127Arg). Эффективность действия систем TALENs и CRISPR/Cas9 была протестирована на модели линии клеток эмбриональной почки человека – 293T. Таким образом, была получена и протестирована система для создания изогенной клеточной модели бокового амиотрофического склероза.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ НИКЕЛИДА ТИТАНА И МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ДЕСНЫ ДЛЯ ПЛАСТИКИ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ В ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Медведев Ю.А., Люндуп А.В., Баласанова К.В., Золотопуп Н.М., Елистратов П.А., Данилевский М.И., Удалова М.М., Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Николенко В.Н.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел. +7 (495) 609-14-00,
lyundup@gmail.com

Актуальность. Эндопротезы из никелида титана хорошо зарекомендовали себя для пластики костных дефектов нижней стенки глазницы и передней стенки гайморовой пазухи в течение последних двух десятилетий. Для улучшения свойств трансплантата (профилактика воспалительных процессов, ускорение нарастания эпителия) можно использовать мезенхимальные стромальные клетки (МСК) десны.

Цель: изучить возможность использования эндопротезов из никелида титана в качестве каркасов для МСК десны.

Материалы и методы исследования: МСК получали из фрагмента десны (подслизистый слой) размером 3×3 мм. Каркасами послужили пластины из сетчатого и пористого никелида титана, размером 15х15х2 мм. МСК культивировали при 5% CO2 и 37°C в DMEM + 10% FBS (DMEM; Gibco-BRL, GrandIsland, NY) (FBS; Gibco-BRL) с добавлением 0.292 mg/ml glutamine (Invitrogen, Carlsbad, CA), 100 U/ml penicillin G, 100 мкг/ml streptomycin. Эпителиальные клетки не обнаруживались ни в первичной, ни в пассированных культурах.

Результаты. На пористом эндопротезе из никелида титана отмечается полное заполнение микропространств клетками. На сетчатом эндопротезе отмечается заполнение ячеек между нитями пластом клеток. При окраске гематоксилином и эозином в ячейках обнаружены многослойные клеточные структуры.

Выводы. Подобраны образцы сетчатого и пористого эндопротезов из никелида титана, которые пригодны для культивирования на них МСК десны. Это позволяет создать тканеинженерную конструкцию для проведения экспериментальных операций на моделях повреждения костной ткани в челюстно-лицевой области.

МИГРАЦИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В КЛЕТОЧНОЙ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ТЕРАПИИ

Миллер Т. В., Соловьева А. О., Повещенко О.В., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.

ФГБУ «НИИКЭЛ» СО РАМН, г. Новосибирск, Россия
Новосибирск, ул. Тимакова, 2, тел. +7 (383) 333-64-09,
тел./факс +7 (383) 332-95-31, +7 (383) 333-51-22, lymphology@soramn.ru

Актуальность работы связана с тем, что эффективность клеточной и регенеративной терапии напрямую зависит от миграции трансплантируемых клеток костного мозга.

Цель исследования. Изучение миграционной активности клеток костного мозга после внутривенной трансплантации реципиентам, для расширения возможностей в регенеративной и клеточной терапии.

Материалы и методы. Использовался маркер специфической последовательности Y-хромосомы самцов-доноров мышей СВА, и обнаруживался у самок той же линии с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Полуколичественное определение маркера в тимусе и других органах проводилось при помощи программного обеспечения Quantity One в денситометре Geldok (Bio-Rad) в единицах оптической плотности (ЕО) ампликонов электорофореграммы. Результаты данного опыта позволяют сказать, что неразделенная популяция клеток костного мозга мигрирует на всех сроках (1 час, 24 часа, 1 месяц, 3 месяца, 6 месяцев) в тимус и другие органы и ткани, а показатели распределения клеток донорского происхождения увеличиваются в разные сроки после внутривенной трансплантации, что имеет возможно важное значение в регенерации тканей.

Выводы. Во-первых, клетки костного мозга мигрируют на всем исследуемом промежутке времени, во все органы и ткани. Во-вторых, существует и обратный путь миграции клеток из кровотока в костный мозг, это значит, что миграция созревающих в костном мозге клеток является динамичным процессом и носит непрерывный характер.

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ЗАМЕДЛЕННО ФОРМИРУЮЩИХСЯ ДИСТРАКЦИОННЫХ РЕГЕНЕРАТОВ

Миронов С.П., Омельяненко Н.П., Кожевников О.В., Ильина В.К., Иванов А.В.

ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова Минздрава РФ», Москва, Россия.
Москва, ул. Приорова, 10, тел. +7 (499) 154-82-42,
cito10ivanov@mail.ru

Актуальность. Результаты хирургической коррекции врожденного неравенства длины конечностей у детей во многом зависят от регенераторных возможностей организма. При их низких потенциях наблюдается замедление формирования репаративного костного регенерата при дистракции.

Цель исследования: возможность применения и оценка эффективности клеточной терапии для стимуляции дистракционных костных регенератов, формирующихся при хирургическом удлинении нижних конечностей у детей с их врожденным неравенством.

Материалы и методы. Группа исследования – 18 пациентов в возрасте от 3,7 до 16 лет. Контрольная группа была представлена 24-мя пациентами в возрасте от 2,5 до 14 лет. Хирургическую коррекцию осуществляли согласно принципам компрессионно-дистракционного метода Илизарова Г.А. Клеточную терапию проводили аутологичными стромальными клетками костного мозга (СККМ), которые получали из трепанбиоптата крыла подвздошной кости, взятого во время наложения компрессионно-дистракционного аппарата. Инъекции культивированных клеток в дистракционный регенерат проводили согласно специальному протоколу. Оценку созревания дистракционного регенерата на этапах удлинения проводили клинико-рентгенологическим и сонографическим методами.

Результаты. Показатели остеосинтеза в группе исследования составили: индекс фиксации 28,9–30,5, индекс остеосинтеза составил 34,2–38,6. Сроки фиксации аппарата были в пределах 1,1±0,1 мес. на 1 см. компенсации неравенства длины. Продолжительность лечения в этой группе составила 4,5–6,5 мес. В контрольной группе индекс фиксации 40,6–43,8. Индекс остеосинтеза находился в пределах от 50,7 до 55,9. Сроки фиксации аппарата на 1 см. дистракционного регенерата составили 1,3–1,85 мес. Сроки лечения составили 7,5–11 мес.

Выводы. У всех пациентов отмечено сокращение сроков лечения, включая период реабилитации после демонтажа аппарата. Инъекционная форма введения СККМ в область дистракционных регенератов оказывает стимулирующее влияние на формирование и созревание дистракционных костных регенератов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ СОЕДИНИТЕЛЬНО-ТКАННЫХ КОСТНО-МОЗГОВЫХ КЛЕТОК В ОБЛАСТЬ РЕЗЕКЦИИ ВРОЖДЕННОГО ЛОЖНОГО СУСТАВА КОСТЕЙ ГОЛЕНИ У ДЕТЕЙ

Миронов С.П., Омельяненко Н.П., Кожевников О.В., Ильина В.К., Иванов А.В.

ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова Минздрава РФ», Москва, Россия.
Москва, ул. Приорова, 10, тел. +7 (499) 154-82-42, cito10ivanov@mail.ru

Актуальность. Лечение истинных врожденных ложных суставов, с помощью современной реконструктивной хирургии, не всегда неэффективно. Не случайно, лечение таких пациентов заканчивается ампутацией конечности на уровне компрометированного сегмента. В связи с этим, ведется поиск возможностей сохранения и восстановления целостности и опороспособности сегмента конечности.

Цель исследования. Изучить возможность использования аутологичных клеток костного мозга для лечения врожденного ложного сустава у детей.

Материалы и методы. Четыре пациента с врожденным ложным суставом костей голени: два мальчика 1,4 и 9 лет, а так же две девочки в возрасте 1,7 и 3,7 лет. Два пациента ранее были неоднократно оперированы, два пациента ранее не лечились хирургическими методами. Хирургическая коррекция состояла в резекции тканей, формирующих ложный сустав, восстановлении костномозгового канала, сопоставлении концов костных фрагментов в соответствии с продольной анатомической осью конечности, обеспечении стабильного остеосинтеза в аппарате внешней фиксации. При выполнении оперативного вмешательства осуществляли трепанбиопсию крыла подвздошной кости. Из биоптата механическим способом выделяли клеточную суспензию костного мозга для культивирования по стандартной методике. По достижении достаточного числа клеток осуществляли инъекции в область резекции ложного сустава согласно специальному протоколу. Оценка остеорепарации в области резецированных концов костных фрагментов осуществлялась клинико-рентгенологическим методом.

Результаты и выводы. Применением клеточной терапии аутологичными стромальными клетками костного мозга обеспечило полноценное сращение проксимального и дистального костных фрагментов в области резекции ложного сустава у всех пациентов. Консолидация концов костных фрагментов прошла по типу первичного сращения, без образования выраженной периостальной костной мозоли. Сроки фиксации в аппарате составили от 5-ти до 7,5-ми мес. Клинически отмечены признаки полной консолидации костных фрагментов. Показано выраженное оптимизирующее действие аутологичных стромальных клеток костного мозга на репаративную костную регенерацию.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «КОМБАС» В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКИ ТЕКУЩЕГО ГНОЙНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

Митрофанов В.Н., Бугров С.Н., Алейник Д.Я., Кулакова К.В., Живцов О.П.

ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия
Нижний Новгород, 603155, Верхне-Волжская набережная, 18
Телефон: (831) 436-01-60. Факс: +7 (831) 436-05-91
e-mail: nniito@rambler.ru

Ключевым моментом в хирургическом лечении пациентов травматолого-ортопедического профиля с полостными дефектами костной ткани, обусловленными хроническим гнойно-воспалительным процессом, является санация гнойного очага и замещение дефекта остеопластическим материалом. Одним из таких материалов является «Комбас», представляющий собой костный недеминерализованный коллаген в виде крошки (ООО «ВладМива», г. Белгород), насыщенный фактором роста эндотелия сосудов (ЗАО «Протеинсинтез», г. Москва), отсутствие цитотоксичности которого было показано в предварительных тестах с культурой аллофибробластов in vitro.

Цель экспериментального исследования: изучение свойств нового остеопластического препарата в условиях хирургически санированного остеомиелитического очага.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 36 кроликах породы «Шиншилла», которые были разделены на 2 группы по 18 особей (контроль и опыт). За основу взята модель хронической гнойной костной раны, разработанная в ННИИТО (положительное решение о выдаче патента по заявке 2012110364/14 от 19.03.2012). После проведения санации гнойного очага проводилось заполнение костной полости препаратом «Комбас». Животные каждой группы были разделены на подгруппы по 6 особей в соответствии со сроками выведения из эксперимента (1, 2, 3 месяца). После выведения животных их эксперимента зона дефекта подвергалась гистологическому исследованию.

Результаты: отмечено ускорение процессов заживления дефекта в опытной группе на всех сроках наблюдения по сравнению с контролем. В группе животных «опыт» полное восстановление дефекта отмечено у 17% животных на сроке 2 месяца, у 50% животных – на сроке 3 месяца. Показатель, характеризующий завершённые репаративные процессы, в опытной группе через 2 месяца превышает значения контрольной на 42%, через 3 месяца – на 54%. Таким образом, на примере хронической гнойной костной раны удалось показать наличие остеокондуктивных и остеоиндуктивных свойств препарата «Комбас».

ЗАМЕНА КОСТНОГО МОЗГА КАК СПОСОБ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Михайлов В.М.[1], Зайчик А.М.[2], Соколова А.В.[1], Кравцова В.В.[3], Каминская Е.В.[1], Тимонина Н.А.[3], Кривой И.И.[3]

1 – Институт цитологии РАН,
2 – Медицинская Академия им. Мечникова, 3 СПбГУ,
Санкт-Петербург, Россия

Клеточная терапия направлена на возмещение потерь клеточных популяций после действия повреждающих агентов. Клеточные потери также происходят из-за дефектов генов, мутаций, что приводит к появлению заболеваний с характерными проявлениями. Такие заболевания классифицируются как генетически обусловленные, чаще как моногенные. При генетически обусловленных заболеваниях стволовые клетки (СК) хранят мутантные гены. Отсюда вытекает различие тактик клеточной терапии по отношению к указанным группам заболеваний. В первом случаи клеточная терапия включает в себя или стимуляцию оставшихся СК после клеточной потери или добавление неповрежденных СК. Известно, что костный мозг (КМ) содержит СК, участвующие в регенерации органов мезодермального (кровь, кости, мышцы и другие органы) и энтодермального происхождения (печень, щитовидная железа). При замене клеток КМ у Р-облученных в дозах 5 или 7.5 Гр мышей C57BL/6 на изогенные меченые GFP- клетки КМ мышей C57BL/6, донорские клетки участвуют в регенерации фолликулов щитовидных желез реципиентов. Доля GFP-положительных фолликулов достигает 6±2%, в КМ доля GFP-положительных мононуклеаров составила 52%, в крови – 21% через 9–10 месяцев после облучения и трансплантации СК КМ дикого типа (Mikhailov et al., 2012. Pathophysiology, 19: 5–11). Идеальной схемой клеточной терапии моногенных заболеваний является замена мутантных стволовых клеток на стволовые клетки дикого типа. У мышей mdx, мышиной модели моногенного заболевания миодистрофии Дюшенна, мутантный костный мозг заменяли на GFP-меченный костный мозг дикого типа мышей C57BL/6 при трансплантация после Р-облучения в дозах 5 или 7 Гр. Трансплантация КМ спасала мышей mdx от гибели, однако через несколько месяцев синтез дистрофина не превышал 2% от числа мышечных волокон. При трансплантации КМ после нелетального Р-облучения мышей mdx в дозе 3 Гр через 4–6 месяцев синтез дистрофина вырастал в скелетных мышечных волокнах до 27% и в диафрагме до 12%. Также уменьшилась гибель и возрастала доля мышечных волокон без центральных ядер до 30%. Одновременно улучшились электрофизиологические характеристики мышц. По данным проф. И.И. Кривой (Лаб. нейромышечной физиологии СПбГУ) у леченных мышей mdx восстанавливается мембранный потенциал покоя до уровня, характерного для мышечных синапсов мышей дикого типа (Кравцова и др., 2011. ДАН, 441(2): 1–3; Mikhailov et al., 2012. J. Cell Science & Therapy, doi: 10.4172/2157-7013.1000122). Полученные результаты соответствует данным об успешном использовании немиэлоаблативной

трансплантации костного мозга при лечении таких моногенных заболеваний как серповидно-клеточная анемия и бета-талассемия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

ПРИНЦИПЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ХИРУРГИИ В УРОЛОГИИ

Мулдашев Э.Р.[1], Павлов В.Н.[2], Шангина О.Р.[1]

1 – ФГБУ «ВЦГПХ» Минздрава России, Уфа, Россия
Уфа, ул. Р.Зорге 67/1, тел.+7 (347) 232-88-89, alloolga@mail.ru
2– ГБОУ ВПО «БГМУ» Минздрава России, Уфа, Россия
450000 г. Уфа, ул. Ленина 3; тел. +7 (347) 272-41-73;
pavlov@bash.gmu.ru

Реконструктивно-пластические и органосохраняющие операции в современной урологии невозможны без использования пластических материалов. Основными требованиями к их применению являются полноценное приживление и управление регенерацией. Поэтому в последние годы в урологии возрастает интерес к возможности использования принципов регенеративной хирургии. На основе данных принципов внедрены в клиническую практику соединительнотканные аллотрансплантаты для урологии, при разработке которых учитывалось сходство фиброархитектоники соединительнотканного каркаса донорской ткани и тканевого ложа реципиента, а так же тот факт, что приживление данных аллотрансплантатов происходит при наличии мочевой инфекции. Для изготовления трансплантатов используются аллогенные ткани – твердая оболочка головного мозга, сухожилия, висцеральные оболочки, дерма и подкожно-жировая клетчатка. В зависимости от фиброархитектоники тканей и способа их физико-химической обработки, материалам придаются различные свойства – микробная устойчивость, адгезивность, гемостатичность и др. Аллотрансплантаты, изготовленные из сухожилия, обладают высокой прочностью при небольшой растяжимости и используются при илеоцистопластике и слинговых операциях при недержании мочи. Применение аллогенных трансплантатов из твердой оболочки головного мозга и фиброзной капсулы почки с местными адгезивными и гемостатическими свойствами позволяет уменьшить кровопотерю при резекции почки и спонтанных разрывах почки при геморрагической лихорадке с почечным синдромом. Для лечения склероза предстательной железы и шейки мочевого пузыря, а также с целью предотвращения грубого склеротического процесса в резецируемом органе в послеоперационном периоде применяются диспергированные аллотрансплантаты со свойствами ингибирования рубца. При имплантации аллогенных соединительнотканных трансплантатов в органы мочеполовой системы не возникает реакции отторжения и трансплантат замещается функционально адекватным регенератом, не вызывая при этом изменений функций органов и тканей.

ТЕХНОЛОГИИ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ НА ОСНОВЕ БИОМАТЕРИАЛОВ АЛЛОПЛАНТ

Мулдашев Э.Р.

ФГБУ «ВЦГПХ» Минздрава России, Уфа, Россия
Уфа, Р. Зорге 67/1, тел. (347) 232-70-94, alloplant@bashnet.ru

Одним из приоритетных сфер регенеративной медицины является трансплантация тканей. В настоящей работе приводятся результаты экспериментальной и клинической трансплантации биоматериалов Аллоплант, изготавливаемых на базе многопрофильного тканевого банка с лабораторией консервации тканей нашего Центра. Разработанная здесь технология физико-химической обработки и селективной лучевой стерилизации соединительнотканных трансплантатов позволяет элиминировать наиболее иммуногенные компоненты тканей, а также структурно модифицировать внеклеточный матрикс, создавая объемные, губчатые, каркасные, фиксирующие, мембранные и другие виды биоматериалов (Мулдашев Э.Р., 1983–2006; Шангина О.Р., 2007).

Доклинические испытания показали, что пересаживая различные по фиброархитектонике и гистохимическому составу биоматериалы, можно избирательно воздействовать на регенерацию кожи, сухожилий, костных структур, органных кровеносных и лимфатических сосудов, периферических нервов, ремоделировать скелетные мышцы. Модифицируя пространственную структуру трансплантатов удалось создать 3D-матрицы для регенерации паренхиматозных органов: щитовидной железы, структурных элементов нефрона (Нигматуллин Р.Т., 2006).

Клинический опыт полутора миллионов трансплантационных операций полностью подтвердил результаты экспериментальных исследований. Зарегистрированные в установленном порядке 96 видов биоматериалов Аллоплант успешно используются в практике более 600 клиник РФ и стран СНГ при наиболее тяжелых поражениях органа зрения, включая пороки развития, сосудистые и дистрофические поражения сетчатки, зрительного нерва. Диспергированные формы биоматериалов при инъекционном введении, мобилизуя нервные, иммунные и эндокринные факторы, оптимизируют процессы репаративной регенерации при различных поражениях опорно-двигательного аппарата, сердечно-сосудистой и нервной систем.

Опыт применения биоматериала Аллоплант позволяет сформулировать следующий научный тезис: через трансплантацию тканей – к регенеративной медицине.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ПОДДЕРЖКИ В ДЕТСКОЙ ПРАКТИКЕ

Мусин Е.А.[1], Буланин Д.С.[1], Жумадилов Ж.Ш.[1], Олжаев Ф.С.[1], Federspiel W.[2], Jeffries G.[2]

1 – Центр наук о жизни, Назарбаев Университет, Астана, Казахстан
Астана, проспект Кабанбай батыра 53, тел: +7 7172 70-64-93, ymussin@nu.edu.kz
2 – McGowan Institute for Regenerative Medicine, Pittsburgh, PA, USA

На сегодняшний день на рынке существует ограниченное количество медицинского оборудования, предназначенного для применения в педиатрии. Настоящая работа посвящена перспективам применения системы экстракорпоральной респираторной поддержки газообмена Hemolung (система Hemolung) в детской практике с использованием животной модели (ягнята). Система Hemolung – это интегрированное низкопоточное устройство контролируемой элиминации углекислого газа (CO_2) и оксигенации крови с вакуумным принципом работы. Система Hemolung функционирует в пределах значений скорости кровотока от 270,0 до 750,0 мл/мин с применением вено-венозного доступа к магистральным сосудам.

Цель. Оценка перспективы применения системы Hemolung в детской практике.

Методы. Испытание системы Hemolung были проведены на восьми здоровых ягнятах (22–28 кг). Для оценки эффективности работы устройства и анализа гемосовместимости на протяжении каждого из испытаний проводилась регистрация таких показателей как скорость вращения помпы, скорость кровотока (СК) и скорость элиминации CO_2, мониторинг клинического анализа крови, гемостазиограммы и газового состава крови. По завершению каждого из экспериментов проводилось аутопсия животного.

Результаты. Пять семидневных экспериментов проведены в полном объеме. Средняя СК составляла 290±10 мл/мин. Средняя скорость элиминации CO_2 составила 59±5 мл/мин, а сатурация O_2 в крови в исходящем сегменте газообменного картриджа экстракорпорального контура во всех случаях составляла 100%. Три испытания завершились преждевременно.

Выводы. Система Hemolung способна обеспечить клинически значимые уровни элиминации CO_2, 100% оксигенацию крови в газообменном картридже устройства и продемонстрировала адекватную гемосовместимость in vivo при скорости кровотока, применимой в педиатрии. Полученные результаты могут свидетельствовать о перспективе применения системы Hemolung в детской практике.

ВОЗМОЖНОСТИ ПОЛНОЦЕННОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ АРХИТЕКТОНИКИ ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ

Муслимова С.Ю., Сахаутдинова И.В., Муслимов С.А.

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ России, ФГБУ МЗ России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии», г. Уфа, Россия
Уфа, ул. Ленина, 3, тел. +7 (347) 272-11-60, rectorat@bashgmu.ru

Операции по поводу опухолевидных образований и опухолей яичников выполняются часто, особенно у молодых женщин с нереализованной репродуктивной функцией. Чрезмерное увлечение современными хирургическими энергиями при операциях на яичнике не привело к более полноценному восстановлению его структуры.

С целью восстановления архитектоники яичника после удаления новообразования нами был применен биоматериал Аллоплант® для замещения объёмных дефектов разработанный во Всероссийском центре глазной и пластической хирургии. Перед внедрением метода в клинику, нами был проведен эксперимент на лабораторных животных. Результаты его показали полное замещение биоматериала тканью аналогичной по строению строме яичника с восстановлением сосудистой сети и сохранением нормальной морфологии и функции фолликулярного аппарата.

Операции при опухолевидных образованиях и доброкачественных опухолях яичников с применением биоматериала Аллоплант® для восстановления его целостности были выполнены нами у 59 больных в возрасте от 5 до 17 лет. Размеры новообразований у наших пациенток колебались от 30 до 200 мм в диаметре. Уже через 3 месяца после операции мы наблюдали при УЗИ полное восстановление структуры коркового слоя оперированного яичника с появлением доминирующих фолликулов и желтых тел. Полное замещение биоматериала наблюдалось в сроки от 2 до 3 лет.

Предложенный метод помог нам избежать ишемии коры яичника, добиться полноценного восстановления его анатомии и максимально сохранить фолликулярный резерв.

ОЦЕНКА МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННЫХ АРТЕРИЙ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА

Насрединов А.С.[1], Анисимов С.В.[1], Вавилов В.Н.[1], Курапеев Д.И.[1], Лебедева Е.А.[2]

1 – ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия
197341 Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, тел.: +7 (911) 134-88-76, vsurg@yandex.ru
2 – СПбГЭТУ «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина), г. Санкт-Петербург, Россия
197376, Россия, Санкт-Петербург, улица Профессора Попова, д. 5

Актуальность. Тканеинженерные кровеносные сосуды могут восполнить клиническую потребность в биологических протезах в реконструктивной сердечно-сосудистой хирургии. Полученный методом децеллюляризации внеклеточный матрикс артерии лишен иммуногенных свойств, биосовместим, пригоден для заселения клетками и потому является привлекательным субстратом для тканевой инженерии сосудов. Ранее нами был разработан способ децеллюляризации артерий пуповины человека, эффективность которого была доказана морфологически.

Цель. Проверить сохранность механических свойств артерий пуповины человека после децеллюляризации.

Материалы и методы. Участки артерий пуповины человека длиной 5см децеллюляризировали оригинальным детергентно-ферментным способом. С помощью разрывной машины Instron 5543 растягивали образцы до разрушения, измеряли напряжение при растяжении (σ, MPa) и относительное удлинение(ΔL). На основании этих данных рассчитывали модуль Юнга (E=σ/ΔL). На этом же устройстве измеряли усилие, необходимое для прорезывания шовного материала (нить пролен 5–0, фиксированная в 2 мм от края сосуда). Как комплексный показатель прочности артерий, их испытавали на максимальное давление, для чего один конец артерии лигировали, второй канюлировали и нагнетали физраствор до разрушения артерии, фиксируя максимальное давление (мм рт.ст).

Результаты. Для нативных артерий (НА, n=8) максимальное давление на разрыв достоверно не отличалось от децеллюляризованных артерий (ДА, n=8) и составило 505±25 и 490±20 мм рт.ст., соответственно ($p<0,05$). Модуль Юнга у НА составил 0,31 против 0,29 у ДА. Прорезывание шовным материалом происходило при напряжении 0,42MPa для НА и 0,38MPa для ДА.

Выводы. Механические свойства ДА пуповины человека достоверно не отличаются от таковых у НА, что косвенно подтверждает сохранность экстрацеллюлярного матрикса; артерии выдерживают давление значительно выше физиологического и сохраняют устойчивость к прорезыванию шовным материалом. Это позволяет использовать их в дальнейших этапах тканевой инженерии.

РЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИЯ СОСУДИСТОГО КОНДУИТА МЕЗЕНХИМНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ

Насрединов А.С., Лаврешин А.В., Анисимов С.В., Вавилов В.Н., Курапеев Д.И.

ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия
197341 Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2,
тел.: +7 (911) 134-88-76, vsurg@yandex.ru

Актуальность. Тканевая инженерия является активно развивающейся инновационной областью реконструктивной медицины. Основная методология тканевой инженерии основана на выделении зрелых или прогениторных клеток реципиента с последующим культивированием их на матриксе из биосовместимого материала. В нашей работе в качестве основы мы выбрали децеллюляризованные артерии (ДА) пуповины, в связи с оптимальными биомеханическми свойствами и доступностью такого материала. Наиболее перспективным клеточным субстратом являются мезенхимные стволовые клетки костного мозга (МСК КМ).

Цель. Провести рецеллюляризацию сосудистого кондуита МСК КМ.

Материалы и методы. Первичную культуру МСК получали из костного мозга крыс. Выделение и экспансию МСК проводили по стандартным методикам, по достижении клетками субконфлюентности монослоя проводили субкультивирование. Для рецеллюляризации использовали клетки 3–14 пассажей. Участки артерий пуповины человека длиной 5 см децеллюляризировали оригинальным детергентно-ферментным способом, после чего ДА с одной стороны лигировали, в просвет вводили 500 мкл клеточной суспензии, содержащей 1–1,5x10^6 МСК и лигировали ДА с другой стороны. Сосудистый кондуит помещали в чашку Петри, добавляли 3 мл культуральной среды с 10% добавлением фетальной сыворотки, затем инкубировали при 5% CO2, 100% влажности и 37°C течение 1, 3, 5 суток. На 1-е сутки лигатуры срезали, кондуит переносили в новую чашку Петри. Среду полностью заменяли через день. Изучали поперечные срезы рецеллюляризованных графтов, окрашенных гематоксилин-эозином.

Результаты. На 1-е сутки культивирования видны клетки, распластанные по внутренней поверхности графта. На 3-и сутки визуально клетки образуют монослой. На 5-е сутки видны клетки с минимальным проникновением вглубь сосудистой стенки.

Выводы. Показана возможность роста клеток на децеллюляризованных артериях пуповины человека, которые могут быть использованы как носитель клеточного субстрата в тканевой инженерии кровеносных сосудов малого калибра.

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МАТРИКСОВ АРТЕРИЙ МАЛОГО КАЛИБРА И ИХ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

Насединов А.С., Лаврешин А.В., Анисимов С.В., Вавилов В.Н., Курапеев Д.И.

ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия
197341 Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2,
тел.: +7 (911) 134-88-76, vsurg@yandex.ru

Актуальность. Аутологичные вены и артерии являются идеальным субстратом для использования в качестве шунтов в реконструктивной сердечно-сосудистой хирургии, но часто их количество существенно ограничено. Так как синтетические протезы малого калибра (менее 6мм в диаметре) себя не оправдали, применение ткане-инженерных сосудов было бы идеальным решением этой клинической задачи. Одним из ключевых моментов тканевой инженерии является создание трехмерной основы для последующего заселения аутологичными клетками.

Цель. Разработать способ получения внеклеточного матрикса артерии малого калибра методом удаления клеток и клеточного дебриса, изучить морфологические свойства децеллюляризованных артерий (ДА).

Материалы и методы. Для решения поставленной задачи использовали участки артерий пуповины человека длиной 5 см. Разработанный нами оригинальный способ децеллюляризации длится 72 часа и состоит из нескольких этапов с последовательной сменой растворов, в составе которых используются детергенты (додецилсульфат натрия, Тритон X100) и ферменты (трипсин, нуклеазы). Для оценки полноты удаления клеток из сосудистой стенки, проводили морфологические исследования и определяли содержания ДНК и РНК спектрофотометрическим методом.

Результаты. Артерии после удаления клеток становятся белесыми, сохраняя при этом форму и размеры. Микроскопически, в стенке ДА ядра клеток не видны, а стенка сосуда имеет характерную пористую структуру, экстрацеллюлярный матрикс остается неизменным. Антиген CD31 и антиген альфа-гладкомышечного актина не визуализируется, что косвенно подтверждает не только лизис эндотелиоцитов и гладкомышечных клеток, но и полную элиминацию клеточного дебриса из всей толщи сосудистой стенки. Наличие в децеллюляризированных сосудах ДНК и РНК не определется.

Выводы. В процессе децеллюляризации артерий пуповины человека из сосудистой стенки полностью удаляются клетки, клеточный дебрис и нуклеиновые кислоты, без видимого повреждения экстрацеллюлярного матрикса.

ЭЛАСТИНОВЫЕ БИОМАТЕРИАЛЫ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ХИРУРГИИ МЯГКОГО ОСТОВА

Нигматуллин Р.Т., Щербаков Д.А., Гизатуллина Э.Р., Мухаметов А.Р.

ФГБУ «ВЦГПХ» Минздрава России, Уфа, Россия
Уфа, Р. Зорге 67/1, тел. (347) 278-87-37, alloplant@bashnet.ru

Для создания технологий регенеративной хирургии широко используются рекомбинантные эластиновые биоматериалы (Nivison-Smith L., 2010; Annabi N., 2013). В настоящей работе анализируются возможности использования децеллюляризированного эластинового матрикса в пластической хирургии. Биоматериалы готовились в соответствии с описанием патентов РФ за номерами 2420148, 2421154, 2417763. В экспериментальной части работы на 46 крысах породы Вистар подкожно трансплантировались пластинчатая и диспергированная формы эластинового трансплантата с выведением животных на 3, 7, 14, 30, 120 и 360 сутки. В клинической части работы представляемые биоматериалы использовались для восстановления различных структур мягкого остова (фасций, апоневрозов, сухожилий), замещения объемных дефектов тканей, герниопластики. Эксперименты показали три типа регенерации при пересадке пластинчатого биоматериала. С периферии трансплантата по фронтальному типу идут процессы заместительной регенерации с формированием на месте эластинового матрикса плотной оформленной волокнистой соединительной ткани. Одновременно тяжи коллагеновых волокон и фибробластов внедряются в эластиновый биоматериал, фрагментируя его и формируя картину очагового замещения. При этом внутри каждого фрагмента активно синтезируются коллагеновые волокона, окружающие отдельные эластиновые волокна. Данный тип заместительной регенерации определен нами как диффузный. Несмотря на описанную мозаичность процессов морфогенеза финал их един независимо от вида эластинового биоматериала: формирование плотного оформленного волокнистого регенерата, способного моделировать опорные структуры мягкого остова.

Проведенные клинические испытания, а также иследованный при этом биопсийный материал отражают динамику и тренды экспериментальной трансплантации. Получены положительные результаты реконструктивных операций с использованием эластиновых биоматериалов в челюстно-лицевой области, стоматологии, герниопластике и других реконструктивных хирургических вмешательствах.

АМПУТАЦИЯ КОНЕЧНОСТИ И КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ

Николаева Л.П.

ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. Войно-Ясенецкого, Россия, г. Красноярск, ул. П. Железняка, 1, lpnikolaeva@yandex.ru

В практике хирургических стационаров достаточно часто приходится иметь дело с необходимостью проведения ампутаций конечностей. Нижняя конечность, удаляемая во время вынужденной ампутации, это важное депо костного мозга, где в полости бедренной кости находится около 25% всего костного мозга данного пациента. Важно, во время проведения вынужденной ампутации конечности, снизить потери костного мозга. Ближайшая задача биомедицинских исследований в этой области – применение высоких клеточных технологий. В последние годы во всем мире началось интенсивное изучение стволовых клеток из различных источников. Полученный в результате вынужденной ампутации костный мозг, необходимо рассматривать как один из возможных источников стволовых клеток, в том числе и с целью последующей аутотрансплантации. Стволовых клеток из ампутированной конечности можно использовать их для данного больного с целью сохранения оставшейся конечности, улучшения качества жизни больного и профилактики осложнений.

Цель исследования: Возможность выделения стволовых клеток, полученных из костного мозга бедренной кости ампутированной конечности. Провести сравнительную оценку полученных результатов с традиционной костно-мозговой пункцией.

Результаты. Содержание стволовых клеток в костном мозге, полученном из ампутированной конечности, намного выше, чем количество стволовых клеток, полученных при пункции. Количество стволовых клеток, полученных при пункции, не превышает 0,1 %, а количество стволовых клеток, полученных из ампутированной конечности достигает до 4,2% (сделано 10 анализов). Ни один из существующих на данный момент источников СК человека или методов их получения не может полностью обеспечить потребности исследователей и требования клиницистов. Все это, безусловно, ограничивает экспериментальные исследования СК человека и тормозит внедрение клеточных технологий в клиническую практику. Применение аутотрансплантации МСК (при ампутации конечности) кажется наиболее перспективными на данном этапе развития клинической науки, так как оно позволяет избежать этических и иммунных проблем, связанных с трансплантацией от донора к реципиенту.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТКАНЕЙ ДЕСНЫ С МЕТАЛЛОКЕРАМИЧЕСКИМИ КОРОНКАМИ НА ФРЕЗЕРОВАННЫХ И ЛИТЫХ КАРКАСАХ

Олесов Е.Е., Зверяев А.Г., Лернер А.Я.

ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации ФМБА России», Москва, Россия
Москва, ул. Гамалеи, 15, тел. +7 (499) 196-48-75, olesova@bk.ru

В связи с активным внедрением в клиническую практику CAD/CAM методов изготовления металлокерамических зубных протезов возникает вопрос о преимуществах взаимодействия с десной фрезерованных протезов перед литыми.

Цель исследования: проследить динамику влияния на десну фрезерованных и литых металлокерамических протезов из хромкобальтового и титанового сплавов.

Материал и методы. Из 254 пациентов с несъемными протезами (975 протезных единиц) сформированы 4 группы: с литыми или фрезерованными каркасами из хромкобальтового или титанового сплава. Оценка протезов проводилась с использованием критериев US PUBLIC HEALTH SERVISE, США по трем степеням (A, B, C) состояния слизистой оболочки рта.

Результаты. Субъективные ощущения металлического привкуса в полости рта, как отражение электрохимических процессов, редко выявлялось при всех вариантах протезирования и только в отдаленные сроки. Тем не менее, при применении хромкобальтового сплава такие ощущения встречались чаще (соответственно у 17,9% больных в сравнении с 8,7% у титановых протезов). Незначительные воспалительные явления в десне наблюдались в среднем у 7,5% при сроке контроля 1 год; частота выявления хронического воспаления в тканях через 5 лет увеличивалась до 74,4%. Выявлена разница в отдаленные сроки нагрузки в зависимости от конструкций и способа обработки сплава; здоровая десна при наличии литых каркасов сохранялась у 67,2% протезов, а при наличии фрезерованных – у 87,8% протезов (через 2 года эксплуатации хромкобальтовых протезов); вокруг хромкобальтовых каркасов – у 21,4%, титановых – у 25,1% (через 5 лет эксплуатации).

Таким образом, фрезерованные каркасы металлокерамических протезов с использованием хромкобальтового и титанового сплавов имеют преимущества перед литыми по частоте развития воспаления в десне; металлокерамические каркасы из титанового сплава превосходят каркасы из хромкобальтового сплава.

БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РЕАКЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ НА НАГРУЗКУ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

Олесова В.Н., Амирханян М.А., Никончук Е.Е., Магамедханов Ю.М.

ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации ФМБА России», Москва, Россия
Москва, ул. Гамалеи, 15, тел. +7 (499) 196-48-75, olesova@bk.ru

Изучение биомеханических аспектов регенерации костной ткани вокруг функционирующих имплантатов возможно в условиях математического эксперимента и в сравнении с биомеханикой кости вокруг естественного зуба.

Цель исследования: сопоставить напряженно-деформированного состояние (НДС) костной ткани челюсти вокруг зуба и имплантата с помощью трехмерного математического моделирования.

Результаты. Трехмерные математические модели были идентичны по строению и физико-механическим характеристикам тканям нижней челюсти. Функциональная нагрузка в вертикальном и горизонтальном направлениях локализовалась в области центрального резца, клыка или второго моляра (или воздействовала на имплантаты, заменяющие указанные зубы). Величина вертикальной нагрузки составляла соответственно 130–250Н; горизонтальной – 80–150Н. Математический конечно-элементный анализ (МКА) проводился с помощью специальной программы «UZOR».

Замена зубов внутрикостными имплантатами не меняет картину распределения напряжений в костной ткани нижней челюсти, однако, снижает степень их распространения на другие отделы кортикальной кости вдоль зубного ряда и за его пределами за счет исчезновения напряжений у апекальной части и увеличения напряжений у шейки нагруженного имплантата в сравнении с вертикальной нагрузкой моляров в 2,3 раз (29,7МПа), клыков в 3 раза (30,9 МПа) и резцов в 2,7 раз (28,6 МПа). Горизонтальная нагрузка имплантатов увеличивает напряжения в пришеечной зоне кортикальной кости в 2,8 раз в сравнении с резцом, в 2,5 раз с клыком и в 2 раза с моляром.

Проведенное исследование выявило значение интактного периодонта, как фактора снижения величины напряжений в костной ткани вокруг зуба в сравнении с напряжениями вокруг имплантата, что обуславливает необходимость особо тщательной профилактики воспаления и перегрузки периимплантатных тканей при функционировании протезов на имплантатах.

ЕСТЕСТВЕННАЯ КЛЕТОЧНО-МАТРИКСНАЯ ОСНОВА ДЛЯ ИНДУЦИРУЕМОЙ КОСТНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ

Омельяненко Н.П., Ильина В.К., Карпов И.Н., Ковалев А.В.

ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова», Минздрав РФ, Москва, Россия
Москва, ул. Приорова, 10, тел. +7 (495) 450-42-31, omel156@yandex.ru

Актуальность. Для восстановления костей, на месте травматических дефектов, которые не могут быть восстановлены естественным путем (спонтанно) применяют различные имплантаты, которые заполняют дефект и служат остеокондуктивными или остеоиндуктивными матрицами способствующими восстановлению целостности костной ткани. Матрицы могут быть насыщены культивированными стромальными соединительнотканными клетками (фибробластами) костного мозга или клетками, полученными из других источников. Однако, внедрение тканеинженерной конструкции не всегда приводит к полноценной тканеспецифичной регенерации поврежденной кости. В связи с вышесказанным предложен метод с естественной матрицей и отсроченным введением в нее культивированных аутологичных стромальных фибробластов костного мозга.

Материалы и методы. У кроликов создавался критический (спонтанная регенерация кости невозможна) дефект (1 см) в средней части лучевой кости. 1 контрольная группа – после костной резекции воздействиям не подвергалась. В опытных группах в место дефекта вводились культивированные стромальные фибробласты костного мозга. Во 2 группе – введение клеток осуществлялось сразу после создания дефекта, в 3-й группе – через 7–10 дней в волокнистый соединительнотканнный регенерат, в 4-й группе инъекции в область дефекта клеток делали через 3 месяца. Выведение животных из эксперимента осуществлялось через 7–10 дней, через 1,3 и 6 месяцев. Оперированные лучевые кости иссекались и с ними проводилось гистологическое исследование.

Результаты. Во всех группах через 7–10 дней костный дефект был заполнен регенератом – волокнистой рыхлой неоформленной соединительной тканью, которая являлась естественной волокнистой матрицей, а у краев костных отломков наблюдались признаки остеогенеза – формирование первичных костных балок. Через 1–3 месяца в 1-й и 2-й группах кроликов проксимальные и дистальные отломки лучевых костей закрывались новообразованными замыкательными пластинками, а костный дефект сохранялся. Дефект был заполнен рыхлой и плотной волокнистой неоформленной соединительной тканью. В 3-й группе через 1 месяц дефект был заполнен первичной губчатой костной тканью, через 3 месяца наблюдалась тунелизация репаративного губчатого регенерата, резорбция губчатой кости и формирование кортикала из компактной костной ткани. Через 6 месяцев после ремоделирования кортикальная часть лучевой кости в области бывшего дефекта приобретала полную органотканеспецифичность. В 4-й группе дефект оставался незаполненным.

Вывод. Полноценное (органотканеспецифичное) восстановление поврежденной кости с критическим дефектом возможно после инъекции культивированных стромальных клеток только при условии завершения воспаления и естественного формирования регенерата из волокнистой рыхлой неоформленной соединительной ткани.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ РЕПАРАТИВНЫХ КОСТНЫХ РЕГЕНЕРАТОВ НА СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОМ И ТКАНЕВОМ УРОВНЕ ОРГАНИЗАЦИИ

Омельяненко Н.П., Карпов И.Н., Ковалев А.В., Иванов А.В., Хлыстова А.В.

ФГБУ «ЦИТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава РФ, Москва, Россия.
Москва, ул. Приорова, 10, тел. +7 (495) 450-42-31, omel156@yandex.ru

Актуальность. Возможности управления репаративной костной регенерацией во многом зависят от глубины наших знаний течения восстановительных процессов на молекулярном, супрамолекулярном и тканевом уровнях организации костной ткани. Последние два уровня могут быть визуализированы с помощью микроскопической техники, и исследована их структурная динамика. Оптимальной моделью изучения репаративной костной регенерации является дистракционно-компрессионный остеосинтез по Илизарову, который позволяет в пространстве и во времени распределить структурные элементы вновь образующейся костной ткани по степени их зрелости т.е. по этапам формирования в пределах одного костного регенерата.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на собаках, которым на большеберцовые кости устанавливались аппараты Илизарова. Далее производилась остеотомия, и через 7 дней начиналась дистракция с темпом 1 мм в сутки. Через 21 день дистракция прекращалась, животные выводились из эксперимента, а большеберцовые кости с дистракционными регенератами исследовались морфологическими методами (СМ, СЭМ, ТЭМ).

Результаты и выводы. Дистракционная репаративная костная регенерация начинается с пролиферации коммитированных остеогенных клеток- предшественников в периосте, эндосте и костном мозге костных отломков, и их миграции в костный дефект (диастаз) с последующей дифференцировкой. Далее следует синтез межклеточного матрикса и его структуризация. Межклеточное пространство заполняется аморфным мелкогранулярным веществом белков-полисахаридной природы. В нем начинают образовываться коллагеновые фибриллы. Формируется клеточно-волокнистый регенерат. Дистракция ориентирует волокнистые структуры вдоль вектора своего действия и создает тканевой дефицит с циркадной периодичностью в центральной зоне регенерации – зоне роста. Волнообразность процесса «дистракционной» репаративной костной регенерации отличает его от остеогенеза без дистракции. Взаимодействие костных отломков с новообразующимся волокнистым регенератом осуществляется за счет взаимодействия дезинтегрированных на супрамолекулярные структуры концов коллагеновых фибрилл костных отломков обращенных в диастаз и не полностью «упакованных» концов коллагеновых фибрилл регенерата. «Приростание» фибрилл регенерата происходит за счет их концов обращенных к центру регенерата. Врастание сосудов в волокнисто-клеточный регенерат приводит к формированию первичного костного регенерата с его последующим ремоделированием во вторичный органотканеспецифичный костный регенерат.

КОРРЕКЦИЯ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК И ВОЗНИКАЮЩИХ СИСТЕМНЫХ НАРУШЕНИЙ ИММУНИТЕТА С ПОМОЩЬЮ МСК

Онищенко Н.А., Мещерин С.С., Расулов М.Ф., Аврамов П.В., Шагидулин М.Ю.

ФГБУ «ФНЦ ТИиО имени академика В. И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва, Россия
Москва, 123182 Москва, ул. Щукинская, д.1, +7 (495) 544-18-00

Ишемически-реперфузионное повреждение (ИРП) трансплантатов является основной причиной их дисфункции, активизации иммунитета и раннего отторжения.

Цель работы: изучить возможность устранения метаболических и иммунных нарушений в организме с помощью культивированных МСК аутологичного костного мозга при моделировании ИРП почки.

Материалы и Методы: на 30 самцах крыс породы Вистар с 60-минутной ишемией почки было выполнено 3 группы экспериментов – в I группе за 7 дней до моделирования ИРП почки крысам внутривенно вводили культивированные аутологичные МСК в дозе $5{,}0x10^6$; во II группе МСК в той же дозе вводили на этапе ИРП ишемизированной почки; III группа контроль (ИРП). До и после моделирования ишемии, на 1, 3, 5, 10, 15 и 21 сутки оценивали уровень креатинина и мочевины в плазме крови, рассчитывали клиренс креатинина, проводили морфологическое исследование почек; в сыворотке крови измеряли уровень про- и противовоспалительных цитокинов, TNF A, IL-1B, IFN-Y, IL-10, IL-4; определяли фагоцитарную активность нейтрофилов.

Результаты. В I и во II группах опытов, но особенно – в I группе в первые 7 суток после реперфузии повышение креатинина и мочевины плазмы крови и гистологические изменения в препаратах почек были менее выраженными по сравнению с III группой. На 20–25 сутки в опытах I и II, но особенно – I группы отмечено более выраженное снижение уровня провоспалительных и повышение уровня противовоспалительных цитокинов а также более высокие значения фагоцитарной активности нейтрофилов по сравнению с III группой. Выводы.

1. Предварительное введение МСК в организм оказывает иммуномодулирующее воздействие, снижает активность провоспалительного звена иммунитета и индуцирует процессы восстановительной регенерации в почке при ИРП.

2. Введение МСК кратковременно повышает уровень креатинина и мочевины и поэтому снижает эффективность коррекции ИРП при введении клеток на этапе реперфузии.

3. Предварительное введение МСК может быть использовано для индукционной терапии при родственной трансплантации почки.

РАЗРАБОТКА КОЛЛАГЕН-ФИБРОНЕКТИНОВОГО МАТРИКСА ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ RHBMP-2

Осидак Е.О., Карягина А.С., Лунин В.Г., Домогатский С.П.

ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва
ФГБУ «РКНПК» Минздрава России, Москва
г. Москва, ул. Гамалеи, дом 18, +7 (926) 050-72-71,
egorosidak@gmail.com

Актуальность. Для локализации и пролонгации воздействия rhBMP-2 в клинике используют коллагеновый носитель, при этом доза местно вводимого в организм пациента rhBMP-2 в тысячу раз превышает количество эндогенного BMP-2. Поскольку емкость коллагенового носителя по отношению к rhBMP-2 невелика, то использование избыточного количества rhBMP-2 приводит к быстрому высвобождению более половины введенного rhBMP-2 в первые дни после имплантации и к таким побочным явлениям, как неуправляемый рост костной ткани, остеолиз, и, как следствие, потеря фиксации имплантата, отек близлежащих тканей, а так же повышенный уровень антител к BMP-2. Поэтому необходимо снизить количество используемого rhBMP-2, а также обеспечить дополнительные места связывания для фактора роста внутри самого имплантата.

Цель. Разработать коллаген-фибронектиновый матрикс, обеспечивающий контролируемое высвобождение rhBMP-2, а также исследование физиологических реакций организма, возникающих при его имплантации.

Материалы и методы. rhBMP-2 получали с помощью микробиологического синтеза и очищали по оригинальной технологии. В экспериментах использовали 0,5%-й стерильный раствор очищенного нативного крысиного коллагена и фибронектин плазмы крови человека (ООО фирмы «Имтек»). Высвобождение rhBMP-2 из носителей оценивали, инкубируя их в цельной плазме крови человека. Количественное содержание rhBMP-2, вышедшего из гелей, в исследуемых растворах оценивали с помощью ИФА тест-системы (ООО фирмы «Имтек»). In vivo исследование проводилось на 30 крысах-самцах Wistar. В ходе эксперимента носители имплантировали подкожно в паховую область и наблюдали в течение 42 дней. В определенные временные коллагеновые гидрогели извлекали; ткани, контактировавшие с ними, анализировали методами классической гистологии.

Результаты. Как и ожидалось, коллаген-фибронектиновый матрикс продемонстрировал более эффективное удержание rhBMP-2 in vitro при инкубации в человеческой плазме крови, по сравнению с коллагеновым гелем. Аналогичный результат был получен при удержании rhBMP-2 коллаген-фибронектиновым матриксом in vivo. Согласно гистологическим данным, мягкие ткани интегрируются с коллаген-фибронектиновым матриксом, начиная уже с третьих суток. А на 42 день после операции было отмечено наличие формирующейся костной ткани.

Выводы. По результатам гистологического исследования можно сделать вывод, что разработанный коллаген-фибронектиновый матрикс для доставки rhBMP-2 обладает

всеми преимуществами коллагеновых носителей: биосовместим, проницаем для клеток, способствует их адгезии и пролиферации. И при этом, в отличие от коллагенового носителя, применяемого в клинике, обеспечивает все условия для презентации rhBMP-2 в малых количествах, при которых сохраняется биологическая активность rhBMP-2.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЕСНЕВОЙ ЖИДКОСТИ В ОЦЕНКЕ ЗАЖИВЛЕНИЯ ОПЕРАЦИОННОЙ РАНЫ ПОСЛЕ ЦИСТЭКТОМИИ

Островская И.Г., Шишкин С.В., Мазур Л.Г.

ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия
Москва, 127473, ул. Делегатская 20/1, +7 (495) 365-45-97,
ostvavir@rambler.ru

Актуальность. После проведения хирургических манипуляций на челюстях затруднена оценка воспалительных и регенеративных процессов, протекающих в ране.

Цель исследования. Оценить состояние тканей пародонта в послеоперационной ране после цистэктомии по количеству про-и противовоспалительных цитокинов и защитных белков в десневой жидкости пациентов.

Материалы и Методы: С помощью полосок из хроматографической бумаги из десневой борозды были отобраны образцы десневой жидкости (ДЖ) у 53 пациентов с кистогранулёмами челюстей. Далее полоски с ДЖ помещали в 0,5 мл 0,9% р-ра NaCl и элюировали 4 часа при периодическом помешивании. В элюатах ДЖ иммуноферментным методом определяли количество в пг/мл интерлейкина-1β (ИЛ-1β), ИЛ-4, фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) и лактоферрина. Полученные данные были сопоставлены как в различные сроки обследования, так и с результатами лиц контрольной группы, не имеющих воспалительного процесса в пародонте. Все цифровые значения были подвергнуты статистической обработке и считались достоверными при $p<0,05$.

Результаты: исследования показали, что до операции в элюате ДЖ с кистогранулёмами нашими методами не определялось присутствие ИЛ-4 и ФНО-α, уровень ИЛ-1b был в десятки раз выше ($p<0,001$) по сравнению с нормой, и обнаруживался белок лактоферрин, отсутствующий в ДЖ интактной десны. На 7 сутки после операции удаления кистогранулём у пациентов количество ИЛ-1b в ДЖ возрастало ($p>0,05$), а содержание лактоферрина существенно не менялось ($p>0,5$). Через 3 и 6 месяцев в элюате ДЖ пациентов количество интерлейкина-1b приблизилось к значениям контрольной группы ($p>0,5$) и не определялись лактоферрин, ИЛ-4 и ФНО-α, что соответствовало показателям здорового пародонта.

Выводы: Показатели десневой жидкости могут использоваться для оценки тяжести патологий челюстно-лицевой области и регенеративных процессов после лечения воспаления периапикальных тканей.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ И МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ

Павлова Е.А., Ордиянц И.М.

Кафедра акушерства и гинекологии с курсом перинатологии РУДН. Ул. Миклухо-Маклая, 8, медицинский факультет, 117198 Россия, Москва.

Актуальность. Частое сочетание пролиферативных заболеваний эндометрия и молочных желез обусловлено наличием общих патогенетических характеристик, в поисках которых проводили цитогенетические, гистохимические, морфометрические исследования, однако надежный и доступный для практической медицины критерий прогнозирования развития гиперпластических заболеваний до настоящего времени не найден.

Цель исследования: улучшить диагностику гиперпластических заболеваний эндометрия и молочных желез на основании тестирования носительства генов-кандидатов.

Материалы и методы. Нами было обследовано 145 женщин, которые были разделены на группы: I – 41 женщина с изолированной ДДМЖ; II – 37 с изолированной ГПЭ; III – 52 с сочетанным гиперпластическим процессом в молочных железах и в эндометрии; и IV – 15 женщин, из контингента гинекологически и маммологически здоровых. В рамках специальных методов было проведено генетическое тестирование с оценкой полиморфизма генов GSTP1, CYP1A1 и GPIIIα.

Результаты. Анализ полиморфизма генов кандидатов показал статистически значимое повышение частоты мутантного аллеля D гена GSTP1 у пациенток с сочетанным гиперпластическим процессом – 88%. Абсолютное статистически значимое повышение частоты аллеля TT гена GPIIIα – 100% было получено у пациенток с изолированной ДДМЖ. У каждой второй пациентки, с изолированной ДДМЖ, имелось сочетание генотипа TT/D/AA; у пациенток с изолированной ГПЭ статистически достоверна абсолютная комбинация аллелей TT/AC/AG; у каждой второй пациентки с сочетанным гиперпластическим процессом эндометрия и молочных желез имеется сочетание генотипа TT/D/AA.

Выводы. С абсолютной точностью можно прогнозировать, что женщины-носительницы аллеля TT гена GPIIIα при воздействии триггерных факторов будут страдать ДДМЖ, а носительницы мутантного аллеля D гена GSTP1 с точностью 88,5% будут иметь сочетанный гиперпластический процесс в органах репродуктивной системы. Комбинация аллелей TT/AC/AG с практически 100% точностью увеличивает риск развития локализованной ГПЭ, а TT/D/AA увеличивает риск развития сочетанного гиперпластического процесса в эндометрии и в молочных железах на 48% и изолированно в молочных железах – на 56%.

РОЛЬ МАКРОФАГОВ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ГЕПАТОЦИТАХ ПРИ КЛЕТОЧНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ

Панин Л.Е.

ФГБУ « НИИ биохимии» СО РАМН, Новосибирск, Россия
Новосибирск, ул. Тимакова, 2. тел. (383) 335-97-35, ibch@soramn.ru

Регенерация клеток в организме человека и млекопитающих – это непрерывно протекающий процесс, позволяющий сохранять постоянство клеточного состава органов и тканей. Он находится под контролем резидентных макрофагов. Фагоцитируя продукты клеточной деградации, последние захватывают ЛПВП3 и глюкокортикоиды. Во вторичных лизосомах ЛПВП3 подвергаются дезинтеграции с освобождением аполипопротеина А-I (апоА-I), а стероидные гормоны восстанавливаются с образованием тетрагидросоединений при участии 5а- и 5а-редуктаз. Это приводит к образованию биологически активного комплекса гормон-апоА-I, который секретируется в интерстициальное пространство. После рецептор-опосредованного эндоцитоза соматическими клетками комплекс переносится в ядро. Здесь он взаимодействует с депротеинизированными участками ДНК. Наиболее предпочтительным является взаимодействие в области (GCC)n-повторов ДНК, которые часто встречаются в промоторных участках генов. За счет активного гидроксила в 3-м положении А-кольца гормона происходит конкурентный разрыв водородных связей в GC парах, что приводит к локальному плавлению ДНК. Дальнейший разрыв водородных связей происходит за счет гидрофобного взаимодействия азотистых оснований с а-спиральными участками апоА-I. На одноцепочечную ДНК садится РНК-полимераза, которая и запускает транскрипцию генов. Этот процесс наиболее активно происходит в ядрышковой ДНК, что усиливает образование предшественников рибосом. Последние переносятся в цитоплазму, где и участвуют в биосинтезе белков клетки на матричных РНК. Обнаружен механизм отрицательной обратной связи. Он обусловлен действием аполипопротеина Е. Последний полностью снимает влияние комплекса гормон-апоА-I на синтез ДНК, РНК и белка. Взаимодействие двух белков осуществляется на уровне ДНК, при этом происходит восстановление ее вторичной структуры. На культуре гепатоцитов показано, что стимулирующим эффектом по отношению к синтезу ДНК, РНК и белка обладает широкий спектр стероидных гормонов в комплексе с апоА-I. Данный механизм регуляции экспрессии генов проявляет себя не только в нормальных, но и в опухолевых клетках.

БИОИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЛЕЧЕНИИ УРОТЕЛИАЛЬНОГО РАКА (СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ)

Перепечин Д.В.[1], Белов П.Г.[2], Чернышев И.В.[1]

1 – ФГБУ «НИИ урологии» Минздрава России, Москва, Россия
Москва, ул. 3-я Парковая, 51, тел. +7 (910) 406-83-97,
medcraft@mail.ru
2 – ФГБОУ ВПО «МАТИ – Российский государственный технологический университет имени К.Э. Циолковского», Москва, Россия

Актуальность. Уротелиальный рак (рак мочевого пузыря, лоханки и мочеточника) представляет собой важную проблему современной медицины. Использование тканевой инженерии позволит решить проблему замещения органов мочевыводящей системы после органоуносящих операций (радикальная цистэктомия, нефроуретерэктомия) на принципиально другом уровне. Применение биоинженерных технологий требует комплексного подхода, участия широкого спектра специалистов (онкологи, биологи, финансисты, организаторы здравоохранения). Внедрение данной технологии очень наукоемко, требует больших затрат человеческих, финансовых, временных ресурсов. Одной из методик, позволяющих наиболее продуктивно использовать данную технологию, являются системный анализ и методы интеллектуального анализа (data mining). Данные методы широко применяются в науке и технике, в том числе и в последнее время предложено применять их и в медицине [Perepechin D.V. et al., 2013].

Цель. Изучение проблемы применения биоинженерных технологий при уротелиальном раке с использованием системного анализа.

Материалы и методы. В основу данной работы легло изучения 503 научных публикаций в отечественной и зарубежной литературе, посвященных уротелиальному раку и проблемам регенеративной медицины. В нашем анализе использовался опыт диагностики и лечения в НИИ урологии 435 больных уротелиальным раком стадии I-IV T1–4N0–1M0–1.

Результаты. Проведен системный анализ проблемы внедрения регенеративных технологий в лечение уротелиального рака. Разработан поэтапный план, рассмотрены проблемы, риски, необходимые силы и средства для внедрения данных технологий. Результаты анализа представлены в виде интеллектуальных схем.

Выводы. Системный анализ является методикой, позволяющей оптимизировать внедрение регенеративных технологий лечения уротелиального рака в медицинскую практику. При правильной организации работы и адекватном финансировании внедрение технологии создания биоинженерного мочевого пузыря и комплекса почка-мочеточник в практическую медицину можно ожидать в течение ближайших 10–15 лет.

ПРАВОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Перепечина И.О.[1], Перепечин Д.В.[2], Смирнова Д.В.[1], Сафин Р.Н.[2]

1 – МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
2 – ФГБУ «НИИ урологии» МЗ, Москва, Россия
Москва, ул. 3 Парковая, 51, тел. +7 (910) 406-83-97, medcraft@mail.ru

Актуальность. Клинические испытания регенеративных технологий, а также внедрение их в практику медицины требуют своевременной разработки соответствующего правового базиса. В настоящее время юридические аспекты регенеративной медицины изучены недостаточно, что делает необходимым проведение исследований в этой области.

Цель. Изучить правовые проблемы, с которыми связано использование регенеративных технологий в России. Провести анализ зарубежных правовых источников, регламентирующих деятельность в области регенеративной медицины за рубежом.

Материалы и методы. Проведен анализ правовых и этических проблем, с которыми связана деятельность в области регенеративной медицины. Изучены источники, имеющие отношение к правовому регулированию проблем регенеративной медицины в России и за рубежом.

Результаты. Изучение вопросов регенеративной медицины показывает, что ни одна из стран, внедряющих данные технологии, не избежала юридических и этических проблем, однако, в условиях национальных законодательств эти проблемы имеют свои особенности. В России вопрос о разработке соответствующих правовых актов стоит весьма остро, что связано с пробелами в правовом регулировании целого ряда аспектов, имеющих отношение к деятельности в данной сфере.

Выводы. Испытание и применение регенеративных медицинских технологий в практике требуют специального правового регулирования. Деятельность в данной области может быть вовлечена в сферу уголовного и гражданского судопроизводства. Проблемы регенеративной медицины требуют комплексного обсуждения. Ее правовой базис должен разрабатываться юристами совместно с врачами, биологами и рядом других специалистов, связанных с данной сферой.

КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ОБЪЕМНЫХ НОСИТЕЛЯХ

Петренко А.Ю.[1], Петренко Ю.А.[1], Зайков В.С.[1], Правдюк А.И.[1], Лозинский В.И.[2], Иванов Р.В. [2], Кацсен-Глоба А.[3], Мэйзер И.[3], Циммерман Х.[3]

1 – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАНУ, ул. Елизарова 23, Харьков, Украина, тел. 380 573430135, alexander_petrenko@cryo.org.ua
2 – Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова, РАН, ул. Вавилова 28, Москва, Россия, loz@ineos.ac.ru
3 – Fraunhofer IBMT, Ensheimer Str. 48, 66386 St. Ingbert, Germany

Криоконсервирование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в составе объемных носителей позволит ускорить изготовление, варьировать свойствами тканеинженерных конструкций, а также даст возможность многократного использования клеток одного пациента в протоколах регенеративной медицины.

В работе исследовали некоторые подходы к криоконсервированию МСК в составе альгинатных микросфер различного размера и широкопористых криогелевых губок на основе альгината и желатина. Показано, что сохранить жизнеспособность и специфические свойства МСК, инкапсулированных в альгинатные микросферы, удается путем как общепринятого метода криоконсервирования, включающего медленное ступенчатое охлаждение в присутствии 10% криопротектора диметилсульфоксида, так и витрификации с использованием специального коктейля проникающих и непроникающих криопротекторов. При этом размер микросфер во многом определяет время эквилибрации и концентрацию криопротекторов, необходимые для успешного криоконсервирования. После возвращения в физиологические условия МСК, криоконсервированные в составе микросфер, сохраняли способность к мультилинейной дифференцировке.

Пилотные исследования показали принципиальную возможность криоконсервирования МСК в составе широкопористых криогелевых губок и роль формы клеток в отношении их криочувствительности.

Приведенные результаты свидетельствуют о возможности успешного криоконсервирования МСК в составе объемных носителей и перспективности применения криоконсервированных тканеинженерных конструкций в регенеративной медицине.

ОРГАНИЗАЦИЯ ОБЩЕСТВЕННОГО РЕГИСТРА ДОНОРОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ С ГЕНОТИПОМ CCR5 DELTA 32/DELTA 32 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Пирожков И.А.[1,2], Смолянинов А.Б.[1,2], Чечеткин А.В.[3], Иволгин Д.А.[1,2], Хрупина А.С.[1,2]

1 – Покровский банк стволовых клеток, Санкт-Петербург, Россия
2 – НИЛ клеточных технологий СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия
3 – Российский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА М3 РФ
Email: ipir@mail.ru

ВИЧ проникает в клетки посредством связывания гликопротеина вирусной оболочки gp 120 с мембранными рецепторами CD4 и CCR5. Известен полиморфизм CCR5 delta 32. Вследствие этого гомозиготные носители этого полиморфизма обладают практически полной резистентностью к инфицированию ВИЧ. Распространённость генотипа CCR5 delta 32/delta 32 составляет около 1% среди белого населения.

Перспективы применения пуповинной крови при лечении ВИЧ-инфекции связаны с возможностью проведения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) пуповинной крови ВИЧ-инфицированному реципиенту от донора с генотипом CCR5 delta 32/delta 32.

Цель работы. Обследование образцов пуповинной крови для детекции CCR5 delta 32, анализ данных образцов по количеству ядросодержащих клеток и HLA генотипу.

Материалы и методы. Скрининговое обследование образцов пуповинной крови проводится методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Результаты работы. Обследовано 2260 образцов пуповинной крови за период с октября 2011 года по октябрь 2013 года. Обнаружено 25 гомозиготных носителей полиморфизма CCR5 delta 32 (1,11% в относительном количестве), 439 гетерозиготных носителей полиморфизма CCR5 delta 32 (19,42% в относительном количестве).

Выводы. Выявленные образцы пуповинной крови с генотипом CCR5 delta 32/delta 32 при получении результатов клинических испытаний могли бы найти применение при лечении ВИЧ-инфекции в Российской Федерации и за рубежом. Наиболее очевидной группой пациентов для трансплантации стволовых клеток пуповинной крови, гомозиготных по мутации CCR5 delta 32, являются ВИЧ-инфицированные, нуждающиеся в ТГСК по поводу гематологических заболеваний. На основе этой работы будет организован общественный регистр доноров пуповинной крови с генотипом CCR5 delta 32/delta 32 в Северо-Западном Федеральном округе Российской Федерации для лечения ВИЧ-инфекции.

ВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ

Плотников Е.Ю., Пулькова Н.В., Певзнер И.Б., Зорова Л.Д., Сухих Г.Т., Зоров Д.Б.

НИИ Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 73
e-mail: zorov@genebee.msu.ru
ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова МЗ РФ, Москва, Россия

Наряду с антибактериальной терапией предотвращение или ограничение развития воспалительного процесса и повреждения ткани почки является одной из основных задач при лечении пиелонефрита. Одна из стратегий модуляции чрезмерного воспалительного ответа предполагает использование клеточных технологий и применение мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток (ММСК).

Целью данной работы было исследование механизмов влияния ММСК костномозгового происхождения на течение экспериментального острого пиелонефрита, а также поиск способов повышения их терапевтической эффективности.

Результаты. Было показано иммуносупрессорное действие ММСК, приводящее к снижению выраженности системных и местных проявлений инфекционно-воспалительного процесса после индукции острого пиелонефрита у крыс. Обнаружено, что при экспериментальном пиелонефрите ММСК, введенные в кровоток, способны мигрировать в поврежденные ткани почки. Выявлено, что при совместном культивировании с лейкоцитами, активированными липополисахаридом (ЛПС), в ММСК наблюдается запуск сигнальных путей, характерных для адаптации к окислительному стрессу (прекондиционирование), и увеличение продукции иммуномодуляторных факторов. Установлено, что ММСК, прекондиционированные воспалительным окружением, в большей степени, чем интактные ММСК, уменьшают число лейкоцитов в крови, снижают выраженность инфильтрации почечной ткани нейтрофилами, следствием чего является снижение уровня TNFα и уменьшение повреждения почки при пиелонефрите.

Полученные результаты могут быть использованы для разработки способов направленного изменения свойств ММСК для увеличения их пролиферативной и миграционной активности, а также способности оказывать иммуномодулирующее и противовоспалительное действие.

ХОУМИНГ C-KIT-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫСЫ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ

Плюшкина А.С.[1], Калигин М.С.[2,1], Шафигуллина А.К.[1], Киясов А.П.[2]

1 – Казанский Государственный Медицинский Университет, Казань, Россия, ул. Бутлерова 49 тел.: +7 (843) 236-06-52, ob_alexa@mail.ru
2 – Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия, ул. Кремлевская, 18 тел.: +7 9050201714, mfkaligin@mail.ru

Известно, что при экспериментальном диабете I типа C-kit+ клетки поджелудочной железы (ПЖ) способны корректировать углеводный обмен путем восстановления популяции инсулин-продуцирующих клеток. При этом не понятно, как происходит встраивание этих клеток в ПЖ при трансплантации. Поэтому целью исследования стало изучение хоуминга C-kit+ клеток в ПЖ после трансплантации при экспериментальном диабете.

Материалы и методы. Работа проведена на 20 белых крысах-самцах с аллоксановым диабетом. У одной группы крыс через 2 суток эксперимента проводили забор ПЖ для выделения C-kit+ клеток методом магнитной сепарации с последующим мечением выделенных клеток аденовирусом, экспрессирующим зелёный флуоресцентный белок. Меченые клетки вводили крысам второй группы в хвостовую вену. Через 1, 2, 3, 4 суток после трансплантации крыс выводили из эксперимента и проводили забор ПЖ. Гистологические срезы ПЖ окрашивали иммуногистохимически с антителами против EGFP, C-kit и инсулина.

Результаты исследования показали появление EGFP+, C-kit+ и инсулин+ клеток в интерстиции ПЖ и вокруг сосудов уже через сутки после трансплантации, и эти клетки сохранялись в железе на всех исследованных сроках. Мы предполагаем, что клетки в интерстиции, экспрессирующие EGFP, C-kit и инсулин – это трансплантированные нами клетки.

Вывод. Выделенные C-kit+ клетки при трансплантации способны мигрировать в ПЖ и синтезировать инсулин, что позволяет предложить их использование для разработки методов клеточной терапии сахарного диабета I типа.

Исследование поддержано грантом МК 3632.2011.7

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ПРИ МОБИЛИЗАЦИИ G-CSF

Повещенко О.В.[1,2], Покушалов Е.А.[2], Романов А.Б.[2], Бондаренко Н.А.[1,2], Лыков А.П.[1,2], Ким И.И.[1,2], Повещенко А.Ф.[1,2], Караськов А.М.[2], Коненков В.И.[1,2]

1 – ФГБУ «НИИКЭЛ» СО РАМН;
2 – ФГБУ «ННИИПК им. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ, Новосибирск, Россия
Новосибирск, ул. Тимакова, 2, тел. +7 (383) 333-64-09,
Poveschenkoov@yandex.ru

Эндотелиальные прогениторные клетки (ЭПК) играют важную роль в неоваскуляризации тканей взрослого организма, что обусловлено их способностью дифференцироваться в эндотелиальные клетки, участвуя в формировании новых сосудов, а также способностью продуцировать различные ростовые факторы и цитокины, стимулирующие васкуло- и ангиогенез.

Целью исследования является изучение эффективности мобилизации и цитокин-продуцирующей активности ЭПК введением препарата G-CSF у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН).

Материалы и методы. Фенотипирование ЭПК 30 пациентов проводили с помощью проточного цитометра FACSCantoII (Becton Dickinson, США). Культура ЭПК получена из МНК мобилизованных введением G-CSF на обработанном фибронектином пластике. Уровень продукции цитокинов изучали в кондиционных средах (КС) с помощью твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты. Показано, что мобилизация G-CSF приводит к увеличению как пула ЭПК костномозгового происхождения – ранних в дифференцировочном отношении (CD133+CD34+VEGFR2+) и зрелых (CD34- VEGFR2+ CD31+) ЭПК, так и ЭПК моноцитарного происхождения (CD14+VEGFR2+). Установлена высокая сопряженность между количеством различных популяций ЭПК и продукцией проангиогенных цитокинов в культуре МНК (VEGF, Epo, TNF-α, IL-18, IL-10). Отмечена высокая продукция TNF-α, IL-10, IL-18, IL-8, Epo, G-CSF, VEGF «ранними» ЭПК (8 сут) и снижение продукции IL-10, IL-18, IL-8, Epo «поздними» (16сут) ЭПК при культивировании на фибронектине.

Таким образом, МНК периферической крови после мобилизации G-CSF у пациентов с ХСН содержат гетерогенный пул ЭПК, обладающих функциональным резервом, продуцируя биологически активные цитокины и ростовые факторы.

ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ДЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ КОМПОЗИЦИОННЫХ КОСТНО-КЕРАМИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Подорожная В.Т., Кирилова И.А.

ФГБУ «ННИИТО им.Я.Л.Цивьяна» Минздрава России, Новосибирск, Россия, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, тел. +7 (383) 363-31-31 доб. 1351, VPodorognaya@niito.ru

Изыскание возможности управления репаративными процессами и изучение закономерностей новообразования костной ткани при пластике дефектов костно-пластическими материалами являются актуальными как для анатомии, так и для травматологии и ортопедии.

Цель работы: комплексное исследование структурно-функциональных характеристик аллокости и керамики как основы композиционных костно-керамических материалов (КККМ) и изучение закономерностей остеогенеза при их использовании для остеопластики.

Результаты. Эффективность модификации поверхности подтверждена данными биологического эксперимента in vivo при имплантации экспериментальных образцов (ЭО) КККМ и модифицированных ЭО КККМ в кость нижней челюсти экспериментальных животных (крыс). Изучены процессы остеоинтеграции в сроки наблюдения 15 и 30 суток после имплантации. Общими признаками для различных серий эксперимента являлись: отсутствие признаков воспалительной реакции, вызванной имплантированными материалами; более интенсивное костеобразование в участках плотного прилегания кости и имплантата, связанное со стимуляцией стволовых клеток биомеханической нагрузкой; костеобразование путем аппозиционного роста кости от периферии костного дефекта к центру имплантата путем напластования; минерализация межклеточного матрикса ионами кальция на всех сроках наблюдения. В случае применения (обогащенной тромбоцитами плазмы) БоТП биологический отклик отличался активацией как стромального, так и гемопоэтического компонента костеобразования, тогда как при спонтанной регенерации и, особенно в случае применения МСК преимущественно развивалась строма костного мозга. В ряде случаев через 30 суток после имплантации модифицированного БоТП ЭО КККИ наблюдали замуровывание имплантата новообразованной костной тканью, без возможности его извлечения. Необходимо продолжение исследования в отдаленные сроки наблюдения 90 и 180 сток, чтобы сделать заключение о стабильности данного имплантата и перспективах его клинического использования.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007–2013 годы» ГК № 14.512.11.0007.

ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ БИОКОМПОЗИЦИОННОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ КОСТИ АЛЛОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И КЕРАМИКИ

Подорожная В.Т., Кирилова И.А.,

ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, Новосибирск, Россия, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, тел. +7 (383) 363-31-31 доб. 1351, VPodorognaya@niito.ru

Проблема восстановления анатомической целостности и функции костной ткани до сих пор остается актуальной. Костные дефекты, образовавшиеся после травм, оперативных вмешательств, опухолей требуют применения полноценных пластических материалов, дефицит которых в последние десятилетия все больше ощущает практическая медицина.

Цель работы: исследование процессов остеокондуктивной и остеоиндуктивной активности костных тканей при остеоимплантации новыми композиционными материалами с целью создания на их основе имплантатов костной ткани нового поколения.

Результаты. В ходе выполняемой работы были изготовлены и выполнены структурные испытания экспериментальных образцов композиционных костно-керамических имплантатов (ЭО КККИ), которые могут быть дополнительно модифицированы биологически активными компонентами для последующего использования при костной пластике: мезенхимальными стромальными клетками (МСК) или обогащенной тромбоцитами плазмой (БоТП). Исследования ЭО КККИ и модифицированных ЭО КККИ включали в себя использование таких методов, как светооптическая, сканирующая электронная, флуоресцентная микроскопия, порометрия, профилометрия, а также спектроскопия. В ходе работы подтверждена пористая структура образцов. Поверхностные поры (до 100 мкм) являются открытыми, а внутренние поры – замкнутыми, средний продольный размер пор – 70 мкм, средний поперечный размер пор – 46 мкм. Выполнены биологические исследования по плану биологических исследований ЭО КККИ in vitro или in vivo в соответствии с программой и методиками исследований, разработан лабораторный технологический регламент получения экспериментальных образцов, выполнено биотестирование in vivo и in vitro ЭО модифицированных КККИ. Обобщены и оценены полученные результаты, проведены маркетинговые исследования, разработаны рекомендации по использованию результатов проведенного исследования в реальном секторе экономики, а также в дальнейших исследованиях и разработках.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007–2013 годы» ГК №14.512.11.0007.

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕЧЕНИЯ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА АППАРАТЕ «БИОИСКУССТВЕННАЯ ПЕЧЕНЬ»

Полевщикова Е.Е., Рябинин В.Е., Козочкин Д.А.

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Челябинск, Россия
Челябинск, ул. Воровского 64, +7 (351) 232-74-70, cct49@mail.ru

Разработка новых способов детоксикации и нормализации обменных процессов при острой печеночной недостаточности (ОПН) вызвана низкой эффективностью традиционных методов лечения. Предлагаемый к клиническому использованию аппарат «Биоискусственная печень» (БИП) не имеет аналогов в России и по сравнению с зарубежными отличается простотой изготовления и обслуживания, небольшой стоимостью расходных материалов и широкими функциональными возможностями. Проведенные ранее ограниченные клинические исследования показали безопасность и эффективность использования аппарата «БИП», предназначенного для экстракорпорального очищения крови методами плазмосорбции, альбуминовой и цитозольной детоксикации при лечении пациентов с тяжелыми заболеваниями печени.

В настоящей работе представлены результаты 2 фазы клинических испытаний на 15 пациентах с ОПН различной этиологии. Все больные находились в крайне тяжелом состоянии, с отрицательной клинической динамикой и нарастающей энцефалопатией.

Альбуминовый диализ проводили в режиме рециркуляции на гемодиализаторе REXEED-21UX (Asahi) с использованием гемосорбента СКН-1. Контроль биохимических маркеров повреждения печени проводили до и после сеанса. После однократной процедуры альбуминового диализа активность таких маркеров цитолиза, как АЛТ и АСТ снижалась достоверно на 36% и 28% соответственно (p=0,0025). Показатели, характеризующие синдром холестаза, изменялись однонаправленно: достоверно снижался уровень общего билирубина на 36,5% (p=0,0003), прямого билирубина на 42,5% (p=0,0001) и непрямого билирубина на 42,3% (p=0,04). Активность щелочной фосфатазы уменьшалась достоверно на 51% (p=0,005). После сеанса отмечалась стабилизация состояния больных, уменьшались проявления энцефалопатии. Эффективность лечения (выживаемость) составила 80%. Полученные данные свидетельствуют о том, что использование аппарата «БИП» позволяет купировать холестатический и цитолитический синдромы, снизить степень интоксикации и летальности у пациентов с ОПН. Дальнейшее усовершенствование конструкции аппарата «БИП» и проведение экспериментально-клинических исследований позволит создать импортозамещающий мультифункциональный аппарат для очищения крови с возможностью проведения клеточного диализа, гемо- и ультрафильтрации, гемо- и плазмосорбции и др.

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КАРДИОМИОБЛАСТОВ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ МИОКАРДА ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ

Полтавцева Р.А., Власов Г.П., Сухих Г.Т.

ФБГУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия, ул. Академика Опарина, 4, тел. +7 (495) 438-18-00, rimpol@mail.ru

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния интрамиокардиальной трансплантации фетальных кардиомиобластов человека на регенерацию миокарда у модельных животных с искусственно вызванным острым инфарктом миокарда (ОИМ).

Материал и методы исследования: эксперимент проводили на 20 поросятах массой 20±2 кг. Для трансплантации использовали фетальные кардиомиобласты, полученные из абортивного материала от нежизнеспособных плодов. Инфаркт миокарда (ИМ) вызывали путем высокого лигирования передней межжелудочковой артерии из левосторонней торакотомии. Интрамиокардиальную трансплантацию кардиомиобласт-тов в зону инфаркта миокарда проводили в ранние (1–3 сут.) и поздние (7–10 сут.) сроки острого ИМ. Контрольной группе трансплантацию не проводили. Фракцию выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) определяли по Эхо-КГ до трансплантации и после неё течение 6 недель. По окончании эксперимента были проведены посмертная ангиокардиография, морфометрия сердца и гистологическое исследование миокарда.

Результаты. Перед началом эксперимента у всех животных исходная фракция выброса ЛЖ была в пределах 70–75%. Сразу же после вызывания ОИМ фракция выброса снижалась до 40–45%. В контрольной группе через 6 недель после вызывания ОИМ фракция выброса оставалась на уровне 40–45%. Гистологический анализ показал наличие крупноочагового кардиосклероза, истончение миокарда с формированием аневризмы ЛЖ. В группе с ранним сроком введения через 3 недели и по окончании эксперимента ФВ была в пределах 70–80%. Морфологический анализ показал умеренно выраженный кардиосклероз без развития аневризмы ЛЖ. В группе с отсроченным сроком введения было отмечено возрастание ФВ, однако он не превышал 60%, был выявлен крупноочаговый кардиосклероз, сопровождающийся аневризмой сердца.

Выводы: трансплантация кардиомиобластов в ранние сроки ИМ позволяет избежать развития крупноочагового кардиосклероза и постинфарктной аневризмы ЛЖ и восстановить сократительную способность миокарда ЛЖ свиней до исходных величин в течение 3-х недель и тем самым может способствовать полной реабилитации.

ТКАНЕВАЯ ИЖЕНЕРИЯ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА – СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Пономарёв И.В., Ройтер Т., Барневиц Д.

Исследовательский центр по медицинской технике и биотехнологии, Бад Лангензальца, Германия
99947 Bad Langensalza, Geranienweg 7, (+49) 3603-833-183,
iponomarev@fzmb.de

Восстановление повреждений суставного хряща является актуальной проблемой травматологии и ортопедии. Гиалиновый хрящ как ткань обладает крайне низким регенеративным потенциалом. Поэтому однажды возникшее травматическое пореждение суставной поверхности может привести к развитию артроза с потерей основных функций сустава, заканчивающаяся его протезированием. Одним из методов позволяющим восстанавливать нарушения целостности суставного хряща является тканевая инженерия (ТИ). Основным принципом ТИ является получение биоптата хряща при артроскопическом обследовании сустава, изолирование хондроцитов и их размножение в условиях in vitro и последующая имплантация в место дефекта в виде клеточной суспензии или трёхмерного трансплантата изготовленного на основе синтетической резорбируемой матрице-носителе.

Материалы и методы. Нами была разработана оригинальная методика изготовления трёхмерных хрящевых трансплантатов без использования матриц-носителей. В основе метода лежит создание условий культивирования имитирующие естественное состояние хондроцитов – циклическая механическая стимуляция размноженных и переведённых в трёхмерное состояние клеток. Были проведены сравнительные биохимические, гистологические, иммунногистохимические исследования между хондротрансплантатами полученными на матрицах-носителях и изготовленных по оригинальной методике. Также были изучены изменения биомеханических параметров трансплантатов созданных без матриц-носителей. Контролем в проведённых исследованиях служили препараты нативного суставного хряща.

Результаты. Было выявлено, что в хондротрансплантатах изготовленных без матриц-носителей показатели основных компонентов внеклеточного матрикса в 15 раз превышали аналогичные полученные на матрицах-носителях. Гистологические и иммунногистохимические исследования показали высокое сходство препаратов нативного хряща и препаратов полученных по оригинальной методике. Показано возрастающее изменение биомеханических параметров в процессе культивирования хондротрансплантатов изготовленных без матриц-носителей.

Таким образом, разработанная методика изготовления трёхмерных хрящевых трансплантатов без помощи искусственных матриц-носителей представляет собой несомненную перспективу в лечении травматических повреждений суставного хряща. Дискутируется также возможность применения данной методики в качестве модели in vitro при исследовании процессов развития артроза, тестирования фармапрепаратов, а также при изучении инициальных стадий остеогенеза при восстановлении переломов костей.

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ПРОЧНОСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА ДЕЦЕЛЛЮЛЯРОВАННЫХ СОСУДИСТО-КЛАПАННЫХ ГРАФТОВ

Попандопуло А.Г., Петрова М.В.

ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака НАМНУ»,
Украина, г. Донецк, пр-т Ленинский, 47; 83045; тел. (062) 385-76-87;
pmv-07@yandex.ru

Проблема врожденных и приобретенных пороков сердечного клапанного аппарата, на сегодняшний день, стоит достаточно остро. Основные силы науки направлены на разработку новых подходов к данной проблеме. Главным развивающимся направлением является тканевая инженерия, подразумевающая создание новых тканей и органов для реконструкции поврежденных.

Цель. Данное исследование было посвящено получению бесклеточного соединительнотканного каркаса сосудисто-клапанного биопротеза с сохраненной структурой волокон и способного к адекватному упруго-прочностному ответу на прогнозируемое физическое воздействие in vivo.

Материалы и методы. В работе использовали сердечные свиные клапаны, децеллюлированные посредством обработки апоптозвызывающим раствором (раствор ЭДТА (Sigma, США)) в течение 2-х суток. По истечении данного времени экспозиции образцы тщательно отмывались от рабочего раствора и подвергались дальнейшему гистологическому анализу (по Вирхову (Вергофу), PAS-реакция) и исследованию прочностных характеристик матрикса.

Результаты. В срезах наблюдалась PAS-позитивная реакция, наиболее интенсивно выраженная в области створки клапана. Участок стенки аорты, при исследовании эластических волокон по Вергофу, окрасился в темно-бордовый, а область створки клапана – в малиновый цвет. Согласно результатам исследования физико-механических свойств экстрацеллюлярного матрикса децеллюлированных образцов они сохраняются на высоком уровне. Так, стенка обработанного графта, выдерживает давление порядка 115–120 КПа (863–900 мм рт. ст.), а стенка интактного образца – 180–200 КПа (1350–1500 мм рт. ст.)

Таким образом, согласно результатам специфических окрасок, коллагеновые и эластиновые волокна после децеллюляризационной обработки сохраняют свою структуру. При этом, стенка сосуда имеет достаточно высокий запас прочности, позволяющий выдерживать внутрисосудистое давление in vivo.

КЛЕТОЧНО-ТКАНЕВОЙ ЭКВИВАЛЕНТ РОГОВИЦЫ

Попандопуло А.Г.[1], Кавелина А.С.[1], Иванова О.Н.[2], Дрожжина Г.И.[2]

1 – ГУ «ИНВХ им. В.К. Гусака НАМН Украины», г. Донецк, Украина
2 – ГУ «ИГБТТ им.В.П. Филатова НАМН Украины», г. Одесса, Украина
Донецк-45, пр. Ленинский 47, тел. (062) 385-76-87,
annakavelina@mail.ru

Актуальность. Чувствительность тканей роговицы к повреждающему действию физиологических и биохимических преобразований при повреждениях глаз приводит к нарушению репаративно-регенераторных процессов в роговице. Особенно это касается лимбальной части, ведь доказано ее важнейшее значение в жизнеспособности роговицы. Недостаточная эффективность традиционной терапии диктует необходимость поиска нового способа лечения. Последние годы отмечается повышенный интерес офтальмологов к использованию амниона. Обладая рядом уникальных свойств, амниотическая мембрана (АМ) нашла широкое применение в пластической и реконструктивной офтальмохирургии.

Цель. Создать биоинженерную конструкцию искусственной роговицы на основе амниона с многослойным культивированием клеток роговицы человека.

Материалы и методы. Для создания клеточно-тканевого эквивалента роговицы использовали протестированные клеточные культуры лимбальных стволовых клеток (ЛСК) и клеток плоского эпителия (КПЭ) роговицы человека, полученные ферментативным и методом экспланта. В 8-ми луночное плато (μ-Slide 8 well, IBIDI, Gmbh) помещали кусочки АМ размером 1х1 см^2: четыре образца стромальной стороной вверх и четыре – стороной базальной мембраны. Наносили на поверхности амниона по 10 тыс. ЛСК в 200 мкл питательной среды, содержащей ЭТС, и ряд ростовых факторов. После достижения монослоя наносили КПЭ в том же количестве, культивировали в течение 3 суток. Проводили иммуногистохимические окрашивания, гемотоксилином и эозином, по Романовскому.

Результаты. Послойное культивирование клеток роговицы человека благоприятно осуществляется на любой из поверхностей АМ с учетом правильно подготовленной мембраны и подобранных питательных сред.

Выводы. Созданная биотехнологическая модель способна стимулировать процессы репарации при повреждениях роговой оболочки и в определенных случаях может стать альтернативой кератопластики.

ВЛИЯНИЕ ФЕТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НА Т-РЕГУЛЯТОРНЫЕ КЛЕТКИ ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА

Порожан Е.А., Бабенко Н.Н., Останков М.В., Гольцев А.Н.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,
г. Харьков, Украина,
г. Харьков, ул. Переяславская, 23, тел. : +38 (057) 373-57-89,
e-mail: janepor@yandex.ru

В обеспечении иммунологической аутотолерантности ключевую роль играют популяции Т-регуляторных клеток (Treг). Восстановление Т-регуляторного звена иммунитета должно лежать в основе терапии аутоиммунных заболеваний, в том числе рассеянного склероза. На сегодняшний день для лечения ряда нейродегенеративных заболеваний достаточно хорошо зарекомендовали себя фетальные нервные клетки (ФНК). Обязательным этапом их клинического применения является криоконсервирование. Однако практически отсутствуют данные о влиянии криоконсервированных ФНК на функциональное состояние Т-регуляторного звена иммунитета при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите (ЭАЭ).

Цель работы: исследовать влияние ФНК на формирование натуральных и индуцированных Treг клеток в динамике развития ЭАЭ.

Материалы и методы. Исследования выполнены на белых беспородных крысах с индукцией ЭАЭ. ФНК крыс 11 суток гестации криоконсервировали по 2-м режимам и вводили животным внутрибрюшинно на 14-е сутки развития ЭАЭ. Контролем служили нативные ФНК и нервные клетки взрослых животных. Через каждые 7 суток в течение месяца методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител в тимусе и периферической крови определяли количество CD4+Foxp3+ и дендритные клетки (ДК+).

Результаты. Установлено, что на пике развития патологии содержание натуральных Treг клеток существенно повышалось (в 3,5±0,13 раза), а индуцированных Treг клеток – снижалось почти в 30 раз по сравнению с контролем. Это связано с нарушением экспортной функции тимуса при ЭАЭ. Содержание ДК в тимусе животных с ЭАЭ однонаправлено изменялось с количеством натуральных Treг клеток. Данный факт свидетельствует о непосредственном участии тимических ДК в формировании натуральных Treг клеток. Введение криоконсервированных ФНК способствовало восстановлению экспортной функции тимуса. Рассматриваются возможные механизмы влияния ФНК на Т-регуляторное звено иммунитета.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ОДНОСТЕНОЧНЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Посыпанова Г.А., Москалева Е.Ю., Федоров Г.Е., Гайдученко И.А., Северин С.Е.

НИЦ «Курчатовский институт» НБИКС-центр, Москва, Россия
Москва, Площадь Курчатова, 1, тел. +7 (499) 613-48-27,
galinapo@gmail.com

В последние годы для лечения последствий инсультов исследуются подходы с использованием вместо имплантов силикона импланты с использованием одностеночных углеродных нанотрубок (УНТ) в качестве носителей препаратов нейрональных стволовых клеток. УНТ представляют собой свернутые в бесшовные цилиндры графеновые пластины. Показано, что подложки, содержащие УНТ могут способствовать росту, пролиферации и дифференцировке нейронов, а адсорбция специфических молекул на их поверхности может инициировать развитие нервных тканей определенного типа на различных матриксах. В связи с этим целью работы явилось исследование влияния УНТ на скорость роста и дифференцировку в нейроны модельных нейрональных клеток феохромоцитомы линии PC12.

Материалы и методы. УНТ на кремниевых или стеклянных пластинах для культивирования клеток синтезировали с использованием установки для осаждения из газовой фазы. Клетки линии PC12 культивировали в среде ДМЕМ с 10% эмбриональной бычьей сыворотки и 5% лошадиной сыворотки в стандартных условиях и высевали на подложки с УНТ в 24-луночные планшеты. Для стимуляции дифференцировки в нейроны к клеткам добавляли фактор роста нервов (NGF). Морфологию, жизнеспособность и степень дифференцировки клеток при культивировании на УНТ определяли с помощью световой и сканирующей электронной микроскопии. Выживаемость клеток оценивали с помощью МТТ-теста.

Результаты. Показано, что выживаемость клеток PC12 на УНТ составила 100%. Нейрональные клетки более медленно прикреплялись к матрицам, содержащим УНТ, но при этом скорость пролиферации клеток линии PC12 на матрицах с УНТ возрастала в 2,5–5 раз по сравнению с матрицами без УНТ. Обнаруженный эффект может быть обусловлен электростимулирующими свойствами УНТ. Дифференцировка клеток линии PC12 под влиянием NGF в нейроны, оцениваемая по количеству и длине нейритов, на матрицах УНТ была более эффективной.

Выводы. Показана биосовместимость синтезированных одностеночных УНТ с нейрональными клетками и их способность стимулировать пролиферацию и дифференцировку нейрональных клеток. УНТ являются перспективным материалом для создания матриц со стволовыми клетками для стимуляции регенеративных процессов при повреждении мозга.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ И СТРУКТУРНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ АДЕКВАТНОСТЬ СИНТЕЗИРОВАННОЙ КОЛЛАГЕН-ГИДРОКСИАПАТИТОВОЙ МАТРИЦЫ ЗАДАЧАМ КОНСТРУИРОВАНИЯ ОСТЕОГЕННЫХ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

Просвирин А.А.[1], Склянчук Е.Д.[1], Гурьев В.В.[1], Акатов В.С.[2], Фадеева И.С.[2], Фадеев Р.С.[2], Телешев А.Т.[3], Горшенев В.Н.[4]

1 – Московский государственный медико-стоматологический университет, Россия
2 – Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.
3 – Московский педагогический университет, Россия.
4 – Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, Москва, Россия
127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1.
Тел.: +7 (495) 359-02-95, drevg@mail.ru

Актуальность. Образование костных дефектов в результате тяжелой травмы или развития деструктивных заболеваний костной ткани характеризуется высокой частотой и представляет собой сложную и далеко не решенную проблему их лечения в современной травматологии и ортопедии и челюстно-лицевой хирургии.

Материалы и методы. Нами разработан костный биоимплантат структурно приближенный к костной ткани (патент РФ №2482880). Его физико-химические свойства изучены с применением элементного анализа, ультразвуковой микроскопии и сканирующей электронной микроскопии, а также на вакуумной адсорбционной установке. Биологические свойства оценивались на культуре фибробластов, перитонеальных макрофагах и в контролируемых испытаниях в условиях модели ортотопической имплантации (дефекты черепа крысы диаметром 3,5 мм).

Результаты. Синтезированный материал нейтрален по pH, высоко гидрофилен, состоит на 40% из коллагена и на 60% из гидроксиапатита. Обладает многоуровневой пористостью: макропористость от 50 до 200 μm, микропоры от 1 до 20 μm и нанопоры в пределах 200 nm. Фибробластоподобные клетки хорошо распластываются и фиксируются на материале, проявляют митотическую активность. Технология изготовления материала позволяет легко внедрять и дозировать белки-индукторы остеогенеза (BMP2), иммобилизованные на кристаллах гидроксиапатита. Перитонеальные макрофаги на введение материала в брюшную полость не меняют свой фенотип в провоспалительную сторону. В костном дефекте in vivo усиления воспалительной реакции по сравнению с контролем не выявлено, активизировался естественный остеогенез по краям дефекта с прогрессирующим увеличением размеров «конусов костного роста», к 8 недельному сроку резорбируется до 30% исходного объема имплантированного мате-

риала с построением грубоволокнистой соединительной ткани равномерно заполняющей костный дефект без признаков образования соединительнотканной капсулы.

Выводы. 1) физико-химические свойства разработанной коллаген-гидроксиапатитовой матрицы способствуют устойчивой клеточной адгезии без усиления воспалительной реакции и обеспечивают остеокондуктивный эффект; 2) технология производства материала позволяет внедрять и четко дозировать в структуре имплантата белки индукторы остеогенеза; 3) скорость резорбции материала приближена к срокам физиологического построения костной ткани.

КОРРЕКЦИЯ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОСРЕДСТВОМ ИНТРАЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Пузанов М.В.[1], Анисимов С.В.[1], Соколова И.Б.[2]

1 – ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова»;
2 – ФГБУ «Институт физиологии имени И.П. Павлова» РАН,
С.-Петербург, Россия.
С.-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, тел. +7 (812) 702-37-77,
puzanov_mv@almazovcentre.ru

Актуальность. При старении в ткани головного мозга увеличивается расстояние между микрососудами и формируются ишемизированные зоны. Ранее было показано, что применение мезенхимных стволовых клеток (МСК) после ишемического инсульта и травмы приводило к активации ангиогенеза в поврежденных областях головного мозга.

Цель. Целью данного исследования являлась оценка эффективности применения интрацеребральной трансплантации МСК костного мозга для коррекции возрастных изменений в микроциркуляции пиальной оболочки коры головного мозга крыс.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на крысах – самцах линии Вистар–Киото в возрасте 2–3 мес и 22–24 мес (n=50). МСК для трансплантации получали из костного мозга сингенных крыс; определяли иммунофенотип клеток и их способность к направленной дифференцировке. Животные были разделены на экспериментальные группы в зависимости от возраста и срока исследования. Визуализацию и мониторинг микрососудистой сети осуществляли через 3 нед или через 1 год после интрацеребральной трансплантации МСК. Плотность микрососудистой сети исследовали при помощи телевизионной установки.

Результаты. В обоих экспериментах (наблюдения через 3 нед и 1 год), интрацеребральная трансплантация сингенных МСК привела к повышению плотности микрососу-

дистой сети в пиальной оболочке головного мозга крыс в среднем в 1,6–1,8 раза; плотность артериолярного участка увеличилась в среднем в 2,1 раза, по сравнению со старыми интактными животными.

Выводы. Интрацеребральная трансплантация МСК оказалась эффективным методом коррекции возрастных структурных изменений в микрососудистом русле пиальной оболочки коры головного мозга крыс, достоверно увеличивая плотность микрососудистой сети и количество артериол на единицу площади.

РАЗРАБОТКА ЦЕЛЛЮЛЯРНО-МАТРИЧНОГО КОМПЛЕКСА НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ

Рахматуллин Р.Р.[1], Бурцева Т.И.[1], Бурлуцкая О.И [1], Спичкина О.Г.[2], Калмыкова Н.В.[2]

1 – Оренбургский государственный университет, Россия 460027 г. Оренбург, пр. Победы 13, тел. 8 (912) 846-72-03, rrr@g-groupp.ru
2 – ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, г. Санкт-Петербург, Россия

До настоящего времени остается актуальной проблема разработки биопластических материалов, совместимых с медицинскими клеточными технологиями.

Цель: разработка целлюлярно-матричного комплекса (CMComplex «G-DERM») на основе биорезорбируемой матрицы и клеток кожи для создания биологически активного раневого покрытия для регенерации кожных покровов.

Материалы и методы. В качестве объекта для разработки основы целлюлярно-матричного комплекса определена матрица, изготовленная с помощью фотохимического наноструктурирования гидроколлоида гиалуроновой кислоты. Для физико-химической характеристики матрицы использовались методы электронной абсорбционной спектроскопии, ИК-спектроскопии и атомно-силовой микроскопии. Нормальные фибробласты кожи человека высевались на поверхность сформированной матрицы.

Результаты. Исследуемая матрица является умеренно гидрофильным материалом, эластичность сопоставима с естественными тканями, адгезия к подлежащим тканям 0,5–0,9*0,001 Па, химические примеси полностью отсутствуют. Показано, что при УФ облучении ($\lambda \leqslant 280$ нм) гидроколлоида гиалуроновой кислоты образуются новые химические связи между макромолекулами, что сопровождается фотохимической полимеризацией растворов. В ИК-спектрах обнаружена новая полоса поглощения на 870 см-1, что связано с появлением новых связей между функциональными группами по типу валентных С – С колебаний. Установлено, что полученная матрица нетоксична для клеток, поддерживает жизнеспособность, прикрепление и распластывание нормальных соединительнотканных клеток кожи человека.

Выводы. Полученный целлюлярно-матричный комплекс соответствует большинству требований, предъявляемых к современным раневым покрытиям: биосовместимый, биорезорбируемый, проницаем для влаги и газов, механически прочен, при этом может служить носителем для биологически активных агентов, в частности, клеток, стимулируя таким образом репаративные процессы в ране.

ФЕНОМЕН РЕГЕНЕРАЦИИ В СЕРОЗНЫХ ПОЛОСТЯХ В ФИЛОГЕНЕЗЕ

Резцов О.В.

ГБОУ ВПО Кировская ГМА Министерства здравоохранения, Киров, Россия
Москва, Россия, Киров, ул. Карла Маркса 112, 8332640976, www.kirovgma.ru

Актуально исследование перитонеального транссудата, функции которого связаны с обеспечением адаптационных механизмов.

Цель исследования – сравнительно-анатомический анализ целомической и брюшинной, полости, органотропного действия мезотелия, экспериментальное изучение перитонеального транссудата.

Материалы и Методы: промывание брюшной полости животных – рыб, пресмыкающихся и млекопитающих. В целом рыб, пресмыкающихся, и брюшинную полость млекопитающих вводился физиологический раствор и олеаты разной температуры, в объёме не более 50% полости. Исследование биологической активности на Daphnia magna Straus из Лаборатории биотестирования и токсикологического контроля природных и сточных вод системы Минприроды РФ г. Кирова.

Результаты: целомическая полость – полифункциональне образование, в филогенезе возникает из боковых выпячиваний гастральной полости (теория гастреи), её дериват – брюшинная полость оказывает системное влияние в основном через гуморальные механизмы. Иммунные реакции происходят в отграниченном в тканях или диссеминированном по организму виде, у высших животных они обусловлены температурным режимом, химическими свойствами, скоростью передвижения, а также экскреторным органом эвакуации. «Патогенеззависимые белки» – маркеры повреждения иммунной системы, в сыворотке подавляют процессы фагоцитоза, поэтому в соединительной ткани организма и в полостях – массообмен, выделение и резорбция, с последующей элиминацией при участии лимфоидной системы. Связывание и сорбция таких белков необходима на путях движения с целью регуляции. Биологически активные вещества с низко- и среднемолекулярной массой не обладают видовой специфичностью. Наибольший биологический эффект при их использовании установлен в тех случаях, когда дозы этих соединений малы и их сложно контролировать даже при помощи наиболее чувствительных современных методов, таких как изотопные, иммунологические.

Выводы: брюшная полостная гипертермия и олеаты обладают неспецифическим органотропным, пролиферативным и регенераторным действием, последние воздействуют и на размножение биологических объектов.

3D ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОДИНОЧНЫХ ДОРМАНТНЫХ МИКРОСФЕР ИЗ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА СО ВТОРИЧНОЙ РЕПАРАТИВНОЙ АКТИВАЦИЕЙ IN VITRO

Репин В.С.[1,2], Сабурина И.Н.[1,2], Борзенок С.А.[3], Кошелева Н.В.[1,4], Горкун А.А.[1], Зурина И.М.[1]

1 – ФГБУ НИИОПП РАМН, Москва
2 – ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, Москва
3 – ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва
4 – Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

Общеизвестно, что 3D технология открывает новые возможности репрограммирования соматических клеток для нужд регенеративной медицины. В докладе представлен новый серийный метод получения одиночных дормантных микросфер из взрослых соматических клеток, выращенных в монослойной культуре.

2000 изолированных клеток 2D культуры помещали в 1мкл бессывороточной питательной среды на неадгезивные микролунки 3D Petri Dish. Через 7–8 сут во всех лунках наблюдали формирование однотипных единичных сфероидов с включением 100% клеток.

Прижизненная микроскопия с использование прибора Cell-IQ (Финляндия) показала, что в образовании сфероида участвуют все помещенные в микролунку клетки. Образование сфероидов, как из эпителиальных, так и из мезенхимных клеток, сопровождалось компактизацией. Динамика компактизации эпителиальных и мезенхимных сфероидов достоверно различалась: через 7сут 3D культивирования диаметр мезенхимных сфероидов уменьшался в 2 раза, площадь уменьшалась в 4 раза, диаметр эпителиальных сфероидов уменьшался в 1,5 раза, площадь – в 2,5 раза.

Дормантность клеток в сфероидах была доказана по отсутствию пролиферации клеток, по данным количественной цитометрии. Дормантные сфероиды переживали без морфологических изменений и гибели клеток в условиях 3D культивирования до 3–4 месяцев.

Вторичную реактивацию клеток в дормантных микросферах оценивали in vitro с помощью трех критериев: 1) по слиянию одиночных дормантных сфероидов в микроткань, 2) по образованию плюрипотентной эпителио-мезенхимной клеточной популяции, 3) по индуцированному ангиогенезу в активированных микросферах.

РЕКОНСТРУКЦИЯ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ДЕФЕКТА УРЕТРЫ С ПОМОЩЬЮ ЖИВОГО ЭКВИВАЛЕНТА КОЖИ

Роговая О.С., Файзулин А.К., Васильев А.В., Терских В.В.

ИБР РАН им. Н.К. Кольцова, Москва, ул. Вавилова, 26,
тел. +7 (499) 135-40-81, Rogovaya26f@ya.ru

Изучение пластичности тканеспецифических клеток эпителия позволит решить такую актуальную проблему, как дефицит собственных тканей пациента, который на сегодняшний день является причиной значительного количества неудач реконструктивных операций (Mhashilkar & Atala, 2012; Fisher & Mauck, 2013).

Цель настоящей работы заключалась в изучении поведения культивируемых эпидермальных кератиноцитов в модели реконструкции эпителиального дефекта уретры кролика с помощью трансплантации живого эквивалента кожи (ЖЭК).

Материалы и методы. Эксперименты по трансплантации ЖЭК в дефект уретры проводили на взрослых кроликах – самцах, у которых создавали экспериментальный дефект уретры полностью удаляя эпителий в среднем и концевом ее отделах. ЖЭК создавали из клеток кожи, взятых с уха животного. Для последующей идентификации кератиноциты кожи метили EGFP.

Результаты. Гистологические и иммуногистохимическое исследование уретры кролика экспериментальной группы выявило, что через 21 сутки после операции произошло полное закрытие дефекта плоским эпителием, а к 45 и 90 суткам эпителий в неоуретре соответствовал норме, был представлен многослойным эпителием переходного типа. Коэкспрессия EGFP и дифференцировочных маркеров уротелия наблюдалась на всех сроках наблюдений. Таким образом, при трансплантации в область дефекта уротелия аутологичные кератиноциты кожи встраиваются в структуру уретры, восстанавливая ее целостность и функциональность, и, под действием специфического микроокружения, приобретают фенотипические признаки клеток уротелия, тем самым проявляя способность к пластичности.

Таблица 1. Сводные результаты трансплантации живого эквивалента кожи в децеллюлированную уретру кроликам.

	Подопытные группы животных					Контроль: рана	Контроль коллаген без клеток
Число исследованных животных на разные сроки после трансплантации	14 сут. /2 жив.	21 сут. /3 жив.	30 сут. / 3 жив.	45 сут. / 3 жив.	3 мес. / 3 жив.	14 сут. / 3 жив.	14 сут. / 3 жив.
Кол-во животных, способных к свободному мочеиспусканию	2	3	3	3	3	0	0
Экспрессия маркера эпидермиса К14	++	++	+	+	+	-	-
Экспрессия маркера уротелия	-	К7	К7, К18	К7, К18, UP	К7, К18, UP	-	-

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦ В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ОСТЕОГЕНЕЗА

Родина А.В., Москалева Е.Ю., Тенчурин Т.Х., Хоменко А.Ю., Григорьев Т.Е., Северин С.Е.

НИЦ «Курчатовский институт» НБИКС-центр, Москва, Россия
Москва, Площадь Курчатова, 1, тел. +7 (499) 613-48-27,
rodina.allav@gmail.com

Для стимуляции регенерации костной ткани при тяжелых травмах разрабатываются технологии использования аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК). Биорезорбируемые полимерные материалы обеспечивают структурную поддержку поврежденной кости и могут быть носителями ММСК, способствовать их размножению и дифференцировке в остеобласты. В связи с этим целью работы явилась оценка биосовместимости биорезорбируемых полимеров на основе полилактида (ПЛА) и хитозана (в виде пленочных и волокнистых материалов) с ММСК.

Материалы и методы. ММСК выделяли из липоаспирата подкожной жировой клетчатки здоровых добровольцев и определяли уровень экспрессии типичного набора

поверхностных антигенов с помощью проточной цитометрии. Морфологию и жизнеспособность клеток при культивировании на ПЛА и хитозане определяли с помощью световой и конфокальной микроскопии. Выживаемость клеток оценивали с помощью МТТ-теста.

Результаты. Для анализа биосовместимости полимеров использовали недифференцированные ММСК после шестого пассажа (CD44+, CD75+, CD90+, CD105+, HLA-DR-, CD14-, CD34-, CD45-). При культивировании ММСК как на волокнистых, так и на пленочных полимерах из хитозана обнаружен низкий уровень прикрепления ММСК: так через 24 ч обнаружено прикрепление только 7% клеток. В то же время через 24 ч уровень прикрепления клеток на пленке из ПЛА составил 40% (40 тыс. клеток/см^2), при этом клетки сохраняли жизнеспособность при дальнейшем культивировании. Волокнистый материал из ПЛА, имеющий такие же сорбционные свойства, но более гидрофобную поверхность по сравнению с пленкой, оказался менее эффективным (уровень прикрепления 28 тыс. клеток/см^2).

Выводы. Сорбция ММСК на матрицах из ПЛА происходит более эффективно, чем на матрицах из хитозана, что позволяет рассматривать ПЛА в качестве более перспективного носителя клеток для стимуляции регенерации костной ткани.

РЕПАРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КОСТНОМОЗГОВЫХ МСК РАЗНОВОЗРАСТНЫХ КРЫС

Рое М.П., Буравкова Л.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН 123007, Москва Хорошевское шоссе 76 А, +7 (499) 195-22-43, buravkova@imbp.ru

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) взрослого организма обладают большим потенциалом для регенеративной медицины. Вместе с тем, остаются мало изученными возрастные изменения МСК. Ранее нами было экспериментально доказано наличие возрастных отличий в популяциях культивируемых МСК, в частности снижение пролиферативной активности с увеличением возраста. Однако, при постоянном культивировании в среде содержащей 5% кислорода, к третьему пассажу наблюдалось увеличение скорости пролиферации клеток старых животных, что является особенно важно для дальнейшего их применения в лечебных целях (Валюшкина М.П., Буравкова Л.Б. 2013).

Целью данной работы было установить влияние однократного введения ММСК костного мозга разновозрастных (1,5 мес. – первая серия и 12 мес. – вторая серия экспериментов) крыс, культивированных при различном содержании кислорода (20% О2, /5% О2), на восстановление перелома малоберцовой кости.

Методы. В каждой серии животные были разделены на 4 группы в зависимости от воздействия после перелома: I – без воздействия; II –введение αMEM; III – αMEM с 5•105 МСК, культивируемых при 20% О2; IV – αMEM с 5•105 МСК, предкультивируемых при 5% О2. Анализировали образованные каллусы после 14 дней восстановления.

Результаты. Показано увеличение коэффициента утолщения костной мозоли при введении МСК, выделенных из костного мозга молодых животных. Причём данное увеличение было отмечено как при введении клеток, культивированных при 5% кислорода, так и в группе, где были использованы клетки, предкультивируемые в стандартных условиях (20% кислорода). Достоверного увеличения коэффициента утолщения при введении клеток, полученных из костного мозга 12-месячных животных, выявлено не было. Таким образом, более эффективным было введение МСК, полученных из костного мозга молодых животных (1,5 месяца), независимо от способа предкультивирования. При этом, несмотря на увеличение пролиферативной активности при культивировании в среде содержащей 5% кислорода, введение МСК старых животных было менее эффективным.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАТА ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ В ЛЕЧЕНИИ СПАСТИЧЕСКИХ ФОРМ ДЦП

Романов Ю.А., Тараканов О.П., Радаев С.М., Зотова Н.С., Дугина Т.Н., Ряскина С.С., Смирнов В.Н., Сухих Г.Т.

ООО «КриоЦентр»; ФГБУ «НЦАГиП им. акад. В.И. Кулакова МЗ РФ»
117995, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4. Тел.: +7 (495) 438-95-11;
cryocenter@cryocenter.ru

В ходе пост-регистрационных исследований медицинской технологии «Использование концентрата ядросодержащих клеток пуповинной/плацентарной крови в лечении и реабилитации пациентов с нейродегенеративными заболеваниями, травматическими и перинатальными поражениями головного мозга» (Разрешение Росздравнадзора №2009/387 от 23.11.2009) была проведена оценка безопасности и эффективности клеточной терапии в комплексном лечении пациентов с детским церебральным параличом (ДЦП) и сопутствующей церебральной патологией.

Методы. Под наблюдением находились 95 пациентов в возрасте 1–11 лет с установленным диагнозом ДЦП. У большинства пациентов заболевание было осложнено фокальной эпилепсией, гидроцефалией, частичной атрофией зрительных нервов, задержкой психического и речевого развития. В качестве терапевтического средства использовался отмытый от криопротектора концентрат аллогенных AB0/Rh-идентичных клеток пуповинной крови. После комплексного неврологического обследования и письменного информированного согласия пациентам было проведено от 1 до 6 внутривенных введений концентрата в дозе 250+10 млн. клеток на введение. Побочных негативных явлений, выходящих за пределы защитно-приспособительных реакций, или отдаленных нежелательных реакций не было выявлено ни у одного пациента.

Результаты. При обследовании через 3–12 месяцев положительная динамика была выявлена у 81% пациентов. Улучшение характеризовалось достоверным снижением патологического мышечного тонуса, возрастанием мышечной силы, улучшением показателей

физического и психо-эмоционального развития. Наилучшие результаты были достигнуты в группе пациентов, получивших 3 и более введений концентрата: 74% в неврологическом/физическом статусе и 78% в когнитивной сфере. В группе детей, прошедших обследование по шкале GMFCS, достоверное улучшение показателей физического развития было констатировано у половины пациентов.

В целом, данное исследование подтвердило, что внутривенное введение концентрата ядросодержащих клеток пуповинной крови является безопасной процедурой, способствующей в сочетании с физической реабилитацией эффективному снижению степени неврологического дефицита у пациентов с ДЦП и сопутствующими патологическими состояниями.

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА В КОЖНЫХ ПОКРОВАХ ЧЕЛОВЕКА И ПОИСК МЕТОДОВ ИХ КОНТРОЛЯ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ТЕРАПИИ

Романова О.А.[1], Веир Л.[2], Силина С.Г.[1], Пальцев М.А.[1], Пантелеев А.А.[1]

1 – НИЦ Курчатовский Институт, Москва, Россия, пл. Академика Курчатова д.1, тел. +7 (499) 196-71-81; Panteleev_AA@nrcki.ru;
2 – Университет Данди, Данди, Великобритания

Активность системы белков HIF (факторы, индуцируемые гипоксией) является ключевым элементом регуляции ангиогенеза как при различных патологических состояниях (опухолевый рост, псориаз, трофические язвы и т.д.), так и в послеоперационных восстановительных процессах. Эффективность реваскуляризации, контролируемая комплексом HIF, во многом определяет успех трансплантации органов и тканей, пластических операций, ожоговой терапии. Вместе с тем, хотя активность системы HIF является одним из приоритетных объектов современных медико-биологических исследований, механизмы контроля активности белков HIF остаются во многом неясными. Практически ничего неизвестно о регуляции этой системы в коже, что значительно снижает возможности направленного контроля ангиогенеза при регенеративной терапии кожных покровов.

Целью данной работы являлось исследование молекулярных механизмов контроля HIF каскада и ангиогенеза в кожных покровах млекопитающих (человек и лабораторные животные) и выявление новых молекулярных мишеней для фармакологического контроля васкуляризации эпителиальных тканей. В экспериментах использовались монослойные культуры эпидермальных кератиноцитов человека, выращиваемые при атмосферном (21%) содержании кислорода и при гипоксии (1% O_2), а также 3Д кожные эквиваленты и трансгенные мыши с измененной активностью различных функциональных элементов системы HIF.

Результаты. Нами были выявлены паттерны экспрессии HIF белков и контролирующих их активность пролил-гидроксилаз (PHD1–4) в нормальной коже человека и при различных патологиях, показана (впервые) функциональная роль различных сплайс-вариантов HIF белков в контроле ответа кератиноцитов на острую и хроническую гипоксию, и выявлены тканеспецифические механизмы контроля их активности. Нами также была разработана функциональная модель участия гипоксии и HIF каскада в контроле дифференцировки и пролиферации кератиноцитов в регенерирующей коже и разработаны фармакологические методы регуляции этих процессов.

НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ОСНОВЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Россиев В.А., Макаров С.В., Корымасов Е.А., Сивак В.Ф., Казанцев А.В., Купцов Д.Н.

ГБУЗ Самарская областная клиническая больница им.М.И.Калинина, Самара, Россия
443095 г. Самара, ул.Ташкентская, д. 159, тел +7 (846) 956-35-11, samara-cm@mail.ru

Актуальность. Клеточные технологии (КТ) составляют основу регенеративной медицины, являются ключевым сегментом формируемого биотехнологического кластера современной экономики РФ.

Цель. Оценка перспектив и отдельных итогов клинических исследований у больных с онкогематологическими (ОЗ), аутоиммунными заболеваниями (АИЗ), сосудистыми поражениями с применением стволовых гемопоэтических (СГ) клеток.

Материалы и методы. Технологии забора, хранения стволовых клеток, а также протоколы ведения больных соответствовали международным требованиям (EBMT, Швейцария и др.). Все больные находились на длительном наблюдении. Пациентов с ОЗ – 98 человек: 12 – проведена аллогенная трансплантация СГ клеток с низкой летальностью-5,5%, а 86 больным аутологичная трансплантация. Высокодозная иммуносупрессивная терапия с аутотрансплантацией СГ клеток (ВИСТ АТ) осуществлена 99 больным с АИЗ. У 42 пациентов с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей (ОАНК) – IIБ стадия, использовались технологии на основе CD34+, CD133+ клеток.

Результаты и выводы. Доказана безопасность и эффективность применения СГ клеток у больных с ОЗ, выражающаяся в пролонгировании ремиссии. У 84 % больных с ОАНК в отдаленные сроки (до 4 лет) отмечено улучшением состояния нижних конечностей и замедление прогрессирования ишемии нижних конечностей. Доказана эффективность и безопасность применения ВИСТ АТ (CD34+), у больных РС, коллагенозами, позволяющая улучшить показатели качества жизни пациентов и отметить признаками замедления прогрессирования заболевания. Существующее технологическое оснащение центра

трансплантации костного мозга и клеточной терапии (создан в 1994 г.), его кадровый потенциал позволят расширить границы клинических исследований с применением СГ и мезенхимально-стромальных клеток у больных с инсультами, нейродегенеративны-ми заболеваниями, абдоминальной патологией, а также оптимизировать процесс отбора больных для целевого применения клеточных технологий.

РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ И КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Рябинин В.Е., Полевщикова Е.Е., Пушкарев С.А., Попков П.Н., Синицкий А.И.

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, Россия
Челябинск, ул. Воровского, 64, тел. +7 (351) 906-13-54, cct49@mail.ru

Несмотря на определенные успехи медицины в области лечения печеночной и почечной недостаточности, интоксикаций различного генеза, заболеваемость и смертность при этих состояниях остаются по-прежнему на высоком уровне.

В целях создания нового медицинского оборудования разрабатывается мультифункциональный аппарат для очищения крови, позволяющий осуществлять комплекс экстракорпоральных методов детоксикации, включающих гемодиализ, гемо- и плазмофильтрацию, гемо- и плазмосорбцию, в сочетании с методами нормализации обменных процессов при использовании раствора альбумина, цитозоля печени и клеточного материала.

В разрабатываемом аппарате используется массообменное устройство, осуществляющее контакт между кровью пациента и биоматериалом и обеспечивающее обмен метаболитами, гидравлическая система, в которой происходит перемещение и термостабилизация биодиализата. Создана автоматизированная система управления аппаратом, исключающая непроизводительные трудозатраты оператора на вспомогательные операции, связанные с настройкой и тестированием, но обеспечивающим сбор, обработку и визуализацию необходимой информации.

Экспериментальные исследования показали эффективность использования альбумина человека, цитозоля печени свиней и суспензии гепатоцитов при экстракорпоральном очищении крови. Установлена возможность использования биосовместимых материалов (коллаген, альгинат, гепарин и др.) при культивировании гепатоцитов и создания 2D и 3D биоинженерных конструкций для мультифункционального аппарата «Биоискусственная печень».

Дальнейшее продолжение исследований позволит создать конкуренцию на международном рынке продукции биоискусственных органов и тканей, а также биореакторов и биоматериалов, предназначенных для оптимизации функционирования этой продукции.

ОТДАЛЕННЫЕ 8-ЛЕТНИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ И ЭХОКАРДИОГРАФИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ВНУТРИКОРОНАРНОГО ПЕРЕНОСА АУТОЛОГИЧНЫХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

Рябов В.В., Суслова Т.Е., Киргизова М.А., Марков В.А., Карпов Р.С.

ФБГУ НИИ кардиологии СО РАМН, Томск, Россия
ГБОУ ВПО СибГМУ, Томск, Россия
Киевская 111А, +7 (906) 948-14-80, rvvt@cardio-tomsk.ru

Цель: изучить отдаленные клинические и эхокардиографические результаты трансплантации АМККМ у больных острым инфарктом миокарда (ОИМ).

Материал и методы исследования: в открытое, рандомизированное исследование, зарегистрированное на сайте Clinicaltrials.gov. под названием "ESTABOMA", включено 60 больных, поступивших с первичным ОИМ в 2003–2006 гг. в отделение неотложной кардиологии. Пациенты были разделены на 2 группы: 1-я – проведено стентирование ИСКА и трансплантация АМККМ на 7–21-е сутки болезни (n=28), 2-я группа – только стентирование ИСКА (n=32). Исходно группы были сопоставимы по клинико-анамнестическим характеристикам определяющим прогноз болезни. Более подробно с протоколом исследования можно ознакомиться на сайте Clinicaltrials.gov и ранее опубликованных работах. Через 8,23±0,72 лет после лечения выполнена оценка клинического состояния, физикальный осмотр, проведен ТШХ, эхокардиография на ультразвуковой системе "VIVID 7, GE Vingmed Ultrasound, Norway", определен уровень BNP с помощью панели Triage BNP Test. Конечными точками определены следующие события: смерть, повторный инфаркт миокарда (ПИМ), нестабильная стенокардия, ХСН>I ФК, ОНМК. Для статистической обработки использовали программу "Statistica v. 10.0".

Результаты: из 60 пациентов информация о жизненном статусе известна для 55 (92%), обследование прошло 32 (56%), 10 – умерло (17%). За истекший период частота развития клинически значимых аритмий в обеих группах была одинаковая (5% против 5%), жизнеугрожающие аритмии не выявлялись. Вновь диагностированные онкологические заболевания были редкими (по 1-му больному в каждой группе). Анализ частоты развития ПИМ, ОНМК, ХСН>I ФК и толерантности к физическим нагрузкам достоверных различий между группами не выявил. В 1-й группе летальность была выше (32% против 3,5%, p=0,014). У 15% больных была сердечно-сосудистая смерть, в 1 случае – ОНМК (3%), причина смерти 4 больных точно неизвестна (11%). В 2-й группе умер 1 пациент вследствие онкологического заболевания. В контрольной группе за период наблюдения достоверно чаще были госпитализации по поводу нестабильной стенокардии (58% (11) против 19% (4) в основной группе, p 0,0035). Не выявлено различий в объемных и функциональных параметрах левого желудочка (КДИ (61,7±1,7 мл/м^2 против 67,0±22,2 мл/м^2),

КСИ (28,9±9,2 мл/м^2 против 33,25±16,9 мл/м^2), ФВ 51,0±5,6% против 51,5±12,9%. По уровню BNP в периферической крови различий не выявлено (157 (65,7; 173) против 204,7 (39,4; 252,5) пг/мл). Заключение: не выявлено позитивного влияния трансплантации АМККМ на отдаленные клинические результаты, глобальную сократимость, структурное состояние сердца. Отмечена высокая отдаленная летальность в группе трансплантации АМККМ.

ВВЕДЕНИЕ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ/ ПЛАЦЕНТАРНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПОМОГАЕТ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА

Рябов С.И., Гринь А.А., Чехонин В.П., Смирнов В.А., Звягинцева М.А., Павлович Е.Р., Смирнов В.Н.

Лаборатория стволовых клеток, ИЭК, ФГБУ РКНПК МЗ РФ, Москва, ул. 3-я Черепковская 15А, v.n.smirnov@mail.ru

Восстановление функции спинного мозга при его повреждении является одной из актуальных проблем, которая может быть решена методами регенеративной медицины, в частности клеточной терапией стволовыми клетками.

Целью исследования была оценка эффективности использование клеток человеческой пуповинно/плацентарной крови (ППК) при тяжелой травме спинного мозга.

Методы. Тяжелую контузионную травму спинного мозга моделировали по методу "weight drop" на крысах после ламинэктомии на уровне Th9. Криоконцентрат клеток ППК в количестве 10 млн. клеток (Банк Стволовых Клеток, ООО «Крио Центр», Москва, Россия) на одно животное вводили в хвостовую вену на 1-е или 5-е сутки после контузии спинного мозга. Для визуализации нарушений структуры спинного мозга, вызванных контузией, проводили анатомо-гистологический контроль. Восстановление двигательной функции задних конечностей крыс оценивали с помощью функциональных нагрузочных тестов: «Рота-род», «суживающаяся дорожка», «открытое поле». Тесты проводили еженедельно в течение 8 недель начиная с 1-го дня после операции.

Результаты. Животные были разделены на пять экспериментальных групп: 1-я – травма-самовосстановление, 2-я – травма+инъекция ППК на 1-е сутки, 3-я – травма+инъекция ППК на 5-е сутки, 4-я – ламинектомия, 5-я ламинектомия + инъекция ППК. В 4-й и 5-й группах нарушений в движениях задних конечностей не наблюдали. В группах 1-й, 2-й, 3-й была сильная параплегия задних конечностей. Самовосстановление двигательной функции задних конечностей происходило за 4–5 недель и уровень восстановления в тесте «открытое поле» составляло 4–5 баллов по шкале BBB. Восстановление двигательной активности в группах 2-й и 3-й происходило в тот же срок после травмы, но его уровень по шкале BBB составлял уже 6–7 баллов. Достоверных различий между этими двумя группами обнаружено не было.

Заключение. Полученные результаты показывают, что однократная внутривенная инъекция клеток ППК на 1-е или 5-е сутки после тяжелой спинномозговой травмы спо-

собна улучшить восстановление функций спинного мозга, связанных с движением задних конечностей. Достоверный терапевтический эффект ($p<0,05$) такого введения ППК у крыс с тяжелой контузионной травмой спинного мозга составляет 14–16%.

МЕЗЕНХИМО-ЭПИТЕЛИАЛЬНАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ В ОДИНОЧНЫХ МИКРОСФЕРАХ: РОЛЬ КОМПАКТИЗАЦИИ

Сабурина И.Н.[1,2], Репин В.С.[1,2], Колокольцова Т.Д.[1,2,3], Борзенок С.А.[3], Зурина И.М.[1], Кошелева Н.В.[1,4], Горкун А.А.[1]

1 – ФГБУ НИИОПП РАМН, Москва,
2 – ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, Москва
3 – ФГБУ МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва
4 – Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

Многочисленные исследования показали, что 3D сферы соматических клеток генерируют пластичную эпителио-мезенхимную бластему, которая участвует в репарации и регенерации поврежденной ткани. Однако клеточные механизмы 3D эпителио-мезенхимного эмбриогенеза остаются нерасшифрованными. Для выяснения связи компактизации сфер с мезенхимо-эпителиальной пластичностью мы использовали новый метод серийного принтинга одиночных соматических эпителиальных и мезенхимных микросфер. С помощью прижизненной микроскопии на приборе Cell-IQ (Финляндия) были подобраны оптимальные условия для формирования 100% сферогенеза из 2000 изолированных взрослых соматических клеток 2D культуры в 1мкл бессывороточной питательной среды на неадгезивных микролунках 3D Petri Dish. Важно подчеркнуть, что во всех микролунках наблюдали формирование единичной сферы из 2000 клеток.

Известно, что при высокой плотности клеток репрограммирование сопровождается миграцией, выселением и повторным заселением клеток в сферу, образованием бивалентов и микрокластеров, появлением популяции клеток, мигрирующих с высокой кинетический энергией. В нашем исследовании формирование как эпителиальных, так и мезенхимных микросфер сопровождалось воспроизводимой компактизацией с первых часов культивирования.

Методы. С помощью цейтраферной микроскопии мы показали одноэтапное равномерное уменьшение диаметра эпителиальных микросфер в 1,5 раза на 7сут и двухэтапное уменьшение диаметра мезенхимных микросфер: в 1,3 раза в течение первых 4 часов и в 2 раза на 7сут.

Результаты. В процессе компактизации на 7 сут на периферии микросфер происходило перераспределение E-кадгерин+ клеток с апико-базальной полярностью в эпителиальных микросферах и новообразование E-кадгерин+ клеток в мезенхимных микросферах. Одновременно наблюдали остаточную экспрессию N-кадгерина в виде точечных цитоплазматических

включений, как в эпителиальных, так и в мезенхимных микросферах. Также наблюдали экспрессию коллагена IV типа и ламинина на периферии в эпителиальных микросферах и экспрессию на периферии и во внутренней области мезенхимных микросфер.

Наши данные показывают, что компактизация в эпителиальных и мезенхимных сферах сопровождается мезенхимо-эпителиальной пластичностью и стимулирует образование новой популяции полярных эпителиальных клеток.

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЛЕЧЕНИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ АХИЛЛОВА СУХОЖИЛИЯ

Савинцев А.М., Дегтярев О.М., Матвеев Л.А., Багаева В.В.

СПБГБУЗ «Городская Покровская больница», Санкт-Петербург
ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург

Цель исследования. Оценить эффективность применения клеточных технологий (аутологичныхмезенхимальных стволовых клеток, далее- МСК) в качестве дополнительной процедуры (регенеративной терапии) к хирургическому лечению больных с повреждениями ахиллова сухожилия.

Материал и методы. Под нашим наблюдением и лечением за период с 2008 года по настоящее время находилось 72 больных со свежим закрытым повреждением ахиллова сухожилия. Основной причиной травмы можно выделить перенапряжение мышц голени (75%). Дополнительная регенеративная терапия проводилась у 7-ми больных. Сроки введения клеточного материала от 2-х до 3-х недель после травмы.

Результаты и обсуждение. Нами были предприняты попытки оптимизации процессов регенерации при закрытых повреждениях ахиллова сухожилия посредством применения клеточных технологий (МСК). Во всех случаях были получены положительные результаты, заключающиеся в гарантированном сращении сухожилий в минимальные для данного повреждения сроки, что, по нашему мнению, обусловлено местным оптимизирующим воздействием введенного клеточного материала. Процесс регенерации сухожилия оценивали в динамике при помощи аппарата УЗИ через 2,4, 6 недель после введения МСК.

Выводы. Первые результаты клинического применения клеточных технологий свидетельствуют о том, что при трансплантации МСК в место повреждения (разрыва) сухожилия они обладают выраженным оптимизирующим действием на регенерацию ткани сухожилия, и метод может быть использован в клинической практике в качестве дополнительной процедуры к хирургическому лечению больных с повреждениями ахиллова сухожилия, что позволяет повысить эффективность основного способа лечения и сократить сроки реабилитации больных после травмы.

ЛЕЧЕНИЕ ПЕРЕЛОМОВ ПРОКСИМАЛЬНОГО ОТДЕЛА БЕДРЕННОЙ КОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Савинцев А.М., Малько А.В., Багаева В.В.

СПБГБУЗ «Городская Покровская больница», Санкт-Петербург
ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург

Цель. Отптимизация процессов репаративной регенерации при переломах проксимального отдела бедренной кости (тип 31-А2) путем введения мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в зону перелома в сочетании с интрамедуллярным остеосинтезом.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось трое больных с переломами проксимального отдела бедренной кости. Все больные женского пола, средний возраст пациентов составил 85 лет. Показанием к применению аутологичных мезенхимальных стволовых клеток явилось усиление процессов репаративной регенерации в зоне перелома.

Результаты и обсуждение. Пациентам выполнялся интрамедуллярный малоинвазивный остеосинтез бедренной кости конструкциями PFN и PFN-A по стандартной методике. Во время операции производился забор жировой ткани пациента из имеющихся разрезов в количестве 1–2 кубических сантиметров. Жировая ткань использовалась для культивирования мезенхимальных стволовых клеток. В послеоперационном периоде проводилась ранняя активизация пациентов, разрешалась ходьба с опорой на прооперированную конечность. Через 14 суток после операции в зону перелома инъекционно вводилось 10 млн культивированных стволовых клеток жировой ткани, как в сочетании с введением аллогенной обогащенной тромбоцитами плазмы, так и без нее. У всех пациентов на 10 неделе после операции отмечены рентгенологические признаки полной консолидации перелома, хорошая функция конечности.

Выводы. Введение в зону перелома проксимального отдела бедренной кости аутологичных мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в сочетании с интрамедуллярным остеосинтезом способствует стимуляции процессов репаративной регенерации в зоне повреждения, что приводит к укорочению сроков консолидации перелома и улучшению результатов лечения.

ВЛИЯНИЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК НА РЕГЕНЕРАЦИЮ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН

Сазонов С.В., Коротких А.Г.

ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург, Россия
620036, Екатеринбург, ул. Соболева, 25, ИМКТ, т. +7 (343) 376-98-28, Prof-SSazonov@yandex.ru

Актуальность. Министерством здравоохранения Российской Федерации травмы спинного мозга и периферических нервов официально отнесены к социально значимым заболеваниям. По данным Центрального научно-исследовательского института организации и информатизации здравоохранения частота травм нервов и спинного мозга составила 11,4–11,8 на 100 тысяч населения в год.

Цель работы – изучить влияние одностенных и многостенных углеродных нанотрубок на процесс регенерации нервных волокон периферических нервов в экспериментальной модели in vivo.

Материалы и методы. Травму периферического (седалищного) нерва осуществляли на кроликах с последующим наложением кондуита нерва. Под общим наркозом с одной стороны пересекали нерв и накладывали кондуит с углеродными нанотрубками, с другой стороны нерв пересекался, сшивался и конечность служила в качестве контрольной. Семи кроликам были введены одностенные углеродные нанотрубки (SWNT 16–2.2), двум – многостенные (MWNT 17-3). Оценивали динамику изменений показателей восстановления мышечного тонуса прооперированных конечностей. Забор материала осуществлялся через три месяца. Изготавливали гистологические срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином, проводили гистологические и морфометрические исследования.

Результаты. У кроликов, в кондуите которых использовали SWNT, через три месяца после операции функция опытных, правых, конечностей восстановилась полностью, функция контрольных, левых, – частично. У кроликов, в эксперименте над которыми использовали MWNT, функция опытных конечностей не отличалась от контрольных. При гистологическом исследовании периферические отделы седалищных нервов при использовании MWNT состояли из большого количества нервных пучков небольшого диаметра и более крупных стволов диаметром от 130,00±17,32 мкм до 547,50±21,36 мкм. В последних обнаружены выраженные явления дегенерации нервных волокон и многочисленные очаги запустевания. При гистологическом исследовании седалищных нервов с SWNT в периферических участках нервов на гистологических срезах определяются многочисленные нервные стволы диаметром от 83,00±17,00 мкм до 630,00±100,00 мкм, очагов запустевания на месте нервных волокон не обнаружено.

Выводы. Применение углеродных нанотрубок в кондуите нерва является перспективным для стимуляции регенерации поврежденных нервных волокон.

БИОАКТИВНЫЕ ГЕТЕРОГЕННЫЕ БИОПОЛИМЕРНЫЕ ГИДРОГЕЛИ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

Севастьянов В.И., Перова Н.В., Шагидулин М.Ю., Пономарева А.С., Готье С.В.

ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва, Россия
Москва, ул. Щукинская, 1, тел. +7 (499) 196-88-74, viksev@yandex.ru

Одной из актуальных проблем тканевой инженерии и регенеративной медицины остается поиск биосовместимых материалов, обладающих требуемыми свойствами.

Целью проведенного цикла работ явилось доказательство эффективности применения сравнительно недавно разработанных инъекционных форм гетерогенных биополимерных гидрогелей (ГБГ): как самостоятельной имплантируемой системы для замещения дефектов тканей, в том числе, для стимулирования процессов регенерации собственных тканей пациента; в качестве системы доставки и временного каркаса для трансплантации клеток и создания тканеинженерных конструкций.

Материалы и методы. Композиции ГБГ получали из гидролизата эмбриональных или постнатальных коллагенсодержащих тканей животного происхождения с использованием технологии ультрадиспергирования гидрогелей с последующей радиационной сшивкой. Варьируя состав и размер микрочастиц из сшитого гидролизата или коллагена от 30 мкм до 300 мкм, а также соотношение гетерогенной и жидкой фаз, был создан линейный ряд ГБГ с разными реологическими свойствами и временем биорезорбции (от нескольких недель до нескольких месяцев). При АСМ-анализе микрочастиц ГБГ обнаружена пористая структура микрочастиц с размером пор 2–4 мкм, что является позитивным свойствам в процессах неоваскуляризации и неоинервации тканеинженерных конструкций на основе ГБГ.

Результаты экспериментальных исследований по созданию клеточно-инженерных конструкций хрящевой ткани и тканеинженерной конструкции печени свидетельствуют о способности ГБГ длительное время поддерживать жизнедеятельность клеток, включая процессы их пролиферации, дифференциации и синтеза собственного внеклеточного матрикса, который постепенно замещает резорбирующийся биоискусственный матрикс. Данные клинических исследований доказали эффективность применения ГБГ как биоактивной искусственной синовиальной жидкости при дегенеративно-дистрофических поражениях суставов.

ОЦЕНКА СВОЙСТВ СОСУДИСТОГО ГРАФТА ИЗ ПОЛИКАПРОЛАКТОНА, СОДЕРЖАЩЕГО VEGF

Севостьянова В.В., Головкин А.С., Филипьев Д.Е., Глушкова Т.В., Бураго А.Ю., Сергеева Т.Ю., Барбараш Л.С.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, Кемерово, Россия
Кемерово, Сосновый бульвар, 6, тел. +7 (3842) 64-46-50, sevostyanova.victoria@gmail.com

В настоящее время потребность сердечно-сосудистой хирургии в сосудах малого диаметра делает актуальным разработку тканеинженерных кровеносных сосудов. Одним из направлений тканевой инженерии является выращивание кровеносного сосуда in vivo на основе графта из биодеградируемого полимера. Таким образом, целью работы стала оценка in vivo биологических свойств сосудистого графта из поликапролактона (PCL) после введения в него молекул сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF).

Материалы и методы. Сосудистые графты (ø=2 мм) изготавливали из биодеградируемого PCL (Sigma-Aldrich, США) методом электроспиннинга. Для изготовления графтов с VEGF (Sigma-Aldrich, США) раствор полимера смешивали с раствором ростового фактора в фосфатно-солевом буфере. Механические испытания графтов проводили на испытательной машине Zwick/roell (Германия). PCL и PCL+VEGF графты имплантировали в инфраренальный отдел аорты самцам крыс популяции Wistar (400–450г). Ультразвуковое исследование проводили через 1, 3, 7 и 10 месяцев. Через 10 месяцев состояние графтов оценивали гистологически (окраска гематоксилин-эозин).

Результаты. Результаты показали недостоверное ($p>0,05$) изменение прочности графтов после введения молекул VEGF: 2,40<2,64<2,81 MPa – PCL и 1,52<2,12<2,41 MPa – PCL+VEGF. Проходимость графтов наблюдалась во всех точках исследования, при этом не было выявлено ни стенотических, ни аневризматических изменений, как на протезе, так и в зонах анастомозов. Стенка графта в обоих группах исследования была полностью инфильтрирована клетками с морфологическими признаками миофибробластов и макрофагов, участков острого воспаления не наблюдалось. Волокна коллагена и эластина были выявлены по всей толщине и длине графта. При этом в отличие от графтов без ростового фактора, в графтах с VEGF, стенка была представлена рыхлорасположенными, переплетающимися лучами соединительной ткани.

Выводы. Таким образом, введение в структуру PCL графта молекул VEGF незначительно снижает прочность протеза, но при этом способствует более быстрому формированию межклеточного вещества и собственной стенки сосуда.

МАТЕРИАЛЫ – СКАФФОЛДЫ И ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ НА ИХ ОСНОВЕ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ КОСТНО-ХРЯЩЕВЫХ ДЕФЕКТОВ: СОВРЕМЕННЫЕ РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Сергеева Н.С.[1,4], Баринов С.М.[2], Рещетов И.В.[1], Тепляков В.В.[1], Свиридова И.К.[1], Комлев В.С.[2], Попов В.К.[3].

1 – ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» МЗ РФ, г. Москва, Россия
Москва, 2-й Боткинский проезд, д. 3, тел. +7 (495) 945-74-15, prognoz.06@mail.ru
2 – ФГБУН ИМЕТ РАН, г. Москва, Россия
3 – ФГБУН ИПЛИТ РАН, . Московская обл., Россия,
4 – РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, Россия

Костная ткань является своеобразным полимер-неорганическим композитом, инкрустированным клетками, поэтому создание биомиметических материалов для органотипического восстановления зон костно-хрящевых дефектов требует, с одной стороны, органической составляющей, а с другой – функционализации скаффолдов.

В качестве органической составляющей (природного или синтетического происхождения) используют целый спектр белковых и углеводных полимеров: гидрогели на основе коллагена, желатина, производные гиалуроновой кислоты, полилактиды, полилактогликолиды хитозаны и др.

Развитие технологий изготовления кальцийфосфатной керамики из нано-порошков дало возможность получать материалы с развитой поверхностью и выраженной способностью консолидироваться с окружающими тканями. Определенные успехи достигнуты в разработке инъецируемых форм керамики для мелких костно-хрящевых дефектов сложной конфигурации. Технологии быстрого прототипирования (3Д-печать) применительно к медико-биологическим задачам позволяют сегодня (пока в эксперименте) изготавливать скаффолды заданной формы, пористости с иерархией в клеточной организации.

В качестве альтернативы искусственных кальцийфосфатных материалов-скаффолдов начинают использоваться натуральные материалы, по своей архитектонике сходные с костной тканью, в частности, скелет натуральных кораллов и их аквакультур, ротанг и др. Исторически первым подходом к функционализации скаффолдов было заселение их клетками (ММСК, хондроцитами, фибробластами). Для стимуляции регенеративных процессов в зоне дефекта поверхность скаффолда может быть обогащена нутриентами и аттрактантами для клеток, биологическими стимуляторами и сигнальными молекулами, в частности TGFβ, PDGF BB, IGF, FGF, VEGF, BMP и др. Заслуживает также внимания использование для этих целей наномагнитных Fe+2/Fe+3 частиц. Путем функционализации скаффолдов можно решать и специальные медицинские задачи, насыщая их поверхность противоопухолевыми препаратами, стероидами, анальгетиками, антибиотиками и т.д.

Таким образом, сегодня в доклинических медико-биологических испытаниях находится широкий спектр биомиметических материалов и тканеинженерных конструкций на

их основе, что позволяет надеяться на решение ряда медицинских проблем.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛАЗЕРНОГО ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ОРГАНОТИПИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ УЗЛОВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ И МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ

Сергеева Т.В.[1], Жаров Е.В.[2], Алёхин А.И.[2], Васильев В.В.[3], Киселёва Е.В.[3], Богатырев О.П.[4], Базаева В.В.[4], Луковкин А.В.[5]

1 – Центр восстановительной медицины, Москва, Россия
2 – ЦКБ РАН, Москва, Россия
3 – ИБР им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия
4 – МОНИКИ им.М.Ф.Владимирского, Москва, Россия
5 – Новые хирургические технологии, Москва, Россия
Москва, Литовский бульвар, д.1 А.
тел. +7 (495) 659-64-93, info@ag-info.ru

Доброкачественные заболевания щитовидной и молочных желез относятся в группу риска по возможному развитию онкологической патологии. Фиброзно-кистозная болезнь является наиболее распространенным заболеванием молочных желез с частотой 30–35%, выявляемость узловых образований щитовидной железы достигает 10–40%, поэтому необходимо постоянное совершенствование методов лечения этих заболеваний.

Экспериментальные работы, выполненные на адаптированных моделях животных с доброкачественными локализованными опухолями, были направлены на изучение метаболических эффектов лазерного интерстициального излучения (ЛИИ) в волновых гармониках 760 нм и 1060 нм. Впервые показано, что его действие приводит к органотипической регенерации вследствие повышения экспрессии фактора некроза опухоли и белков теплового шока, регулирующего влияния на экспрессию факторов реорганизации внеклеточного матрикса и трансформирующего фактора роста, и ряда других изменений.

Клинико-диагностические исследования и динамическое изучение цитологических особенностей материалов, полученных из облучённых лазером узлового зоба и доброкачественных новообразованиях молочных желез на разных этапах наблюдения, позволили разработать оптимальный режим ЛИИ. Интерстициальное облучение с определёнными спектральными характеристиками запускает в патологически измененных тканях независимо от их органной принадлежности лазериндуцированный метаболический эффект, который имеет общие морфологические особенности (лазерный патоморфоз): формируется через 2 недели после проведения процедуры, продолжая нарастать по интенсивности ответных клеточных реакций в течение последующих 3–4 месяцев. Выявленные закономерности после ЛИИ проявляются вначале реактивными изменениями кубического эпителия, гигантским увеличением размеров клеток и их ядер, без смещения ядерно-цито-

плазматического соотношения, с последующей их гибелью и аутолизом. На следующем этапе репарации при цитологическом исследовании выявляются плотные многослойные скопления из органных клеток более мелкого железистого эпителия с нежно-зернистой структурой хроматина ядра, нуклеолы с узким ободком цитоплазмы.

В результате клинико-лабораторного обследования более 2000 больных доброкачественными локализованными новообразованиями щитовидной и молочных желез доказано, что ЛИИ является приоритетным миниинвазивным вмешательством при этой патологии с обязательным исходом в регенерацию патологически измененных тканей.

ДЕТЕРГЕНТЫ ВЛИЯЮТ НА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЗАСЕЛЕНИИ БЕСКЛЕТОЧНЫХ СОСУДИСТЫХ ПРОТЕЗОВ

Сергеевичев Д.С., Васильева М.Б., Субботовская А.И., Васильев В.Ю.

ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия
Новосибирск, ул. Речкуновская, 15, тел. +7 (383) 347-60-47,
d_sergeevichev@meshalkin.ru

Актуальность. Важной задачей тканевой инженерии является создание полностью биосовместимых с организмом человека сосудистых протезов. Одним из способов ее решения является создание протеза на основе децеллюляризованной соединительнотканной матрицы (СТМ) в сочетании с имплантацией в ее структуру аутоклеток.

Цель. Оптимизировать протокол детергентной децеллюляризации сосудистых протезов для последующего заселения мезенхимальными стволовыми клетками (МСК).

Материал и методы. Фрагменты брахиоцефальных артерий человека 18 часов децеллюляризовали с помощью: первая группа 1% додецилсульфат натрия (SDS); вторая группа 1% дезоксихолат натрия (SDC); третья 0.5%SDS+0.5%SDC. Затем образцы 8 раз отмывали в фосфатном буфере сменами по 12 часов. После каждой отмывки сохраняли образец промывочного буфера (ПБ). МСК получали из клеток костного мозга здоровых волонтеров в питательной среде (ПС) DMEM-LG, содержащей 10% лизата тромбоцитов человека. Чистоту популяции после 4 пассажа анализировали проточной цитометрией, после чего МСК инкубировали с различными ПБ 24 часа. Затем для определения клеточной токсичности в супернатанте измеряли концентрацию ЛДГ; метаболическую активность МСК определяли с помощью MTS-теста. Далее со стороны адвентиции 1 млн. МСК инъецировали в СТМ после 4 и 8 отмывки. Образцы в пробирках помещали в CO2-инкубатор с добавлением ПС. Гистологическое исследование проводили через 2 и 6 недель.

Результаты. Исследование на гистологическом уровне не выявило каких-либо значимых различий в качестве очистки материала от клеточных элементов. Анализ МСК показал высокую чистоту популяции: экспрессия «мезенхимальных» маркеров

CD29/44/73/90/105 более 95%. Восстановление метаболической активности и минимальная цитотоксичность (менее 10%) получены в третьей группе только после ПБ2 и 3, в остальных группах после ПБ5. После окраски гематоксилин-эозином в строме материала и со стороны адвентиции присутствовали клетки с различными полиморфными, округлыми или продолговатыми, ядрами. Значимого различия в степени клеточности между образцами заселенными после 4 и 8 отмывок не выявлено.

Выводы. Комбинация из детергентов 0.5%SDS+0.5%SDC для децеллюляризации сосудов является оптимальной. Остаточные количества детергентов после 4-кратной отмывки перестают оказывать цитотоксическое действие и не влияют на метаболизм МСК. Инъекционный метод может быть использован для имплантации МСК в децеллюляризованные СТМ.

ПЕПТИДЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА, УМЕНЬШАЮТ ВЫРАЖЕННОСТЬ ПОЧЕЧНОЙ И ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Склифас А.Н.[1], Темнов А.А.[2], Вагабов А.В.[2], Рогов К.А.[2], Лебедев М.П.[2]

ИБК РАН, 142290, г. Пущино, Московская область
НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, 129010, Москва, Россия, Б. Сухаревская площадь, 3

Актуальность. Острая печеночная недостаточность (ОПечН) и почечная недостаточность (ОПН) – состояния, сопровождающиеся высокой летальностью (до 80% случаев) – требуют разработки новых методов терапии. В литературе был показан положительный эффект при лечении данных состояний введением мезенхимальных стволовых клеток (МСК), причем в основе данного эффекта лежал паракринный механизм действия МСК.

Целью работы было исследовать действие пептидного препарата, полученного из культивированных МСК костного мозга на модели ОПН и ОпечН у мышей.

Материалы и методы. Для моделирования ОПечН животным вводился в/б в высокой дозе ацетаминофен (АРАР, парацетамол). Для моделирования ОПН – в/б вводилась высокая доза цисплатина. Для лечения ОПН и ОПечН животным после в/б инъекции АРАР в/б вводили пептидный препарат, полученный из МСК. Материалы для гистологического исследования забирали через 6 часов, через 24 часа и через 7 суток после введения АРАР – для модели ОПечН и через 4 суток после введения цисплатина – для модели ОПН. Одновременно с забором тканей почки проводили б/х анализ крови на содержание мочевины.

Результаты. Гистологическое исследование показало, что под действием пептидного препарата, как на модели ОПечН, так и на модели ОПН (наибольшие изменения наблюда-

лись в извитых канальцах) значительно уменьшаются зоны некроза, выраженность белковой и жировой дистрофии, апоптоза по сравнению с не леченым контролем. Б/х анализ показал, что введение пептидного препарата значительно снижает уровень мочевины у животных с цисплатин-индуцированной ОПН (уровень мочевины у интактных животных – 22 мг/дл, под воздействием цисплатина – 112 мг/дл, под воздействием цисплатина и пептидного препарата – 75 мг/дл).

Выводы. Пептидный препарат на основе МСК уменьшает выраженность ОПН и ОПечН в эксперименте и является перспективным направлением в лечении данных состояний.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОНЦЕНТРАТА КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ РЕЗИСТЕНТНЫМИ ДЕПРЕССИЯМИ

Смулевич А.Б.[1], Дубницкая Э.Б.[1], Воронова Е.И.[1], Морозова Я.В.[2], Радаев С.М.[2]

1 – ФГБУ «НЦПЗ» РАМН;
2 – ООО «КРИОЦЕНТР»
Россия, Москва, ул. Академика Опарина, 4, тел: 735-10-10, yanamorozova1@rambler.ru

Цель исследования. Оценка безопасности, переносимости и эффективности лечения депрессий с помощью внутривенной инфузии концентрата ядросодержащих клеток пуповиной крови (ККПК).

Материалы и методы. Исследование включало 16 женщин в возрасте от 25 до 60 лет (39±2,5 г), госпитализированных по поводу резистентных к терапии депрессивных состояний (рекуррентная депрессия, биполярное аффективное расстройство). В основной группе (13 чел.) типовая терапия дополнялась введением ККПК, внутривенно капельно в дозе 250 млн. клеток. В контрольной группе (3 чел.) терапия сочеталась с плацебо (лейкоциты донорской периферической крови, подвергшиеся той же обработке). Введение препарата (или плацебо) проводилось 4х-кратно, с интервалами в 7 дней. Состояние больных оценивалось исходно, через 2, 4, 6 и 12 нед. после введений. Психопатологическое обследование было представлено шкалой Бека для оценки депрессий, шкалой Гамильтона для депрессий (HDRS-17) и когнитивной батареей «The MATRICS Consensus Cognitive Battery» (MCCB).

Результаты исследования. Полного обратного развития гипотимической составляющей депрессии с формированием ремиссии в процессе терапии не отмечено. В обеих группах на момент окончания исследования регистрируется редукция депрессивных расстройств со снижением степени тяжести гипотимии. Согласно шкале Бека, инфузии ККПК способствуют отсроченной коррекции терапевтической резистентности: через 4 нед. после введений показатель в основной группе снижается до 14,71 баллов (т.е. приближа-

ется к нижнему граничному значению для умеренной депрессии). Через 12 нед. средняя сумма баллов в основной группе сохраняется в границах умеренной депрессии, а в контрольной возвращается на исходную позицию через 6 нед. Важным является зарегистрированное улучшение по показателям когнитивно-аффективной субшкалы шкалы Бека.

Согласно МССВ, через 4 недели после инфузий ККПК в основной группе происходит значимая, стойкая и длительная положительная динамика в сфере когнитивного функционирования (степень восстановления когнитивных функций, скорости психических процессов, рабочей памяти, вербального и визуального научения, исполнительных функций).

Выводы. Терапевтический потенциал ККПК, реализующийся за счёт метаболического и психостимулирующего действия, может быть использован в арсенале средств по преодолению терапевтической резистентности, формирующейся в рамках депрессий.

ПРИМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАТА КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ В ТЕРАПИИ ИПОХОНДРИЧЕСКИХ РЕМИССИЙ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

Смулевич А.Б.[1], Дубницкая Э.Б.[1], Павлова Л.К.[1], Морозова Я.В.[2]

1 – Научный центр психического здоровья РАМН,
2 – ООО «КРИОЦЕНТР»
Россия, Москва, ул. Академика Опарина, 4, тел: 735-10-10,
yanamorozova1@rambler.ru

Целью исследования являлась оценка безопасности и когнитивных эффектов концентрата ядросодержащих клеток пуповинной крови (ККПК) при шизофрении в стадии ремиссии.

Материалы и методы. Основная выборка: 10 больных (мужчины; 33,6±10,6 лет) с диагнозом «Параноидная шизофрения, эпизодический тип течения», ремиссия с преобладанием негативных расстройств, получавшие ККПК на фоне стандартной терапии антипсихотиками в стабильных дозах. Контрольная выборка: 10 пациентов с тем же диагнозом, получавших плацебо (физ.р-р с добавлением реополиглюкина и альбумина).

Предварительно размороженный и отмытый от криопротектора, совместимый по группе крови и резус-фактору концентрат ККПК в дозе 250 млн. клеток вводился внутривенно капельно. В первой (пилотной) фазе исследования осуществлялась однократная инфузия ККПК для оценки переносимости, безопасности и прогноза возможного клинического эффекта; во второй – четырежды в той же дозе с интервалом 14 суток. Динамика состояния оценивалась клиническим, психометрическим, патопсихологическим методами непосредственно до каждой инфузии ККПК, а затем спустя 2,4, 8 недель, полгода, год и 4 года.

Результаты исследования. Установлено, что введение ККПК безопасно. Анализ динамики клинических и нейропсихологических показателей в первой фазе исследования свидетельствует об эффективности метода (улучшение регистрируется у 80% боль-

ных основной выборки против 30% в контрольной). Положительная динамика психометрических показателей («Шкала оценки позитивных и негативных симптомов» (PANSS) проявляется улучшением по следующим пунктам: «нарушение спонтанности общения», «депрессия», «моторная заторможенность», «отказ от сотрудничества».

Динамические показатели патопсихологической оценки («The MATRICS Consensus Cognitive Battery» (MCCB) свидетельствуют, что степень восстановления большинства изученных когнитивных функций, а именно скорости психических процессов, рабочей памяти, вербального и визуального научения, исполнительных функций, а также «социально интеллекта» в посттерапевтический период (8 недель после 4 инфузии ККПК) достигает уровня среднестатистической нормы, т.е. превышает среднюю шкальную оценку в 50 Т-баллов и в 50 процентилей соответственно по MCCB.

Выводы. Можно предположить, что когнитивные эффекты ККПК реализуются за счёт выраженного метаболического (ноотропного) и психостимулирующего действия и, по-видимому, имеют триггерную природу. Указанные свойства проявляются активацией интеллектуальной деятельности, ускорением процессов обработки информации, коррекцией мнестических функций, повышением уровня внимания/бодрствования, а также заметным ростом «социального интеллекта» и как следствие улучшением качества жизни. Эффект применения клеток пуповинной крови в отношении улучшения когнитивных функций отличается не только стойкостью, но и длительностью.

РЕГЕНЕРАЦИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В ПРИСУТСТВИИ ГЕТЕРОГЕННОГО БИОПОЛИМЕРНОГО ГЕЛЯ И МЕМБРАНЫ ИЗ БАКТЕРИАЛЬНОГО СОПОЛИМЕРА, АРМИРОВАННОЙ ВИКРИЛОВОЙ СЕТКОЙ

Соловьёва И.В.[1], Перова Н.В.[2]

1 – АНО «Институт медико-биологических исследований и технологий»; г. Москва. Большой Тишинский пер., 43/20, стр. 2
2 – ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова» Минздрава РФ, Москва, Россия
Москва, ул. Щукинская, 1, тел. +7 (499) 196-88-74, 89266076625@mail.ru

После хирургического лечения травм мягких тканей основной проблемой остается достижение полной регенерации зоны дефекта.

Целью работы является исследование влияния гетерогенного биополимерного гидрогеля (ГБК) и мембраны из бактериального сополимера, армированной викриловой сеткой (МБС-ВС) на регенерацию сухожилий и кожных покровов после операционных вмешательств.

Методы. В экспериментальной модели повреждения сухожилий крыс было показано, что восстановление ориентации коллагеновых волокон и процессов васкуляризации сухожилия в присутствии ГБК и МБС-ВС происходит без образования рубца по сравнению с контрольной группой. Первый опыт клинического применения биополимерных имплантатов был проведен у пациентов на этапе наложения шва и второго этапа пластики сухожилия глубокого сгибателя пальцев кисти, а также после субтотального иссечения ладонного апоневроза при контрактуре Дюпюитрена и при некрэктомии кожного лоскута предплечья в связи с его некрозом. В первом случае ГБК вводили в костно-фиброзный канал, а проксимальный конец сухожилия был укреплён МБС-ВС.

Результаты. Функция пальцев полностью восстановилась через четыре недели после операции. Во втором и третьем случае ГБК имплантировали в окружающие сухожилия ткани и в подкожно-жировую клетчатку, соответственно. Для пациентов была отмечена быстрая эпителизация ран без формирования грубо-волокнистой соединительной ткани. При использовании биополимерных имплантатов у всех пациентов послеоперационный период протекал без осложнений.

Таким образом, биоимплантаты ГКБ и МБС-ВС целесообразно применять при повреждениях сухожилий, связок, кожных покровов, после иссечения ладонного и подошвенного апоневрозов и при их фиброматозе.

ПРОТЕОМНЫЕ МАРКЕРЫ АДЕНОМИОЗА

Сорокина А.В.[1], Радзинский В.Е.[1], Зиганшин Р.Х.[2], Арапиди Г.П.[2]

1 – Кафедра акушерства и гинекологии РУДН, Москва, Россия
2 – Институт биоорганической химии им. М.М Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия)

Актуальность проблемы: Несмотря на широкую распространенность аденомиоза среди женщин репродуктивного возраста, заболевание остается мало изученным. В более чем 50% случаев имеет место гипердиагностика данного заболевания на основании ультразвукового исследования, приводящая к ошибочной тактике лечения.

Цель: определить достоверные маркеры аденомиоза в сыворотке крови для ранней диагностики данного заболевания.

Материалы и методы исследования. Обследовано 120 пациенток с морфологически подтвержденным диагнозом «аденомиоз» (средний возраст 41 год) и 50 практически здоровых пациенток составили контрольную группу (средний возраст 40 лет). Сыворотку крови получали стандартным методом. С использованием магнитных микрочастиц MB-WCX проводилось выделение из сыворотки крови фракции пептидов и белков для их последующего анализа времяпролетной МАЛДИ масс-спектрометрией. Масс-спектры получали с использованием времяпролетного масс-спектрометра Ultraflex (Bruker Daltonics, Германия). Были построены классификационные модели на основе Генетического Алгоритма и

Контролируемой Нейронной Сети со 100% чувствительностью и специфичностью.

Результаты и их обсуждение. Анализ статистических диаграмм площадей, вошедших в построенные классификационные модели масс-спектрометрических пиков между различными группами образцов, позволил выявить 3 пика, характерных для аденомиоза и отличающихся как от контрольной группы, так и от групп больных миомой матки, гиперпластическими процессами эндометрия, раком яичников и пр.

Выводы. Сыворотка крови является легко доступным биологическим материалом, не требующим для получения инвазивных вмешательств. Использование сыворотки в качестве материала для диагностики позволяет широко использовать данный метод среди населения. Определив специфичные для аденомиоза белки в сыворотке крови с использованием времяпролетной МАЛДИ масс-спектрометрии, можно создать инновационные методы диагностики, прогнозирования и течения этого заболевания, лучше понять механизм его развития, обосновать перспективы лечения.

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПОРТИРОВКИ ТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА НА СВОЙСТВА ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Степанов А.А., Коротаев Е.В., Рабинович В.И., Астахова Л.П., Пономарев С.А.

АУ «Югорский НИИ клеточных технологий с банком стволовых клеток», Россия, Ханты-Мансийск, ул. Мира 127-Б, тел: +7 (3467) 356-040, glagolmail@gmail.com

Актуальность. Для обеспечения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в лечебных учреждениях городов Ханты-Мансийского округа, Югорский НИИ клеточных технологий обеспечивает получение трансплантационного материала и его централизованное хранение в г. Ханты-Мансийск. Подобная схема работы экономически целесообразна, но при этом необходимо учитывать влияние транспортировки на свойства ГСК.

Цель исследования: оценить влияние транспортировки транпслантационного материала на количество ГСК и их способность к кроветворению.

Материалы и методы исследования. Проведена оценка транспортировки на экспериментальной модели с ГСК пуповинной крови. Отбор проб для анализа выполняли непосредственно перед экспериментом, и в динамике через 6, 12 и 24 часа моделированной транспортировки. Для определения количества ГСК выполняли проточную цитометрию, для оценки способности ГСК к кроветворению выполняли анализ колониеобразующей активности по общепринятым лабораторным методикам. На втором этапе работы проведена аналогичная оценка клинического трансплантационного материала в ходе осуществления 18 аутотрансплантаций при онкогематологических заболеваниях.

Результаты исследования. В ходе эксперимента количество ГСК уменьшалось не более чем на 8%. Но установлено достоверное снижение колониеобразующей активности ГСК уже через 6 часов моделирования транспортировки ($P \leqslant 0{,}05$). Через 6, 12 и 24 часа снижение данного показателя составило соответственно – 16%, 37% и 62%. Аналогичные результаты получены при исследовании клинического материала в ходе выполнения 18 аутотрансплантаций.

Заключение. Таким образом, несмотря на достаточное количество полученных ГСК, их способность к кроветворению в ходе транспортировки может снижаться. Данные особенности необходимо учитывать при осуществлении централизованного обеспечения лечебных учреждений трансплантационным материалом.

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В СЕРДЦЕ ПРИ ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ И СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Степанова О.В., Куликова Т.Г., Чадин А.В., Полтавцева Р.А., Масенко В.П., Терещенко С.Н., Сухих Г.Т.

ФГБУ РКНПК МЗ РФ, Москва, Россия,
Москва, ул. 3-я Черепковская, д.15а, +7 (495) 414-65-81,
sms-34@yandex.ru
ФГБУ «НЦАГиП» им. Кулакова МЗ РФ, Москва, Россия
Москва, ул. Академика Опарина, 4, rimpol@mail.ru

Актуальность. Ремоделирование кардиомиоцитов, возникающее при развитии дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) и хронической сердечной недостаточности (ХСН) включает в себя так называемую дедифференцировку кардиомиоцитов. По всей видимости, дедифференцированные кардиомиоциты способны пролиферировать и превращаться в зрелые кардиомиоциты, восстанавливающие структурную и функциональную целостность миокарда при ДКМП и ХСН. Вероятно, этот процесс является одним из видов регенеративных процессов, происходящих в миокарде. Дедифференцированные кардиомиоциты приобретают фенотип, схожий с фенотипом фетальных кардиомиоцитов. Для понимания редифференцировки кардиомиоцитов необходимо выявление молекулярных механизмов саркомерогенеза, регулируемого определенными протеинкиназами.

Цель. Изучить локализацию и содержание миозинактивирующих протеинкиназ в фетальных кардиомиоцитах человека.

Материалы и методы. В работе были использованы фетальные кардиомиоциты человека из сердца 8–9 и 13 недель гестации. Для выявления локализации миозинактивирующих протеинкиназ в работе был использован метод двойной непрямой иммунофлуоресценции. Содержание и соотношение протеинкиназ было изучено методом количественного иммуноблоттинга.

Результаты. Была установлена колокализация MLCK-108, MLCK-210, скелетной MLCK и DAPK с немышечным миозином премиофибрилл в фетальных кардиомиоцитах. Было изучено содержание MLCK, DAPK, ILK. Была выявлена высокомолекулярная изоформа немышечной/гладкомышечной киназы легких цепей миозина – MLCK-210. Содержание MLCK-108 было ниже в кардиомиоцитах из сердца 8–9 недель и увеличивалось в клетках из сердца 13 недель. Содержание MLCK-210 наоборот было выше в кардиомиоцитах сердца более раннего срока гестации.

Выводы. Возможным субстратом MLCK, скелетной MLCK и DAPK является немышечный миозин IIB, и фосфорилирование его данными протеинкиназами имеет большое значение в саркомерогенезе. На более ранних этапах развития обе изоформы MLCK могут стабилизировать премиофибриллы, позже MLCK-108, по-видимому, играет ведущую роль в формировании премиофибрилл. По-видимому, миозинактивирующие протеинкиназы участвуют в процессах редифференцировки кардиомиоцитов.

РЕПАРАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА СУПЕРНАТАНТА РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Супруненко Е.А., Василегина Ю.И., Бурлакова О.В., Голиченков В.А.

ФГБОУ «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Биологический факультет, Москва, Россия
119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, корп. 12, +7 (495) 939-35-25, suprunenkoe@mail.ru

В настоящее время большое внимание уделяется поиску возможных биологически активных веществ, обеспечивающих защиту печени и способствующих ее регенерации на фоне повреждений различной этиологии. Как показывают работы последних лет, наиболее сбалансированный комплекс агентов такого рода вырабатывает сама печень.

Цель данного исследования – проследить динамику регенерационных потенций печени мыши (донора) после частичной гепатэктомии (ЧГЭ) на модели острого токсического повреждения печени у мыши (реципиента).

Материалы и методы. Эксперимент проводили на 2-х месячных мышах (самцы C57Bl/CBA) F1. Мышам-донорам проводили операцию частичной гепатэктомии, на 1, 2, 3, 5, 7-е сутки из ткани печени готовили супернатанты (Сн) (LaBrecque D.R. et al., 1975) для введения мышам-реципиентам, у которых за 3 часа до инъекции Сн вызывали острое токсическое повреждение печени однократным внутрибрюшинным введением CCl_4 (2 мкл/г). Сн в дозе 0,04 мл/г вводили мышам-реципиентам внутрибрюшинно (контроль – инъекции физраствора). Действие Сн оценивали по гистоморфологии печени и по активности аминотрансфераз (аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы) в сыворотке крови.

Результаты. Введение супернатантов из регенерирующей печени мышей-доноров на 1–3 сутки ее репарации приводило к достоверному снижению степени деструктивных про-

цессов в печени и положительным сдвигам активности данных ферментов в крови мышей-реципиентов. Наиболее эффективны супернатанты печени на 2-е сутки ее репарации.

Таким образом, на 2-е сутки регенерации после ЧГЭ супернатант печени содержит наиболее оптимальный комплекс морфогенов, способствующий репарации поврежденного органа при острых токсических поражениях.

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ РЕЗИДЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК С МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

Сухачева Т.В., Чудиновских Ю.А., Еремеева М.В., Серов Р.А., Бокерия Л.А.

ФНБУ «НЦССХ им А.Н. Бакулева» РАМН, Москва, Россия
121552, Москва, Рублевское шоссе, д. 135., тел. +7 (495) 414-78-14,
tvsukhacheva@bakulev.ru

Актуальность. Гипертрофическая обструктивная кардиомиопатия (ГОКМП) характеризуется выраженной гипертрофией миокарда левого желудочка и межжелудочковой перегородки (МЖП). Важно выяснить, участвуют ли резидентные стволовые клетки миокарда (РСКМ) в развитии гипертрофии сердечной мышцы у пациентов ГОКМП и при каком состоянии миокарда происходит активация РСКМ у этих больных.

Цель: выявить РСКМ в МЖП больных ГОКМП и установить морфологические изменения миокарда, коррелирующие с повышением количества РСКМ.

Методы. Исследован миокард МЖП 39 больных ГОКМП в возрасте от 17 лет до 61 года (ср. 38 лет). РСКМ выявляли методом конфокальной иммуногистохимии с использованием специфических моноклональных антител к маркерам пролиферации (Ki67), стволовых клеток (c-kit) и КМЦ (саркомерному α-актину). Измеряли диаметр КМЦ, методом иммуногистохимии определяли локализацию в клетке Cx43-содержащих нексусов и присутствие предсердного натрийуретического пептида (ANP). Оценивали степень фиброза миокарда.

Результаты. В миокарде МЖП у разных больных обнаружено 3 – 2261 Ki67-положительных РСКМ и 4 – 8223 c-kit-положительных РСКМ в пересчете на млн КМЦ. Содержание РСКМ в миокарде прямо коррелировало с диаметром КМЦ и выраженностью фиброза миокарда. Развитие гипертрофии КМЦ (ср диаметр 23,1±5,3 мкм) сопровождалось их перестройкой с понижением уровня дифференцировки: в некоторых КМЦ отмечали перемещение части Cx43-содержащих нексусов на боковые стороны клеток или реактивацию синтеза ANP. Содержание РСКМ в миокарде было повышено у больных, у которых чаще встречали КМЦ с Cx43-содержащими нексусами на боковых сторонах клеток и КМЦ, синтезирующие ANP.

Выводы. Увеличение количества РСКМ в МЖП наблюдается у больных ГОКМП с более высокой степенью гипертрофии КМЦ снижением уровня их дифференцировки и более выраженным фиброзом миокарда.

ГИРУДОТЕРАПИЯ В СИСТЕМЕ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Сухов К.В.

Всемирная организация гирудотерапии, Москва, Россия
Москва, ул. Складочная 1, стр. 1, вход 1, офис 1,
тел. +7 (916) 682-73-24, konstantinvs@yandex.ru

Актуальность: для становления системы регенеративной медицины актуален подбор лечебных методик и методов, которые были бы эффективны, безопасны и носили бы универсальный характер.

Цель: представить гирудотерапию (лечение медицинскими пиявками – Hirudo medicinalis) как универсальный и эффективный метод, позволяющий решать проблемы регенерации тканей и органов на уровне тканевой микроциркуляции.

Материалы и Методы: основным материалом служили собственные клинические наблюдения, сведенья из доступной отечественной и зарубежной научной медицинской литературы различных лет издания.

Результаты: Многочисленный и многолетний клинический материал демонстрирует высокую эффективность гирудотерапии в комплексном лечении острых воспалительных заболеваниях, при различной травматической патологии (ушибы, переломы, сотрясения) и острых гепатотоксических процессах, приводящих к функциональному нарушению и морфологическим изменениям структуры печени. Не менее высокая эффективность гирудотерапии при подострых, длительно текущих и хронических патологических процессах, но в этом случае требуется аккуратный и грамотный подход к лечению и длительный курс лечения (до 6–8 месяцев), не редко – повторный. В основе эффективного применения медицинских пиявок, лежат научно обоснованные механизмы их воздействия – это рефлекторное (сродни действию чжень-дзю-терапии), механическое (кровопускание) и биологическое действие слюны пиявки. В настоящее время, в гирудотерапии, мы выделяем центральное (значительное снижение вязкости циркулирующей крови, прямое многоуровневое антикоагулятное и тромболитическое действие) и локальное (прямое противовоспалительное и лимфодренажное действие) применение медицинских пиявок.

Выводы: сочетанное использование центрального и локального вариантов приставок медицинских пиявок, на основе цельного анатомо-физиологического представления о живом организме, позволяет реально менять состояние тканевого кровообращения органов и тканей на уровне микроциркуляции, что и приводит к поразительной эффективности применения гирудотерапии на фоне стандартной общепринятой терапии большинства заболеваний человека и животных.

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ХИРУРГИИ И НА ЭТАПАХ РЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ И ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Сухих Г.Т., Манукян Г.В., Мусин Р.А.

ФГБУ НЦАГиП им. акад. В.И. Кулакова, Москва, Россия
ФГБУ РНЦХ им.акад. Б.В. Петровского РАМН, Москва, Россия

Актуальность. Колоссальный рост заболеваемости, высокая летальность в «листе ожидания» и недостаточная доступность органной трансплантации печени, низкое «качество жизни», недостаточная эффективность поддерживающих хирургических и терапевтических мер диктуют необходимость поиска новых методов компенсации хронической гепато-целлюлярной недостаточности (ХГЦН) и резервного потенциала больных циррозом печени (ЦП) и портальной гипертензией (ПГ).

Цель. Улучшить результаты хирургического лечения и послеоперационной реабилитации больных циррозом печени и портальной гипертензией.

Материалы и методы. Проведены преклинические экспериментальные исследования. В клиническое исследование включены 100 пациентов с ЦП и ПГ, которым в клинике были выполнены различные хирургические вмешательства, и, которым была произведена внутриорганная или системная аллотрансплантация стволовых и прогениторных клеток на различных этапах поддерживающего лечения. Проведена сравнительная оценка эффективности различных путей введения клеточной суспезии. Период наблюдения за пациентами составил от 5 до 12 лет. Клинический мониторинг основывался на динамической оценке функционального состояния печени, показателей, характеризующих резервный потенциал больных с ЦП и ПГ и других параметров, свидетельствующих о влиянии на результаты хирургического лечения.

Результаты. АСППК способствуют снижению активности процесса в печени, уменьшению дегенеративно-дистрофических изменений гепатоцитов, улучшению показателей функциональных состояния печени. Отмечено улучшение результатов хирургического лечения в виде снижения числа осложнений в раннем послеоперационном периоде и результатов отдаленной послеоперационной реабилитации в виде увеличения продолжительности жизни пациентов, их выживаемости и улучшения «качества жизни» с повышением доли больных, достигших лучших, по сравнению с контрольными группами больных, социальной реабилитации.

Выводы. Аллотрансплантация стволовых и прогениторных печеночных клеток является перспективным методом компенсации ХГЦН, повышения резервного потенциала больных с ЦП и улучшения результатов хирургического лечения в ближайшем и отдаленном послеоперационном периодах, которые недостижимы при использовании стандартных методов поддерживающей терапии.

АКТИВАЦИЯ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТОК ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЧ ИЗЛУЧЕНИЯ

Терехов И.В., Бондарь С.С.

ФГОУ ВПО «Тульский государственный университет», Тула, Россия
Тула, пл. Ленина, 92, trft@mail.ru

Актуальность разработки технологий повышения регенеративного потенциала тканей определяется необходимостью повышения эффективности регенерации тканей, как у здорового, так и у больного организма.

Цель исследования – оценка биологических эффектов облучения электромагнитным излучением (ЭМИ) в отношении продукции клетками цельной крови фактора роста фибробластов (FGF-β), трансформирующего фактора роста (TGF-β1), васкуло-эндотелиального фактора роста (VEGF) A и C, оксида азота (NO), антиоксидантов (АОС), тиолов (ТС) и супероксиддисмутазы 2-го типа (СОД) а так же концентрации индуцибельной формы синтазы оксида азота (iNOS), определяемой в лизате мононуклеаров.

Материалом исследования являлись образцы венозной крови (2,0 мл) практически здоровых добровольцев 45–55 лет, разделенные на контрольную и основную группы, помещавшиеся в стерильные флаконы со средой DMEM в соотношении 1:4. Основную группу разделяли на 3 подгруппы, облучавшиеся в течение 45 минут ЭМИ частотой 1 ГГц плотностью потока энергии (ППЭ) 0,01; 0,05 и 0,08 мкВт/см^2 с последующей 24-ти часовой инкубацией при t 37^{o}C. Контрольную группу не облучали. Результаты свидетельствуют о том, что в группе контроля концентрация в супернатанте клеточной культуры ИЛ-4 составляет 1,06±0,29 пг/мл, ИЛ-11 – 1,56±0,23 пг/мл, TGF-β – 0,94±0,14 пг/мл, FGF-β – 0,86±0,05 пг/мл, VEGF-A – 1,25±0,2 пг/мл, VEGF-C – 1,01±0,08 пг/мл, NO – 2,8±0,04 мкмоль/л, iNOS – 6,7±0,02 пг/мл, АОС – 1,61±0,02 мкмоль/л, СОД – 1,6±0,18 пг/мл, ТС – 2,45±0,02 мкмоль/мл. Облучение ППМ 10 нВт/см^2 сопровождалось ростом концентрации ИЛ-4 на 10,4% (p=0,36), ИЛ-11 на 3,2% (p=0,77), TFG-β1 на 3,7% (p=0,6), FGF-β на 3,5% (p=0,6), VEGF-A на 4,0% (p=0,47), VEGF-C на 5,0% (p=0,41), NO на 0,5% (p=0,79), iNOS на 0,3% (p=0,8), АОС на 1,2% (p=0,7), СОД на 1,2% (p=0,7), ТС на 1,9% (p=0,6). Увеличение мощности ЭМИ до 50 нВт/см^2 сопровождалось ростом продукции ИЛ-4 на 17,5% (p=0,044), ИЛ-11 на 6,1% (p=0,31), TFG-β на 7,0% (p=0,3), FGF-β на 8,8% (p=0,23), VEGF-A на 6,8% (p=0,27), VEGF-C на 9,0% (p=0,18), NO на 1,4% (p=0,79), iNOS на 0,7% (p=0,71), АОС на 3,1% (p=0,3), СОД на 3,8% (p=0,7), ТС на 2,5% (p=0,27). При облучении ППЭ 80 нВт/см2 отмечался рост уровня ИЛ-4 на 22,6% (p=0,012), ИЛ-11 на 8,7% (p=0,06), TFG-β на 8,0% (p=0,08), FGF-β на 12,9% (p=0,05), VEGF-A на 7,2% (p=0,09), VEGF-C на 13,4% (p=0,044), NO на 2,3% (p=0,33), iNOS на 1,1% (p=0,22), АОС на 5,3% (p=0,047), СОД на 6,3% (p=0,049), ТС на 3,7% (p=0,18) в сравнении с контролем.

Таким образом, биологические эффекты однократного облучения культуры клеток цельной крови ЭМИ ППЭ 10 нВт/см^2 формируются преимущественно за счет активации Т-хелперов. При ППЭ 50 нВт/см2 отмечали отчетливую положительную динамику ИЛ-4, FGF-β, TGF-β, а так же VEGF-A и VEGF-C, обусловленную, по-видимому, активацией моно-

нуклеарно-макрофагальной системы. При 80 нВт/см^2 наблюдалась дальнейшее повышение концентрации исследуемых факторов, в особенности VEGF-C и FGF-β, а так же рост антиоксидантного потенциала. Таким образом, однократное облучение культуры клеток цельной крови ЭМИ приводящее к активации клеток цельной крови и повышению антиоксидантного потенциала, позволяет говорить об увеличении регенеративного потенциала облученной культуры клеток цельной крови.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В МОДЕЛИ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕЙРОНОВ IN VITRO

Тимофеева А.В., Бобров М.Ю., Жанин И.С., Гусар В.А., Пинелис В.Г.

ФГБУ «Научный центр здоровья детей» РАМН, Москва, Россия
119991, Россия, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1,
+7 (499) 134-14-45, avtimofeeva28@gmail.com

Актуальность и цель: Острые нарушения мозгового кровообращения приводят к одновременному дефициту глюкозы и кислорода, который запускает каскад патобиохимических реакций, приводящих к гибели нейронов непосредственно при ишемии и в постишемический период. Судьба нейронов во многом зависит от тонкого баланса деструктивных и регенеративных процессов, молекулярные механизмы которых выяснены не полностью. В связи с многоплановостью повреждения головного мозга при гипоксии/ишемии и, следовательно, сложностью поиска универсального нейропротектора, актуальным является использование клеточной модели повреждения нейронов с целью анализа изменений уровня экспрессии генов, вовлеченных в процессы повреждения и регенерации нейронов, для дальнейшего создания новых лекарственных препаратов с нейропротекторной активностью, направленной на основные звенья внутриклеточных сигнальных путей, приводящих к гибели нейронов.

Материалы и методы. Для моделирования ишемии культуры гранулярных нейронов мозжечка крыс инкубировали в растворе Эрла, не содержащем глюкозу, в бескислородной атмосфере (N2/CO2,95/5%) в течение 1,5 ч. После гипоксии клетки возвращали в инкубационную нейробазальную среду и помещали в условия нормоксии. Через определенные интервалы времени (0, 1, 2 и 4 часа) из нейронов выделяли суммарную РНК для анализа уровня экспрессии генов методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Результаты. Обнаружена дифференциальная экспрессия 28 из 44 исследованных генов в зависимости от времени реоксигенации после гипоксического/ишемического воздействия на нейроны: проапоптотических генов (p53, BAD, BIM, AIFM1, CASP3, CASP9, FAS; TNFα, EGLN3), антиапоптотических генов (BCL2, BCL2L2, MCL1), транскрипционных факторов (CREB1, STAT3, FOS; NFKB2), регулятора активности HIF1α (EGLN2), регуляторов нейрогенеза (HES1, HES5, ATOH1, SOX2, HIC1, NEUROG1, NEUROG2, NEUROD4, NEUROD6, NOTCH1, NOTCH2).

Выводы. Использованный в работе подход поможет выявить ключевые этапы регуляции нейродеструктивных процессов, а также наметить фармакологические мишени для эффективной защиты нейронов в постишемическом периоде.

РЕГЕНЕРАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОТЕНЦИРОВАННЫХ ОРГАНОПРЕПАРАТОВ

Томкевич М.С.

Российская профессиональная Ассоциация специалистов традиционной медицины, Москва, Россия.
Москва, площадь Тверской заставы д3, офис 301,
тел. +7 (499) 251-31-31, orgcom@ranm.org

Актуальность: XIX века с выступления Ш.Э. Броун В настоящее время является весьма актуальным вопрос об активизации адаптационного потенциала организма в целом и каждого органа отдельно. Эту задачу достаточно эффективно решают потенцированные препараты из органов животных. Применение органопрепаратов осуществлялось в истории медицины уже более 500 лет в тибетской и китайской медицине. Современная эра органотерапии началась в конце XIX века с выступления Ш.Э. Броун-Секара на Биологическом обществе в Париже и с интересом воспринята многими врачами и производителями лекарственных препаратов. Потенцированные органопрепараты впервые появились для медицинского применения в середине XX века и довольно быстро стали применяться для восстановления как функции, так и структуры поврежденного органа.

Цель: показать клиническую эффективность потенцированных препаратов.

Материалы и методы. Представлены 2 клинических наблюдения с применением потенцированных органопрепаратов.

Результаты. Клинический случай №1. Под нашим наблюдением находился пациент в возрасте 46 лет с жалобами на выраженные боли в тазобедренной области справа. При исследовании с помощью МРТ выявлены некроз головки бедренной кости, ее смещение и локальный остеопороз проксимального отдела бедренной кости. В плане подготовки к операции по замене бедренного сустава были назначены следующие лекарственные средства: Os suis (Heel) – органопрепарат кости для восстановления структуры кости применяли подкожно два раза в неделю, Articulatio coxae GL D6 (Wala) – органопрепарат бедренного сустава для улучшения структуры и восстановления кровотока использовали подкожно один раз в неделю, Hepatodoron (Weleda) – для улучшения работы печени и опосредованного влияния на восстановление структуры кости принимали внутрь по две таблетки перед сном. Через 6 месяцев после повторного МРТ не отмечено локального остеопороза, зарегистрировано нормальное положение головки бедренной кости. Плановая операция прошла без осложнений.

Клинический случай №2. Пациентка 47 лет после операции на коленном суставе активно передвигалась по дому на высоких костылях. Через две недели развилась трав-

матическая плексопатия плечевого сплетения. Инъекционный препарат Plexus brachialis Gl D4 (Wala) с целью восстановления структуры и функции нервной ткани вводили парентерально по точкам акупунктуры три раза через день. Дополнительно внутрь применяли Hypericum D6 10 капель два раза в день в течение 14 дней, учитывая тропность к ткани и этиологический момент возникновения проблемы. Уже через неделю лечения восстановилась способность двигать руками и удерживать предметы.

Выводы. Потенцированные органопрепараты в ряде сложных клинических случаев показали свою эффективность и могут быть включены в комплекс медицинских мероприятий для достижения оптимального регенерационного эффекта.

ЗАЖИВЛЕНИЕ ЯЗВЕННОГО ДЕФЕКТА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА У КРЫС

Трубицына И.Е., Тимен Л.Я., Ткаченко Е.В., Варванина Г.Г., Смирнова А.В., Чикунова Б.З.

ЦНИИ Гастроэнтерологии МКНЦ ДЗ г. Москва

С целью непосредственного исследования местного гомеостаза при язвенном поражении слизистой оболочки желудка у крыс воспроизводимой по методу Okabe, изучены характер и динамика метаболических процессов в крае экспериментальной язвы желудка и на расстоянии 5–6 см от него в разные сроки язвообразования – через 1час, 24 часа и 10 суток. При этом установлено, что содержание конечных продуктов катаболизма пуринов (ГК, К и МК) при формировании язвы имело обратно пропорциональную зависимость. В крае язвенного дефекта их минимальное количество отмечено в первый час, а максимальное повышение наблюдалось к 10 суткам. На периферии язвенного поля были обратные соотношения. Количественный состав основных пуриновых метаболитов также изменялся. Через 10 суток в крае язвы зарегистрировано накопление AMP и особенно – GMP, показатель IMP был снижен по сравнению с первыми часами; в зоне перифокального воспаления относительно краев язвы имелась противоположная динамика: снижение уровней AMP и GMP и значительное повышение содержания IMP.

Несмотря на накопление в краях язв пуриновых метаболитов происходило заживление экспериментальных язв. На периферии язвенного дефекта в фазе восстановления отмечено нарастание активности структурного и физиологического метаболизма.

И этот «парадокс рубцевания» был обусловлен, существующими биофизическими закономерностями. При деструктивных процессах, сопровождающихся ишемией, в клетках наступает снижение содержания макроэрга и накопление продуктов деградации ATP: ADP, AMP и аденозина. Последний трансформируется через инозин в гипоксантин и далее в ксантин. При этом уровень гипоксантина в клетках повышается в 10–20 раз. На фоне восстановления кровотока и оксигенации клеток и тканей происходит гиперпродукцией активных форм кислорода с трансформацией NADH-дегидрогеназы в ксантина в мочевую кислоту. Разрушение белковых структур (срок 24 часа) в условиях «кислородного

взрыва» может привести кратковременному, но значительному повреждению тканей с повышением концентрации МК. Язвенное повреждение, как любой деструктивный процесс, сопровождается нарушением энергетических, и пластических функций организма, связанных главным образом с обменом белков, определяющих целостность мембран клеток, активность клеточных функций и качество заживления. Качество заживления становится полноценным только в условиях достаточного энергообеспечения. Целесообразно проводить раннюю местную метаболическую коррекцию центральной части и периферии язвенного поля с использованием препаратов-источников энергообеспечения, антиоксидантов и активаторов фибриллогенеза. Этим требованиям соответствует биохимическая характеристика 5% растворов глюкозы и аскорбиновой кислоты. Наличие в биохимической структуре аскорбиновой кислоты диенольной группы (-COH= =COH-) и молекул Н обеспечивает высокое качество заживления, стимулируя синтез коллагена I, III. За счет аскорбата обеспечивает поддержку митохондриального дыхания в окислительном фосфорилировании. При последующем изучении репаративных возможностей глюкозы и аскорбиновой кислоты выявлена важная роль аскорбиновой кислоты в стабилизации свободнорадикального статуса. Благодаря прооксидантным реакциям становится возможным осуществление нейроэндокринных и иммунных функций организма.

БАЛАНС БИОГЕННЫХ АМИНОВ И НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА У КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЯЗВЕ

Трубицына И.Е., Ткаченко Е.В., Варванина Г.Г., Смирнова А.В., Чикунова Б.З.

ЦНИИ Гастроэнтерологии МКНЦ ДЗ г. Москва

Механизмы нервной трофики участвуют в осуществлении процессов репаративной регенерации. Воспаление, типовая реакция организма протекает по закрепленной схеме и не является гибкой и разумной, это сложный процесс, который включает в себя целый комплекс каскадных явлений. Вначале, острое воспаление, которое закончилось некрозом, затем включаются механизмы с элементами заживления язвенного дефекта. Воспаление всегда является симптомом тяжелого расстройства физико-химического равновесия в клетках и тканях, слагающихся из ряда реакций сосудистой и лимфатической систем, из биохимических и клеточных изменений, каждая из которых может доминировать в клинико-патологической картине. Изучая процесс язвообразования в эксперименте, выделили несколько этапов. Первый 0–60 минут имеет характерные особенности: резкое нарушение микроциркуляторного русла, отек, венозный и капиллярный стаз, снижение протеолитической активности при кислых и слабокислых значениях pH, повышена ингибиторная способность по отношению к кислым и слабокислым протео-

литическим ферментам. В ткани резко повышено содержание серотонина и гистамина. Второй – от 60 минут до 18 часов, возрастает внутритканевая протеолитическая активность при слабокислых значениях pH, способствуя внутритканевой активации пепсиногена, сохраняется высокое содержание серотонина, гистамина и ацетилхолина и сосудистые нарушения, отек, начинается некроз эпителия. В крае язвы и перифокальной зоне метаболические нарушения, преобладают процессы катаболизма. Третий – 18–48 часов, некроз всех слоев стенки желудка, снижен уровень протеолитической активности при всех значениях pH, серотонина, и гистамина, возрастает содержание ацетилхолина и ограничивается площадь повреждения. Четвертый – 3 и более суток, сохраняются сосудистые нарушения, повышенная кровоточивость ткани, высокая концентрации серотонина на фоне снижения уровня ацетилхолина. В крае язвенного дефекта большое число тучных клеток, лейкоцитарная инфильтрация. Сохраняются метаболические изменения, начинают преобладать процессы синтеза. С краев язвенного дефекта наступает эпителизация слизистой. Ранний период – с 1 минуты до 180 минут интересен тем, что макроскопически повреждение слизистой оболочки желудка начинается через 60 минут после воздействия. Через 1 минуту до 60 минут макроскопически слизистая без видимых изменений, только значительный отек. Меняется содержание биологически активных веществ – серотонина, гистамина, ацетилхолина и микроскопические изменения – кровотока, отек. Через 60–180 минут некроз слизистой оболочки желудка и дальнейшее формирование язвенного дефекта. Переменные содержания серотонина, гистамина и ацетилхолина имеют низкую корреляционную зависимость в сроки 1 минута и 1 час – r=0,453869, высокую между 1 и 3 часа – r=0,929481. Таким образом, биологически активные вещества, играющие в физиологических условиях регуляторную роль. Обеспечивают гомеостаз и нормальное функционирование тканей, при достижении критической концентрации, превращаются в свою противоположность, способствуя высвобождению клеточных лизосомных ферментов и внутритканевой активации «собственных» ферментов пепсинов в толще слизистой оболочки и аутолизу окружающей ткани. Меняется кровоток и синтетические процессы слизистой оболочки желудка, нарушаются тканевой и системный цитокиновый статус. В период рубцевания наблюдается нормальное содержание гистамина и ацетилхолина, повышенное серотонина. Высокая концентрации серотонина на фоне снижения уровня ацетилхолина увеличивает сроки рубцевания и способствует повторному обострению язвенного дефекта.

ПРОДУКТЫ АПОПТОЗА ВЛИЯЮТ НА МИГРАЦИЮ МЕЗЕНХИМНЫХ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ РЕЗИДЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Тюкавин А.И.[1,2], Белостоцкая Г.Б.[3,2], Голованова Т.А.[1], Галагудза М.М.[2], Венков А.А.[1], Захаров Е.А.[2,1], Буркова Н.В.[1,2], Ивкин Д.Ю.[1,2], Карпов А.А.[2]

1 – ГБОУ ВПО СПХФА Минздрава России;
2 – ФГБУ «ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова» Минздрава России;
3 – ИЭФБ РАН, Санкт-Петербург, Россия
197397, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.4, лит. А
+7 (812) 234-19-42, atuykavin@mail.ru

Актуальность. Восстановление функций поврежденных органов и тканей за счет привлечения пула мезенхимных и резидентных стволовых клеток (СК) является одной из ключевых и нерешенных фундаментальных проблем регенеративной медицины.

Цель: изучить влияют ли продукты апоптоза на миграцию мезенхимных СК из крови в ткани, а также оценить роль апоптозных тел (АпТ) кардиомиоцитов в восстановлении поврежденного ишемией миокарда счет резидентных стволовых клеток.

Материалы и методы. Использованы культуры фибробластов и клеток неонатального миокарда, а также мыши линии C57BL/6 и крысы линии Wistar. Применяли аутологичные мезенхимные стволовые клетки с меткой GFP и АпТ кардиомиоцитов. Мезенхимные и резидентные стволовые клетки идентифицировали на флуоресцентном и конфокальном микроскопах. Сердечная недостаточность вызывалась перевязкой левой коронарной артерии, а сократимость миокарда оценивали по Лангендорфу.

Результаты. Локальная инициация апоптоза в ткани приводит к усиленной миграции мезенхимных клеток из крови в зону, подвергнутую апоптотическому воздействию. Колонии кардиомиоцитов, сформированные СК трех типов (c-kit+-, Sca+- и Isl1+), в процессе культивирования увеличиваются объеме, а частота их сокращений достигает 58÷60 в мин. При добавлении в культуру клеток АпТ формируются колонии большего размера, которые в тот же временной период сокращаются с частотой 95÷99 в мин. Внутривенное введение АпТ крысам в раннем периоде ремоделирования сердца после инфаркта увеличивало сократимость миокарда животных опытной группы на 70%.

Выводы. Представляется, что продукты апоптоза, в частности АпТ, опосредуют запуск и сопряжение двух базисных процессов: активацию пролиферации резидентных СК и целевую миграцию мезенхимных СК из крови в зону апоптоза. Расшифровка природы регуляторных молекул, содержащихся в АпТ, позволит получить биоподобные фармакологические агенты, влияющие на процессы регенерации клеток в поврежденных органах и тканях за счет обновляющегося резерва аутогенных СК.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АУТОГЕННЫХ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ

Улыбин А.И., Зубанов П.С., Костюкова С.В., Зверева А.Е., Макеев О.Г.

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия.
ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург, Россия
Екатеринбург, ул. Ключевская, 17, тел. +7 (343) 242-15-46, larim@mail.ru

Возрастное ухудшение качества кожи во многом определяется снижением активности и количества клеточной составляющей дермы. Поэтому радикальное решение проблемы коррекции возрастных изменений перенесено в область применения клеточных технологий для заместительной терапии. Ряд проблем, выявленных при изучении последствий применения аллогенных клеток, выводит методы, использующие генетически идентичные реципиенту аутогенные клетки, в число исключительно возможных для практического использования. Однако, как показал многолетний опыт применения таких технологий (напр. Isolagen, США) их применению с целью коррекции возрастных изменений препятствует сложность работы с «взрослыми» клетками и ограниченный восстановительный потенциал клеток стареющего организма.

В ходе клинических испытаний, проведенных на основании одобрения ЛЭК и решения ученого совета УГМА (от 22.04.2005) и последующего наблюдения 83 пациентов было показано, что эти ограничения могут быть успешно преодолены при соблюдении следующих условий:

– выбор участка для эксплантации (с наибольшей сохранностью потенциала фибробластов и с близким к лицевой области профилем экспрессии генов, определяющим синтез уникальных вариантов коллагена);

– культивирование в среде, содержащей аутологичную сыворотку и регуляторы экспрессии соответствующих генов;

– контроль качества и безопасности культивированного клеточного материала.

Положительный клинический эффект применения аутогенных фибробластов у пациентов в возрасте 43–65 лет указывает на сохранение восстановительного потенциала дермальных клеток ягодичной области, что позволяет использовать их для коррекции возрастных изменений кожи. Выраженность и продолжительность позитивного эффекта клеточной терапии обусловлена усилением экспрессии вводимыми клетками гена Coll11A1, кодирующего синтез формообразующего коллагена XI.

ДЕЙСТВИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ ДЫХАНИЮ НА ВЕНТИЛЯЦИЮ И ГАЗООБМЕН В ЛЕГКИХ У БОЛЬНЫХ ХОБЛ

Урюмцев Д.Ю.

ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН, Новосибирск, Россия
Новосибирск, ул.Тимакова д.4, тел. +7 (383) 333-48-69, iph@physiol.ru

В настоящее время средства с дополнительным сопротивлением используются в спортивной медицине для тренировки систем кровообращения и дыхания, а так же существуют рекомендации их использования больными с ХОЗЛ для улучшения дренажной функции бронхов, для профилактики приступов астмы физического усилия. Используется широкий диапазон создаваемого сопротивления, а так же периодичности его включения. Однако влияние на вентиляцию и особенно газообменную функцию легких сопротивления, которое по своей силе находится ниже порога ощущения человеком недостаточно изучено. В этой связи в настоящей работе исследовалось влияние на вентиляцию и газообмен дополнительного сопротивления дыханию у больных ХОБЛ, которое не вызывает чувства одышки.

В обследовании принимали участие больные в количестве 21 человека с хронической ДН 1–2 стадии. Исследование легочного газообмена проводили на автоматизированном спирометаболическом комплексе Ultima PFX (США). Использовалась резистивная нагрузка, равная 0,4 см вод. ст.•л-1•с.

При сравнении параметров легочного газообмена в условиях без дополнительного сопротивления (БДС) и с дополнительным сопротивлением (СДС) обращает внимание достоверное ($p<0,0001$) снижение скорости потребления кислорода и выделения углекислого газа на 18% и 17%. Коэффициент использования кислорода, в условиях СДС, опустился на 15% от исходного уровня и оказался ниже границы принятой нормы (35 об.%). Достоверной динамики дыхательного коэффициента не обнаружено, что указывает на пропорциональное изменение VO2 и VCO2. Значения минутной вентиляции, глубины и частоты дыхания на обоих этапах не различались, что говорит об отсутствии изменения паттерна дыхания и в связи с изменением VO2 падении эффективности альвеолярной вентиляции.

Функциональный смысл данных реакций заключается в оптимизации энергетических процессов со стороны дыхательной системы связанной с повышением нагрузки на её звенья.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЦИТОКИНОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ТРАНСПЛАНТАТОВ СОСУДОВ И КЛАПАНОВ СЕРДЦА

Фадеева И.С.[1], Муратов Р.М.[2], Сачков А.С.[2], Бритикова Д.В.[2], Акатов В.С.[1]

1 – ИТЭБ РАН, Пущино, Институтская, 3, +7 (495) 632-78-69;
2 – ФГБУ «НЦССХ им. А.Н. Бакулева», Москва, Рублевское ш., 135, +7 (495) 414-78-45. akatovgroup@gmail.com

Несмотря на несомненный прогресс в разработке новых моделей механических и биологических протезов клапанов сердца и сосудов, технологий предимплантационной обработки или изготовления имплантатов, обеспечивающих полное вживление и, следовательно, ремоделирование и рост пересаженных тканей вместе с соответствующим органом реципиента в настоящее время нет. На сегодняшний день, девитализированные или децеллюляризированные трансплантаты (графты) сосудов и клапанов сердца (ТСКС), сохраняющие жизнеспособность и(или) свою биологическую специфичность в результате предимплантационной обработки и консервации, являются самыми перспективными материалами для хирургического лечения врожденных и приобретенных пороков сердца и сосудов. Однако, несмотря на ряд несомненных преимуществ, развивающаяся после графтинга кальцификация имплантированной ткани, а также отсутствие репопуляции основной толщи матрикса трансплантатов в значительной степени ограничивает внедрение ТСКС в клиническую практику. В последние десятилетия интенсивно разрабатываются технологии предимплантационной in vitro рецеллюляризации поверхности трансплантатов изогенными клетками реципиента. Однако, несмотря на значительное увеличение приживляемости таких трансплантатов, отсутствие миграции высеянных in vitro клеток реципиента вглубь матрикса графтов и отсутствие их репопуляции непосредственно уже после графтинга, приводит в отдаленных последствиях к расслоению и дегенерации основной толщи матрикса трансплантатов. Использование в качестве альтернативы технологий предварительной (до имплантации) модификации трансплантатов соответствующими цитокинами или ростовыми факторами, эффективно обеспечивает репопуляцию матрикса ТСКС клетками реципиента после имплантации в системный кровоток, но в зависимости от типа девитализации/децеллюляризации трансплантатов может провоцировать развитие кальциноза имплантированной ткани. В докладе обсуждаются основные преимущества и недостатки использования рекомбинантных ростовых факторов для обеспечения репопуляции ТСКС in vitro и in vivo. Экспериментальные данные получены в лаборатории Тканевой инженерии ИТЭБ РАН.

Работа проведена при поддержке стипендиального гранта Президента РФ №СП-6867.2013.4.

СУБПОПУЛЯЦИЯ ГЕТЕРОГЕННОЙ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК, ОТВЕЧАЮЩАЯ ПО МЕХАНИЗМУ КАЛЬЦИЙ-ИНДУЦИРОВАННОГО ВЫБРОСА КАЛЬЦИЯ

Фадеева Ю.И.[1], Тюрин-Кузьмин П.А.[1], Сысоева В.Ю.[1], Котова П.Д.[2],

Рогачевская О.А.2, Колесников С.С.2, Ткачук В.А.1
1 – Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, 119192, Россия, Москва, Ломоносовский просп., 31, корп. 5, тел. +7 (495) 932-99-04, julia.fadeeva89@gmail.com
2 – Институт биофизики клетки РАН, 142290, Россия, Московская обл., Пущино, ул. Институтская, 3

Актуальность. Гетерогенную популяцию фибробластоподобных клеток выделяемых из разных органов (костный мозг, жировая ткань и др.) адгезирующих на пластик, способных к самообновлению и дифференцировке в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях называют мезенхимальными стволовыми/стромальными клетками (МСК). В связи с большим потенциалом МСК для использования в регенеративной медицине, важно иметь подробно описанную популяцию клеток с известным клеточным составом. Полногеномное сканирование выявило в популяции МСК экспрессию большого числа рецепторов к гормонам и факторам роста, которые могут принадлежать разным субпопуляциям клеток. Большинство рецепторов, найденных в культуре МСК, вызывает активацию метаболических путей, в которые вовлечен кальций. Повышение цитоплазматического уровня Ca2+ в ответ на стимуляцию рецептора может происходить либо градуально в зависимости от концентрации агониста, либо по принципу «все или ничего». В одной из субпопуляций МСК кальциевый ответ развивается по принципу «все или ничего». Известно, что такой тип ответа обусловлен кальций-индуцированным выбросом кальция (CICR) из эндоплазматического ретикулума.

Цель. Охарактеризовать популяцию МСК, способную отвечать по механизму CICR.

Материалы и методы. Клетки первичной культуры МСК человека выделенные из подкожной жировой ткани 1–2 пассажей окрашивали кальций-чувствительным флуоресцентным красителем Fluo-8 и хелатором кальция NP-EGTA (o-nitrophenyl EGTA). На короткое время (8–12 с) NP-EGTA стимулировали УФ светом (длина волны 350нм), индуцируя, таким образом, небольшое повышение уровня Ca2+ в цитоплазме всех клеток. Далее при помощи прижизненной цейтраферной съемки наблюдали за изменением внутриклеточного уровня Ca2+ в течение 5 минут после стимуляции. После выявления клеток, способных отвечать по механизму CICR, образец фиксировали 10% параформальдегидом. Иммуноцитохимически окрашивали образцы на маркеры плюрипотентности c-kit, Oct 4 и Nanog и каспазу 3 – маркер апоптоза. Затем выявляли наличие искомых маркеров в клетках, способных отвечать по механизму CICR.

Результаты. Часть клеток (3–5%) реагировала на небольшое увеличение уровня Ca2+ (фотолиз NP-EGTA) последующим большим по амплитуде повышением концентрации Ca2+ в цитоплазме. В результате проведенного анализа показано, что клетки, отвечающие по механизму CICR, не несут маркеров плюрипотентности c-kit, Oct 4 и Nanog и caspase 3.

Ранее нами был показан механизм распространения Ca2+ – сигналов в клетке. В цитоплазме МСК анализировали прохождение внутриклеточной волны Ca2+, возникающей при локальном фотолизе NP-EGTA. Рассчитана скорость свободной диффузии ионов кальция в цитоплазме изучаемых клеток. Согласно расчетам, при пассивной диффузии на распространение сигнала потребовалось бы порядка 100 с. В нашем случае волна Ca2+ проходила по цитоплазме за 1с. Эти данные подтверждают, что цитоплазма изучаемой субпопуляции МСК представляет собой активную среду, в которой сигнал Ca2+ распространяется за счет CICR.

Выводы. Таким образом, мезенхимальные стволовые/стромальные клетки, отвечающие по механизму кальций-индуцированного выброса кальция, не являются ни плюрипотентными, ни апоптотическими клетками.

МЕХАНИЗМЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Фатхудинов Т.Х.

ФГБУ «НЦАГиП им. акад. В.И. Кулакова» МЗРФ, Москва, Россия
Москва, ул. Академика Опарина, 4,
тел. +7 (903) 256-11-57, tfat@yandex.ru

Несмотря на бурное развитие клеточных технологий и их внедрение в клиническую медицину, четкие представления о механизмах терапевтической активности мультипотентных стромальных клеток (МСК) до сих пор отсутствуют. Все обсуждаемые в литературе предположения о механизмах действия МСК можно разделить на две группы. В первую группу входят гипотезы, основанные на допущении замещения погибших специализированных клеток и клеток кровеносных сосудов трансплантированными клетками путем слияния или дифференцировки, так называемый заместительный механизм. Вторая группа включает в себя гипотезы о механизмах стимуляции репарации и ангиогенеза, основанных на том, что МСК синтезируют и секретируют паракринные факторы, регулирующие процессы воспаления и регенерации – т.н. механизмы паракринной индукции. Кроме того, роль МСК при хронических заболеваниях остается малоизученной, тогда как микроокружение в условиях хронического воспаления и образования рубца может обусловить иное поведение трансплантированных клеток.

Целью настоящего исследования было проанализировать собственные и опубликованные в научной литературе данные о механизмах терапевтической активности МСК. С помощью ПЦР-РВ, морфологических, морфометрических и иммуногистохимических методов исследования изучены такие аспекты поведения МСК как выживаемость, хоминг,

направления дифференцировки и продукция сигнальных молекул, регулирующих воспаление и регенерацию, при трансплантации в условиях экспериментального повреждения различных тканей. В результате проведенного исследования показано, что трансплантированные МСК длительно выживают, направлено мигрируют в область повреждения и не дифференцируются в специализированные клетки, а дифференцируются в клетки фибробластического дифферона, обеспечивая реакцию стромы и перестройку соединительной ткани рубца. При этом наблюдается стимуляция ангиогенеза и регенерация собственных специализированных клеток за счет продукции паракринных факторов регуляции.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙРОНОВ СПИННОМОЗГОВЫХ ГАНГЛИЕВ В ПРОЦЕССЕ РЕГЕНЕРАЦИИ ГЛУБОКОЙ РАНЫ КОЖИ С ПОДЛЕЖАЩИМИ ТКАНЯМИ

Фетисов С.О., Алексеева Н.Т., Кварацхелия А.Г.

ФГОУ ВПО Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко
Россия, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10, fetisovbiol@yandex.ru

Рассматривая участие нейронов спинномозговых узлов (СМУ) в процессах сопровождающих повреждения покровных тканей, необходимо отметить их значительную роль в регуляции процессов воспаления и последующей пролиферации клеточных элементов.

Целью нашего исследования являлось изучение динамики изменений морфофункционального состояния нейронов СМУ при естественном заживлении раны мягких тканей и при стимулировании её регенерации тромбоцитарным концентратом (ТК).

Материалы и методы. Эксперимент поставлен на 194 самцам белых беспородных крыс. Для моделирования раневого процесса на передней поверхности левого бедра крысы наносили линейный разрез 1×0,5 см, ежедневно производили смену асептической повязки. Второй экспериментальной группе в образовавшийся дефект однократно вносили ТК с концентрацией тромбоцитов не менее 1 млн/мкл. Животные выводились из эксперимента на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е и 28-е сутки равными группами. Иссекали СМУ сегментов LIII-LV, как участвующие в иннервации области повреждения.

Результаты. Установлено, что на протяжении различных стадий раневого процесса отмечаются перестройки в популяциях нейронов СМУ. Их характер связан как с изменением функционального состояния нейроцитов, проявляющемся в перестройке хроматофильного вещества и функциональном изменении размеров клеток, так и в возникновении измененных нейронов с признаками дегенеративных и деструктивных процессов. Для катаболической фазы раневого процесса альтеративные реакции отмечались во всех субпопуляциях нейронов СМУ, а при переходе в анаболическую фазу – преимущественно проявлялись у малых В-нейроцитов. Максимум деструктивных изменений был отмечен на

14-е сутки. В случае применения ТК, при качественно схожей морфологической картине, отмечалось усиление компенсаторных реакций и снижение доли нейронов с признаками деструктивных реакций во всех сроках эксперимента.

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН

Хайдар Сахаб А[1,2], Третьяк С.И.[1]

1 – «Белорусский государственный медицинский университет»
2 – УЗ ГК «Больница скорой медицинской помощи»
Минск, Беларусь
Республика Беларусь, г. Минск, пр. Дзержинского, 83, 220116,
+375291850185, Dr.Haidar09@yahoo.com

Проблема лечения длительно незаживающих инфицированных ран, представляет собой актуальную и до конца не решённую проблему современной хирургии. Несмотря на имеющиеся достижения в лечении пациентов с хроническими ранами, многие вопросы по-прежнему остаются нерешенными. Одним из перспективных и широко обсуждаемых направлений развития хирургических технологий в лечении ран является изучение и применение стволовых клеток.

Цель: влияние мезенхимальных стволовых клеток (МСК) полученных из жировой ткани (ЖТ) на течение инфицированных ран у лабораторных животных.

Материал и методы. Для проведения исследования были использованы взрослые белые крысы линии Vistar весом 160–200 гр., у экспериментальных животных выполняли моделирование округлой инфицированной раной на спине по отработанной методике. Все животные были разделены на две группы: контрольную (1), (n=25) и основную (2), (n=25). В контрольной группе, начиная со вторых суток от начала эксперимента, ежедневно для локальной санации раны применялись стандартные антисептики. В основной группе экспериментальных животных лечение включало клеточную терапию с использованием аутологичных МСК из ЖТ крыс на 2 сутки с начала эксперимента.

Результаты. На 10 сутки эксперимента результаты цитологического исследования показали, что количество фибробластов во 2-й группе 24,5 (23,0÷28,0) группе более, чем в два раза превышал аналогичный в 1-й группе 9,0 (8,0÷12,0) группе ($p<0,001$). Медиана процентного содержания фиброцитов у животных 2-й группы 9,0 (7,0÷11,0) также более, чем в два раза превышала аналогичный показатель 1-й группы 4,0 (2,0÷6,0) ($p<0,001$). Таким образом, локальная трансплантация аутологичных МСК из ЖТ, в отличие от комплексного лечения, включающее местное применение антисептиков и системную антибактериальную терапию, вызывает ускорение фибропластических реакций в грануляционной ткани, что документируют высокие показатели процентного содержания фибробластов и фиброцитов, а также полное восстановление дефекта кожного покрова со сущими ему дериватами.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Халфорд-Князева И.П., Самоходская Л.М., Радзинский В.Е., Яровая Е.Б.

ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова, ФФМ, Москва, Россия
Москва, Ломоносовский проспект, д. 31/5, inessa_kn@mail.ru, slm61@mail.ru
ФГБОУ ВПО РУДН, Медицинский факультет, Москва, Россия
Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, radzinsky@mail.ru
ФГБОУ ВПО МГУ имени М.В. Ломоносова, ММФ, Москва, Россия
Москва, Ленинские горы мкр., д. 1, Главное здание МГУ, yarovaya@mech.math.msu.su

Актуальность. В мире преэклампсия осложняет течение беременности в 2–8%, и является одной из главных причин заболеваемости и смертности матери и плода. В основе синдрома преэклампсии лежит генерализованная эндотелиальная дисфункция, ведущая к расстройству общего кровообращения во время беременности.

Цель исследования: улучшение прогнозирования риска развития гестоза на основании оценки роли полиморфизма генов белков, участвующих в плацентации, вовлеченных в системный воспалительный ответ, связанных с регуляцией АД, оксидативным стрессом и влияющих на функцию эндотелия.

Материал и методы. Обследованы 116 женщин с «чистой» формой преэклампсии с выраженным отечным синдромом и 100 женщин с нормально протекающей беременностью. Для молекулярно-генетического анализа проводилась полимеразная цепная реакция с использованием ДНК, выделенной из венозной крови. Статистическая обработка данных осуществлялась при помощи пакета Statistica 8.0. Многофакторный анализ выполняли с использованием модели логистической регрессии.

Результаты. Выявлены аллельные варианты генов, ассоциированные с развитием преэклампсии с выраженным отечным синдромом (ACE i/D, AGT M235T, MBL2 codon 54), показана прогностическая значимость комбинаций генотипов полиморфизмов изученных генов.

Выводы. Полученные результаты указывают на различный уровень значимости каждого из аллельных вариантов и учитывают их разнонаправленные действия (не только негативное, но и протективное). Предложено использовать полученные данные генодиагностического обследования для предгравидарного прогнозирования и выявления групп риска преэклампсии, а также как один из факторов перинатального риска.

ОПЫТ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Хубутия М.Ш., Михайлов И.П., Боровкова Н.В., Пономарёв И.Н., Александрова И.В., Кудряшова Н.Е., Гольдина И.М.

ГБУЗ НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗ г. Москвы, Россия, Москва, Б. Сухаревская пл., д.3. Тел: +7 (495) 625-24-52, ponomarev@celltiss.ru

Актуальность. Хроническая ишемия нижних конечностей (ХИНК) – широко распространенное заболевание с высокой степенью инвалидизации. Ограниченные возможности хирургического лечения ХИНК при дистальном поражении артериального русла обуславливают интерес к терапевтическому ангиогенезу трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК).

Цель – оценить клиническую эффективность местного применения ГСК при ХИНК.

Материалы и методы. Обследовано 10 пациентов с ХИНК 2А степени. Аутологичные ГСК выделяли после проведения курса препарата Г-КСФ (Филграстим), методом афереза с последующей иммуномагнитной сепарацией. Пациентам клетки вводили дистальнее уровня окклюзии в голень в проекции магистральных сосудов. Оценку характера и качества кровоснабжения пораженной области проводили на основании данных ангиографии, МСКТ, сцинтиграфии, УЗДГ (с определением ЛПИ), тредмил-теста. Качество жизни пациента оценивали на основании опросников. Исследования проводили перед трансплантацией, через 1,3 и 6 месяцев.

Результаты. У одного пациента выделяли в среднем 25,48±2,5 х106 ГСК. Введение клеток в 4 случаях сопровождалось развитием местного болевого синдрома, самостоятельно купировавшегося в течение 1 суток. Через 3 месяца у всех пациентов отмечали увеличение объема коллатерального кровотока в области введения клеток, на фоне сохранявшейся окклюзии магистрального сосуда. Субъективное улучшение соматического состояния и значительное увеличение дистанции безболевой ходьбы отмечали 9 пациентов. Через 6 месяцев в 6 случаях коллатеральный кровоток увеличивался относительно данных предшествующего исследования, в 3 не изменялся, а в 1 случае отмечено его снижение с субъективным ухудшением состояния.

Выводы. Таким образом, местное применение аутологичных ГСК позволяет улучшить кровоснабжение ишемизированной области. Однако нестойкость эффекта обуславливает необходимость повторных трансплантаций клеток. При этом характер поражения кровеносного русла при атеросклерозе, безусловно, требует комплексной ангиотропной терапии у пациентов с ХИНК.

ПРИМЕНЕНИЕ КОМБИНАЦИИ ММСК И ДЕРМАЛЬНОГО МАТРИКСА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Хубутия М.Ш., Похитонов Д.Ю., Боровкова Н.В., Филиппов О.П., Клюквин И.Ю., Пономарёв И.Н., Шугай С.В., Андреев Ю.В..

ГБУЗ НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского ДЗМ, г. Москва, Россия, Москва, Большая Сухаревская площадь д.3.
Тел. +7 (903) 773-13-67 borovkova@celltiss.ru

Актуальность. Современные повязки на основе дермы человека (дермальный матрикс (ДМ), деэпителизированный аллотрансплантат Alloderm) хорошо себя зарекомендовали в лечении ран и глубоких ожогов, поскольку обеспечивают механическую защиту, формируют оптимальную среду, предотвращают контаминацию, однако не обладают ростостимулирующим эффектом.

Цель исследования – оценить эффективность комбинации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) с ДМ в эксперименте.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 48 беспородных мышах. Под наркозом моделировали глубокий (до фасции) раневой дефект площадью 2% поверхности тела. Животные разделены на следующие группы: 1 группа – комбинация ММСК с дермальным матриксом (ДМ). 2 группа – комбинация ДМ с гомогенизированной аутокожей, в качестве источника аутологичных ММСК. 3 группа – ДМ. 4 группа (контрольная) – влажно-высыхающие марлевые повязки. Эффективность лечения оценивали на 3 и 14 сутки гистологическим методом.

Результаты. На 3 сутки при визуальном осмотре раневое покрытие превращалось в струп и легко удалялось со дна раны. При гистологическом исследовании в 3 и 4 группах отмечены признаки воспалительной фазы регенераторного процесса, тогда как в 1 и 2 группах – начала пролиферативной фазы. На 14 сутки макроскопически раневое покрытие представлено струпом, который в 1 и 2 группах легко отделялся от новообразованного эпителия, в 3 и 4 группах был плотно спаян с дном раны. Микроскопически в группах 3 и 4 наблюдали продолжающийся процесс эпителизации раневой поверхности. В группах 1 и 2 отмечено полное заживление раны и признаки процесса ремоделирования тканей, что указывает на более высокие темпы регенерации.

Выводы. Наилучшим ростстимулирующим эффектом обладает комбинация аутологичных и аллогенных ММСК с дермальным матриксом, что позволяет сократить сроки эпителизации за счет сокращения фазы воспаления и ускорения созревания грануляционной ткани.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗАЖИВЛЕНИЯ ВЕНОЗНЫХ ЯЗВ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ У ПОЖИЛЫХ БОЛЬНЫХ

Чекмарева И.А[1], Паклина О.В[1]., Матвеев Д.В., Семенов С.В., Снигоренко А.С., Абдувосидов Х.А., Ломакин А.А.

1 – ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава РФ
2 – ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования
3 – Московский клинический научно-практический центр ДЗМ

Актуальность. Трофические язвы являются самым распространенным осложнением хронической венозной недостаточности нижних конечностей. Лечение трофических язв является одной из важнейших и трудных проблем хирургии.

Цель исследования. Изучить динамику морфологической картины трофических язв у больных старше 60-ти лет при комбинированном лечении.

Материал и методы. В основной группе было 28 больных, которым применяли лимфотропную иммунокоррекцию препаратом Имунофан, дополнительно местно в течение семи дней использовали антисептический препарат Пронтосан, затем липосомально-антиоксидантный комплекс Фламена. Больным контрольной группы (22 человека) иммунокоррекцию не применяли, а для местного лечения в первые 7–10 дней применяли 1% раствор Хлоргексидина, затем мазь Левомиколь. Гистологическое и электронно-микроскопическое исследование тканей язв проводили до лечения, на 7 и 15 сутки лечения.

Результаты. До лечения отмечали интенсивное разрастание грануляционной ткани с минимальной макрофагальной активностью. Нарушена регуляция созревания и инволюции ткани, происходит неравномерный склероз с очагами некроза и воспаления, принимающего хронический характер. На 7 сутки лечения в основной группе больных отмечали усиление лейкоцитарной и макрофагальной реакции. На ультраструктурном уровне было выявлено усиление функциональной активности макрофагов, фибробластов.

На 15 сутки лечения в опытной группе больных отмечали активизацию процесса фибриллогенеза. Происходила структурно-функциональная реорганизация микрососудов, с уменьшением их количества и замещением грануляционной ткани молодой фиброзной тканью. У больных контрольной группы такие морфологические изменения появлялась намного позже.

Выводы. Применение лимфотропной иммунокоррекции Имунофаном и применение стадийного местного лечения с использованием антисептика Пронтосан и липосомально-антиаксидантного комплекса Фламена способствует активизации макрофагальной реакции и стимуляции репаративных процессов.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕПАРАЦИИ ТКАНЕЙ У БОЛЬНЫХ СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Чекмарева И.А., Паклина О.В., Гордиенко Е.Н., Блатун Л.А.

ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава РФ, Москва, ул. Б. Серпуховская, 27, тел +7 (499) 236-85-98
Chekmareva@ixv.ru

Актуальность. Синдром диабетической стопы (СДС) – одно из самых тяжелых осложнений, встречающееся у 10% пациентов с сахарным диабетом. Репаративные процессы при рецидивирующих трофических язвах и длительно незаживающих ранах на фоне сахарного диабета нарушены, что является причиной длительной эпителизации раневых дефектов. **Цель:** определить морфологические критерии заживления длительно незаживающих и рецидивирующих ран у больных СДС.

Материал и методы исследования: проводили гистологическое и электронно-микроскопическое исследование биопсий ран у 15 больных СДС. Рецидивы язв имели место у 7 больных (1-я группа). Во 2-ю группу вошли 8 больных с длительно (более 1,5 месяцев) незаживающими ранами. Больные находились на лечении в отделении ран и раневой инфекции Института хирургии имени А.В. Вишневского 2009–2011 гг.

Результаты. У больных 1-й группы в грануляционной ткани большое количество функционально активных фибробластов, капилляров. Отмечали плазматическое пропитывание и утолщение участков базальной мембраны сосудов. Особенно часто встречались крупные макрофаги с огромными вакуолями, заполненными детритом. У больных 2-ой группы в грануляционной ткани больше (по сравнению с первой группой больных) тучных клеток и полиморфно-ядерных лейкоцитов в состоянии дегрануляции, лимфоцитов, что характерно для стадии начала формирования грануляционной ткани после очищения раны. Большое количество молодых сосудов капиллярного типа с гиалиновыми и фибриновыми тромбами. Процесс редукции новообразованных сосудов задерживался. Большинство клеток находилось в состоянии дистрофии и распада.

Выводы: в длительно незаживающих (нерецидивирующих) ранах процесс заживления протекал по типу патологической регенерации. В периодически рецидивирующих ранах процесс заживления в той или иной мере доходил «до своего конца» и рана в связи с этим приобретала некоторое сходство с нормально заживающей. При исследовании биопсий из области язвенных дефектов у больных с СДС возможно прогнозирование течения раневого процесса.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАКТОРОВ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ

Челомбитько О.В., Бондарович Н.А., Останков М.В., Димитров А.Ю.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Украина, г. Харьков, ул. Переяславская, 23, тел. (057) 373-57-89, cryopato@rambler.ru

Использование в медицинской практике метода криодеструкции наряду с клеточной терапией при лечении онкологических заболеваний вызывает необходимость изучения влияния холода на изменение молекулярно-генетических характеристик опухолевых клеток, в частности стволовых раковых клеток (СРК).

Целью работы было сравнить на молекулярно-генетические свойства клеток АКЭ 7-й и 14-х суток развития под влиянием процессов замораживания-отогрева.

Материалы и методы. Клетки АКЭ получали на седьмой и четырнадцатый день культивирования in vivo, криоконсервировали в асцитической жидкости без использования криопротекторов по двухэтапной программе (скорость 1°С/ мин. до -80° С, 300–400°С/ мин. – от -80 до -196°С). Популяцию клеток с маркером CD44 выделяли методом магнитной сепарации на магнитном сортере BD IMagnet (USA). Анализ процентного содержания субпопуляций с маркерами CD44+CD24- и CD44high проводили на проточном цитофлуориметр FACS Calibur (Becton Dickenson, USA). Уровень экспрессии генов Sox-2, Nanog, Oct-4 определяли методом ОТ-ПЦР.

Результаты. Полученные в ходе исследования данные показали, процессы замораживания-отогрева вызывали разнонаправленное действие на клетки АКЭ разных сроков культивирования. На начальном этапе развития культуры влияние холода оказывало ингибирующее действие на экспрессию поверхностных фенотипических маркеров CD44high и CD44+CD24-, а в культуре клеток 14-х суток развития отмечалось повышение уровня экспрессии этих маркеров. Было выявлено, что на 7-е сутки развития АКЭ после действия низких температур экспрессия всех определяемых генов снижалась. А в культуре клеток поздней стадии развития наоборот отмечалось повышение уровня экспрессии генов после криоконсервирования. Таким образом, мы наблюдаем эффект ревитализации культуры более поздней стадии развития после влияния процессов замораживания-отогрева.

РЕГЕНЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КАРДИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ЭКСПЛАНТА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ ЧЕЛОВЕКА

Чепелева Е.В.[1,2,3], Павлова С.В.[1,2,3], Малахова А.А.[1,2,3], Перовский П.П.[1,2,3], Дементьева Е.В.[1,2,3], Покушалов Е.А.[2,3], Закиян С.М.[1,2,3]

1 – ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск;
2 – ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск;
3 – ФГБУ Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздравсоцразвития России, г. Новосибирск
630090, Новосибирск, Россия, просп. Академика Лаврентьева, 10, ИЦиГ СО РАН, тел. +7 (383) 363-49-80, +7 (383) 333-34-68
e-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru

Недавно обнаруженные стволовые клетки сердца (СКС) имеют большие перспективы в лечении сердечно-сосудистых заболеваний человека. В популяции кардиальных клеток они встречаются с частотой 0,03% и сгруппированы в «ниши», располагающиеся между сердечными мышечными клетками. Основной характеристикой СКС является наличие тирозинкиназного рецептора c-Kit. В нашей работе были получены и охарактеризованы первичные культуры клеток из эксплантов сердца человека и показано, что 4% клеток несут на своей поверхности маркер c-Kit, что доказывает способность СКС мигрировать из экспланта и пролиферировать in vitro. В СКС клетках, отсортированных методом MACS, выявляется экспрессия генов OCT4 и Nanog, Klf4, c-Myc, CD31, VE-cadherin. При обработке дексаметазоном СКС дифференцируются в кардиомиоцитарном направлении, при культивировании в слое коллагена 1 типа – в эндотелиальном направлении.

Также было показано, что при культивировании экспланта происходит миграция клеток эндотелия и перицитов из микрососудов. Добавление в ростовую среду факторов EGF и VEGF приводит к увеличению доли CD31-позитивных клеток до 80%. Отличительным свойством перицитов является экспрессия эндогенной щелочной фосфатазы, которая выявляется в 4% клеток культуры. Совместное культивирование перицитов и эндотелиальных клеток на матригеле приводит к формированию капилляроподобных структур. Таким образом, помимо того, что эксплантная культура является источником региональных кардиальных стволовых клеток, она сама обладает ангиогенным потенциалом.

СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КРИОПРЕЦИПИТАТА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ С ДИФФУЗНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ

Черноусов А.Ф., Хоробрых Т.В., Карпова Р.В.

Москва, ММА им. И.М. Сеченова, кафедра факультетской хирургии

Представлены результаты лечения 20 больных циррозом печени. Цирроз класса А по Child-Pugh диагностирован у 6 пациентов, класс В – у 7 пациентов, класс С- у 7. Всем больным введен чрескожно криопреципитат в ткань печени под контролем УЗИ. Результаты лечения оценивали по данным УЗИ, клинико-лабораторным показателям, обьективному состоянию и морфологическому исследованию ткани печени, до и после введения криопреципитата в печень. Так же исследовали иммунный статус пациента до и после введения криопреципитата. Улучшение клинической картины после введения криопреципитата наблюдали у 95% больных, у 5% больных динамики клинической картины мы не отметили. Исследуя, лабораторные показатели, мы выявили улучшение показателей у 85% больных. У 15% пациентов лабораторные показатели оставались прежними. При оценке результатов УЗИ улучшение было отмечено у 65,4% больных, ухудшений не наблюдали. У 34,6% больных циррозом класса С данные УЗИ и УЗДГ портальной системы оставались без динамики. Морфологическое подтверждение регенерации выявили у 51,6% больных. У 7,6% больных динамики морфологической картины не отметили. У 40,8% пациентов с циррозом С данных за регенерацию печени не получили. Осложнений во время и после проведения малоинвазивной операции на печени под контролем УЗИ мы не наблюдали.

Введение криопреципитата в ткань печени под контролем УЗИ стимулирует регенерацию печени, снижает портальную гипертензию, нормализует цитолиз у больных с циррозом класса А и В по Child-Pugh. Криопреципитат обладает иммуномодулирующим действием, это особо важно при лечении больных с циррозом вирусной этиологии. У больных циррозом класса С криопреципитат улучшает объективное состояние, снижает резистентность асцита к консервативной терапии, улучшает синтетическую функцию печени. Данный вид малоинвазивного лечения цирроза печени имеет ряд преимуществ перед другими хирургическими методами лечения. Он не требует эндотрахеального наркоза, малотравматичен, безопасен так как выполняется под контролем УЗИ, минуя протоковые и сосудистые структуры печени. Данный метод лечения применим у больных с выраженной коагулопатией на фоне гиперспленизма.

ФУНКЦИЯ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ У БОЛЬНЫХ ХОБЛ С СОПУТСТВУЮЩЕЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ДО И ПОСЛЕ ПРИМИНЕНИЯ ТРИМЕТАЗИДИНА И НИЛИ

Черных Ю.Н., Цветикова Л.Н., Мясищева О.В.

Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия
Воронеж, ул. Студенческая 10, тел. +7 (962) 327-05-27, tsvn@front.ru

Хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) является одним из наиболее распространённых хронических заболеваний в мире и входит в число лидирующих причин смерти. При ХОБЛ часто определяются патологии сердечно-сосудистой системы.

Целью работы являлось исследование применения низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и триметазидина (предуктала МВ) в терапии ХОБЛ с сопутствующей ишемической болезни сердца (ИБС).

Метод. Работа выполнена на базе пульмонологического отделения городской клинической больницы №20 г. Воронеж. Были обследованы 90 больных (56 мужчин и 34 женщины), с ХОБЛ. Диагноз ХОБЛ и ИБС установлен согласно МКБ-10. Все пациенты обследованы в приступный период заболевания, о чём свидетельствовало наличие клинических и лабораторных признаков обострения. В комплекс общеклинических исследований входили: данные объективного осмотра и обследования больного; функциональное обследование внешнего дыхания.

Результаты. Анализ показателей функции внешнего дыхания (ФВД) у больных ХОБЛ с сопутствующей ИБС при применении традиционной фармакотерапии в сочетании с НИЛИ выявил достоверно положительную динамику значений по сравнению с триметазидином или традиционной терапией. Традиционной фармакотерапии в сочетании с НИЛИ и триметазидином, способствуют улучшению ФВД и бронхиальной проходимости у больных ХОБЛ с сопутствующей ИБС.

Проанализировав влияние разных видов терапии на клиническое течение ХОБЛ с сопутствующей ИБС можно сделать заключение, что более быстрая нормализация основных клинических, лабораторных и функциональных признаков отмечается в группе больных, которым на фоне применения МТ назначался препарат триметазидин и НИЛИ по предлагаемой методике.

МУЛЬТИПОТЕНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ТРОФОБЛАСНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА

Шаблий В.А.[1,2], Кучма М.Д.[1,2], Кирик В.М.[3], Онищенко А.Н.[2], Шаблий Ю.Н.[2], Лукаш Л.Л.[1], Лобынцева Г.С.[2]

1 – Институтмолекулярнойбиологии и генетики Национальной Академии Наук Украины, Украина, г. Киев, ул. Академика Заболотного 150;
2 – Институт клеточной терапии, Украина, г. Киев, пр. Космонавта комарова 3;
3 – ГУ «Институтгенетической и регенеративноймедицины НАМН», Украина, г. Киев, ул. Выжгородская 67;
+38 050 444 78 24, v_shabliy@ukr.net

Актуальность. Плацента является перспективным источником мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) и стволовых клеток трофобласта (ТСК) для использования в регенеративной медицине.

Материалы и методы. Плацентарные стволовые клетки получали методом классического культивирования клеток, иммунофенотип определяли с помощью проточной цитометрии и иммуноцитохимии, экспрессию генов анализировали с помощью ОТ-ПЦР.

Результаты. При культивировании ворсин хорионаплаценты новорожденных мужского полавырастали клоны адгезивных клеток, с высоким пролиферативным потенциалом, наличием во всех клетках ХУ хромосом, что свидетельствует об их плодовом происхождении. Клетки одновременно экспрессировали маркеры мезенхимы виментин (Vim) и трофобластапан-цитокератин, c-erbB2 (HER2), хорионический гонадотропин (CG), некоторые из этих клеток были положительными на цитокератином7 (CK7). При клонировании полученных клеток было показано существование колониеобразующих клеток с иммунофенотипом Vim+CG+HER2+CK7-CD90+(CK7--клетки) и Vim+CG+HER2+CK7+CD90+(CK7+-клетки). Установлена экспрессия мРНК генов EOMES и CDX-2 в CK7-- и CK7+-клетках, что дополнительно подтверждало их трофобластную природу, тогда как экспрессия мРНКPOU5F1 и NKX 2–5 генов свидетельствуют об их мезодермальном происхождении. FACS анализ показал, что в течение четырех пассажей стволовые клетки имеют поверхностный иммунофенотип, схожий с ММСК, так как несут маркеры CD90, CD73, CD105, HLA-ABC и отрицательные гемопоэтические маркеры CD34, CD45, CD133, CD14. ТСК способны дифференцироваться в адипогенном, хондрогенном и остеогенном направлениях.

Выводы. Таким образом, из ткани плаценты нами впервые выделены клетки, которые относятся к особой популяции ТСК ипо своим молекулярно-биологическими свойствами имеют признаки мезодермальныхпрогениторных клеток.

СОЧЕТАННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КП И ММСК КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД КОРРЕКЦИИ И ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Шагидулин М.Ю.[1,2], Онищенко Н.А.[1], Крашенинников М.Е.[1], Ильинский И.М.[1,2], Можейко Н.П.[1], Волкова Е.Н.[1], Аврамов П.В.[1], Люндуп А.В.[2], Перова Н.В.[1], Севастьянов В.И.[1], Готье С.В.[1,2]

1 – ФГБУ «ФНЦ трансплантологии и искусственных органов имени акад. В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, ул. Щукинская д.1, тел.+7 (499) 196-18-03, dr.shagidulin@mail.ru.
2 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

Актуальность. Дефицит донорских органов и возрастающее число пациентов, нуждающихся в трансплантации печени (П), обуславливают поиск новых эффективных методов лечения пораженной П.

Цель: разработать алгоритм лечения печеночной недостаточности (ПН) в зависимости от комбинации и доз используемых клеток при проведении регенеративной клеточной терапии.

Методы. Работа выполнена на 125 крысах-самцах породы Вистар (220–250 г.). У крыс моделировали хроническую ПН путем подкожных инъекций 60% CCl_4 в течение 6 недель. После завершения затравки все крысы были разделены на 5 групп (по 25 крыс в каждой группе). 25 крыс-самцов породы Август (150–180 г.) были использованы как доноры клеточного материала. Трансплантацию клеточного материала производили после окончания затравки: в 1 группе на 3 и 10 сутки путем в/в введения ММСК КМ (5×10^6 клеток). В 2–4 группах клеточный материал вводили на 7 сутки внутрипеченочно в матриксе «Сферо®ГЕЛЬ»: во 2 группе – ММСК КМ (5×10^6 клеток); в 3 группе – клетки печени (КП) ($2,5–4,0\times10^6$ клеток) и ММСК КМ ($0,5–0,8\times10^6$ клеток); в 4 группе – КП ($2,5–4,0\times10^6$ клеток) и ММСК КМ ($0,5–0,8\times10^6$ клеток) и применяли иммуносупрессию Програф. 5 группа была контролем. Динамику редукции цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ, ЩФ), морфологию П исследовали на протяжении 90 суток после трансплантации клеточного материала.

Результаты: АЛТ, АСТ, ЩФ в 1, 2 и 4 группах нормализовались к 30 суткам, в 3 группе к 18–20 суткам после трансплантации. В 5 группе эти показатели нормализовались к 90 суткам после окончания затравки. Морфологически на 14 сутки после трансплантации в 1 и 2 группах отмечали увеличение соединительной ткани (СТ) по сравнению с 5 группой. К 30 суткам в 1–4 группах отмечали достоверное снижение СТ по сравнению с 5 группой. Через 90 суток после трансплантации в 3 группе выявлены пролиферирующие аллогенные гепатоциты с высоким содержанием гликогена, пролиферирующий эпителий жёлчных протоков и вновь образованные сосуды.

Выводы. Клеточная терапия способствует ускорению процессов восстановительной регенерации П. Сочетанное применение КП и ММСК делает этот процесс более выраженным и пролонгированным.

СВЯЗЬ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ГЕМОДИНИМИКИ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

Шахнович П.Г.[1], Моргулис Б.А.[2], Свистов А.С.[1], Черкашин Д.В.[1], Онохин К.В.[2], Шуленин К.С.[1], Аланичев А.Е.[1], Хасанова Е.Н.[1]

1 – Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия.
2 – Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия.
Санкт-Петербург, Загородный пр. 47, +7 (950) 035-28-32, P_Shakhnovich@mail.ru

Целью настоящего исследования явилось изучение корреляционыых связей плазменного уровня белков теплового шока (БТШ) с гемодинамическими показателями и метаболическим статусом у больных инфарктом миокарда.

Метод. Проведено обследование 34 больных острым инфарктом миокарда, в возрасте от 54 до 78 лет. Дополнительно к указанным в национальных рекомендациях лабораторным и инструментальным обследованиям, у всех пациентов при поступлении методом иммуноферментного анализа определялся плазменный уровень белков теплового шока молекулярной массой 70 кДа. Корреляционный анализ изучаемых показателей выполнен программой SPSS Statistics. Среднее содержание белков теплового шока при поступлении составило 2,1±0,3 нг/мл. В результате изучения корреляционных связей между исходным уровнем белков теплового шока и изучаемыми показателями гемодинамики и метаболического статуса у больных острым инфарктом миокарда, были получены достоверные связи между БТШ и частотой сердечных сокращений (r=0,36), конечным систолическим размером левого желудочка (r=0,34), конечным диастолическим размером правого желудочка (r=0,47). А также обратные связи слабой силы с КФК-МВ (r=-0,32) и фракцией выброса ЛЖ (r=-0,41).

Таким образом, выявленные прямые корреляционные связи позволяют предположить цитопротективную роль белков теплового шока при остром инфаркте миокарда. Однако, обратные корреляционные связи могут свидетельствовать об истощении данного защитного механизма в зависимости от объема поражения миокарда и тяжести заболевания.

ПРИМЕНЕНИЕ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТОВ В КОМПЛЕКСЕ С АУТОЛОГИЧНЫМИ ФИБРОБЛАСТАМИ В МЕТОДЕ ВНУТРИКОСТНОГО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ КОНЕЧНОСТЕЙ

Шевцов М.А., Галибин О.В., Юдинцева Н.М., Блинова М.И., Пинаев Г.П., Питкин М.Р.

ФГБУН «Институт цитологии РАН», г. Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербург, 194064 Тихорецкий пр. 4, shevtsov-max@mail.ru
Тел.: +7 (921) 792-40-09

Актуальность. Метод прямого скелетного крепления (DSA) протеза к предварительно введённому в опил кости импланту из пористого титана зарекомендовал себя в качестве надежного и эффективного метода протезирования конечностей. Дальнейшее развитие направления связано с повышением биосовместимости импланта путём применения клеточных технологий.

Цель. Оценка возможности применения титанового импланта обработанного аутологичными фибробластами в методе внутрикостного протезирования конечностей.

Материалы и методы. Кроликам Новозеландской породы после ампутации в средней трети бедра выполнена двухэтапная имплантация титанового стержня предварительно обработанного аутологичными фибробластами. Первым этапом в просвет кости был внедрён интрамедуллярный компонент. Процессы ангио- и остеогенеза в просвете пор импланта оценивались при помощи метода трёх-фазной сцинтиграфии с последущим гистологическим исследованием препаратов. Спустя 6–8 недель от момента имплантации к первому компоненту был присоединен трансдермальный компонент. Взаимодействие мягких тканей культи с имплантом верифицировалось гистологическим исследованием.

Результаты. Двухэтапная операция имплантации титанового стержня в просвет бедренной хорошо переносилась животными и не приводила к развитию осложнений. При трёх-фазной сцинтиграфии установлено, что в динамике в области пористого имплантата предварительно обработанного фибробластами повышены процессы неоангио- и остеогенеза по сравнению с имплантатами без клеточной обработки. Полученные результаты при сцинтриграфии были подтверждены и при проведении гистологического исследования материала протеза. В области трансдермальной части протеза отмечалось образование плотного контакта металла с мягкими тканями и дермой.

Выводы. Прямая внутрикостная фиксация импланта является перспективным направлением протезирования конечностей. Предварительная обработка металла аутологичными фибробластами способствует наилучшей интеграции импланта с окружающими тканями.

КОНТРОЛЬ ТРИНСКРИПЦИОННОГО СТАТУСА ГЕНОВ Х-ХРОМОСОМЫ ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИНИЙ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И ИХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

Шевченко А.И.[1,2,3], **Захарова И.С.**[1,2,3], **Сметанина М.А.**[3], **Закиян С.М.**[1,2,3,4]

1 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10
2 – Федеральное государственное учреждение Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина Минздравсоцразвития России, 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, 15
3 – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8
*e-mail: zakian@bionet.nsc.ru, тел. +7 (383) 363-49-37

Феномен инактивации одной из двух Х-хромосом у женщин является важным фактором, который необходимо учитывать при планировании клеточной терапии с применением эмбриональных и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ПСК). Применение ПСК в терапии без учета статуса Х-хромосом может спровоцировать у пациентов проявление Х-сцепленных заболеваний, а наличие двух активных Х-хромосом в соматических тканях может привести к нарушениям дозы генов, которые проявятся как генетические синдромы. В данной работе показано, что ПСК человека характеризуются различным эпигенетическим статусом Х-хромосом, который демонстрирует высокую динамичность и нестабильность. Обнаружено отсутствие четкой связи между характеристиками хроматина и транскрипционной активностью генов Х-хромосомы. В частности, показано, что, несмотря на активный хроматин, транскрипция генов на одной из двух Х-хромосом может быть инактивирована. Предложены подходы для детекции транскрипционной активности генов Х-хромосом в линиях ИПСК и их дифференцированных производных методом РНК-иммунофлуоресцентной гибридизации in situ и олигонуклеотидного циточипа.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ КОРРЕГИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ НА ТЕЧЕНИЕ СИАЛАДЕНИТА У КРЫС

Шепитько В.И., Ерошенко Г.А., Якушко Е.С., Вильховая Е.В., Шепитько И.В.

ВГУЗ Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава, Украина, г. Полтава, ул. Шевченко, 23, тел. +38 (05322) 74215, alyasv@yahoo.com

Криоконсервированная плацента (ККП) является источником биологически активных веществ, потенциал которых активно используется в медицинской практике. На сегодняшний день большое внимание уделяется разработке новых методов противовоспалительной терапии, основанных на действии активных веществ, имеющихся в фетоплацентарных тканях.

Целью работы было изучение влияния трансплантации криоконсервированной плаценты на состояние поднижнечелюстных и небных слюнных желез при экспериментальном воспалении.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование было проведено на 90 половозрелых крысах линии «Вистар». I группа животных – интактная (10 крыс), II группе (40 крыс) было смоделировано асептическое воспаление, III группе (40 крыс) – на фоне вызванного асептического воспаления однократно подкожно проводили трансплантацию ККП. Эвтаназия животных проводилась на 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21 и 30-е сутки эксперимента путем передозировки наркоза. Кусочки поднижнечелюстных и небных слюнных желез крыс заливали в ЭПОН-812 по общепринятой методике. Полутонкие срезы окрашивали полихромным красителем и изучали в световом микроскопе.

Результаты. Установлено, что трансплантация ККП на фоне асептического воспаления привела к более раннему восстановлению диаметра сосудов микроциркуляторного русла в небных железах (на 5–7 сутки), возобновлению структуры концевых отделов и выводных протоков (на 10-е сутки). В поднижнечелюстных слюнных железах трофика органа улучшилась на 10-е сутки, структура концевых отделов и выводных протоков возобновилась к 10–14 суткам.

Таким образом, трансплантация ККП при остром экспериментальном асептическом воспалении на 3–5 дней сокращает альтеративные и экссудативные проявления в структурных компонентах поднижнечелюстных и небных слюнных желез и способствует возобновлению выведения секреторных продуктов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ И БИОДЕГРАДАЦИИ ПЛАСТИНЧАТЫХ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННЫХ МАТРИЦ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ

Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Винаров А.З., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Люндуп А.В., Данилевский М.И., Бутнару Д.В., Елистратов П.А., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Тел. +7 (916) 777-32-31,
butnaru_dv@mail.ru

Актуальность. Возможность применения децеллюляризированных тканевых матриц для решения задач регенеративной медицины, в значительной мере, определяется биосовместимостью и скоростью биодеградации данного типа материалов. **Цель.** В эксперименте на животных оценить биосовместимость и биодеградацию пластинчатых децеллюляризированных матриц (ПДМ), полученных на основе обработанной ферментами стенки бедренной артерии человека (полнослойной и с частично удаленными оболочками).

Материалы и методы. ПДМ размером 0,8×0,8 см имплантировали подкожно белым лабораторным крысам. Использовались 3 типа ПДМ: 1) на основе полнослойной стенки артерии; 2) с удаленной intima и внутренней третью media; 3) с удаленной адвентициальной оболочкой. На 7,30,60 и 90 сутки после имплантации проводили гистологическое исследование области имплантации и прилежащих тканей.

Результаты. Имплантаты представляли собой разрыхленный коллагеновый каркас стенки артерии; не содержали клеток и эластических элементов, за исключением частично сохранявшихся внутренней и наружной эластических мембран артерии. На 7 сутки после имплантации в ПДМ усиливалось разрыхление коллагеновых пучков и выявлялись мелкие очаги воспалительной инфильтрации. На 30 сутки отмечалось формирование соединительнотканных капсул вокруг ПДМ, появлялись признаки частичной биодеградации имплантатов. К 60 суткам происходила постепенная деструкция ПДМ. На 90 сутки почти во всех случаях наблюдалась полная резорбция имплантатов.

Выводы. ПДМ, полученные на основе стенки артерии, полностью лишены клеток, характеризуются хорошей биосовместимостью и медленной биодеградацией. Удаление части сосудистых оболочек практически не влияет на эти свойства. Изученные ПДМ могут быть использованы как материал для хирургической пластики.

ФОРМИРОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ГРУПП ПАЦИЕНТОВ С SMN ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

Шокарев Р.А., Кривенцова Н.В., Горская Н.Е., Линде В.А.

ФГБУ РНИИАП МИНЗРАВ РФ, г. Ростов-на-Дону, Россия

Проксимальные спинальные амиотрофии – одни из самых частых наследственных заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования, с частотой встречаемости 1 на 6000–10000 новорожденных. Клинические проявления заключаются в атрофии проксимальных мышц конечностей, приводящей к тяжелой инвалидизации пациента, и в большинстве случаев высокой летальностью от сопутствующих осложнений. Бурное развитие регенеративной медицины реальная возможность дать шанс на улучшения качества жизни данных пациентов. Испытания препаратов регененеративной медицины представляют большой путь от теории до клинических испытаний. И возникает вопрос о необходимости первоочередного испытания на пациентах с тяжелыми летальными заболеваниями. ДНК выделяли из периферической крови детей с подозрением на спинальную амиотрофию и ворсин хориона, полученных в результате пренатальной диагностики. Делеции 7,8 экзонов определяли методом ПЦР-диагностики с последующей рестрикцией.

За 2012 год и первое полугодие 2013 года нами выявлено 15 пациентов со спинальной амиотрофией, причем 3 из них диагностированы у плодов при помощи биопсии ворсин хориона, 7 детей в возрасте от нескольких суток до 10 лет (спинальная амиоторофия 1,2 типов), 3 пациентов в возрасте от 20 до 30 лет (болезнь Кюгельберга-Велландер). Всем семьям были розданы анкеты с теоретическим вопросом: согласны ли использовать методы экспериментальной медицины и провести клиническое испытание препаратом, не исключающим ухудшения состояния, дополнительных осложнений. 10 семей (66%) единодушно согласились, мотивируя свое решение хоть чем-то облегчить жизнь пациентам. 3 семей отказались, поскольку для них неприемлемо само рождение больных детей, и они будут пользоваться инвазивными методами диагностики для планирования будущих детей, 2 семьи – выразили осторожность, не отвечая да или нет, но больше в положительную сторону, при аргументированных данных исследований на животных или людях, в данных семьях пациенты страдают медленно прогрессирующей болезнью Кюгельберга-Велландер.

Таким образом, в отношении клинических испытаний препаратов стволовых клеток, восстанавливающих нервную ткань, образовалась потенциальная группа пациентов нуждающихся в клиническом испытании данных препаратов. Мы создаем базы данных семей пациентов с последующей медико-генетической, психологической и реабилитационной помощью.

БИОАКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА В СЕРДЦЕ И НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС ПРИ ОДНОКРАТНОМ КРАТКОВРЕМЕННОМ ДЕЙСТВИИ МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ДАКТИНОМИЦИНА

Шорников А.И., Меркулова Л.М., Гурьева К.С.

ФГБОУ ВПО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова», Чебоксары, Россия. Чебоксары, Московский пр-т, д. 15, Тел.: +7 (8352) 58-31-93, office@chuvsu.ru

Поиск методов стимуляции регенерационно-адаптационных реакций до сих пор остается актуальным. Особенно это касается онкологии, где восстановительные процессы происходят на фоне применения цитостатиков.

Цель исследования: изучение влияния постоянного магнитного поля (ПМП) на содержание серотонина (С), катехоламинов (КА), гистамина (Г) в сердце и некоторые показатели крови интактных крыс, а также на фоне введения дактиномицина (Д).

Материалы и методы. Количество животных в группах, характеристика действующих факторов и сроки взятия материала указаны в таблице. Биогенные амины выявлялись люминесцентно-гистохимическими методами Фалька-Хилларпа и Кросса с соавт.

Таблица №1. Содержание биоактивных веществ в миокарде и некоторые биохимические показатели крови у экспериментальных крыс

Определяемое вещество	Контроль, ин-траперитонеально вводился физраствор (n=6)	Через 8 час после введения дактиномицина интраперитонеально в дозе 1мг/кг (n=3)	Время после воздействия ПМП (интенсивностью 16 Мт в течении 15 мин)		
			Сразу (n=3/3)	1 час (n=3/3)	3 часа (n=3/3)
Серотонин в кардиомиоцитах (у.е.)	4,5±0,29		5,4±0,15*	5,25±0,11*	5,1±0,18*
		5,0±0,26	2,8±0,39*	2,75±0,27*	3,45±0,8*
Катехоламины в кардиомиоцитах (у.е.)	0,5±0,09		0,47±0,03	0,63±0,08*	0,51±0,03
		7,0±0,70	0,36±0,08*	0,4±0,09*	0,46±0,08
Гистамин в кардиомиоцитах (у.е.)	7,30±0,17		6,4±0,13*	6,8±0,11	6,4±0,31*
		6,20±0,13*	4,9±0,18*	10,8±0,25*	8,2±0,29*

Определяемое вещество	Контроль, ин-траперито-неально вводился физраствор (n=6)	Через 8 час после введения дактино-мицина интрапе-ритонеально в дозе 1мг/кг (n=3)	Время после воздействия ПМП (интенсивностью 16 Мт в течении 15 мин)		
			Сразу (n=3/3)	1 час (n=3/3)	3 часа (n=3/3)
Общий белок крови (г/л)	76,5±0,35		86,0±0,55	76,0±0,70	73,6±0,4
		75,5±0,56	75,0±0,08	66,0±0,61*	65,5±0,8*
Холинэстераза крови (ммоль/ч.л.)	70,0±0,62		84,0±0,43*	61,0±0,38	62±0,29
		56,0±0,51*	75,5±0,56	53,6±0,42*	55,9±0,5*
Аланин-амино-трансфераза крови (ммоль/ч.л.)	44,2±0,93		44,2±1,6	62,4±0,98*	64,6±2,0*
		36,7±1,22*	51,0±0,89	34,0±1,66*	29,5±3,0*

Примечание: нижняя строчка – показатели на фоне введения дактиномицина.
*– изменения достоверны.

Результаты. ПМП приводит к повышению уровня тканевого С, снижению уровня Г, волнообразному изменению содержания КА.Д повышает интенсивность свечения КА в кардиомиоцитах, снижаются уровни холинэстеразы, общего белка, аланин-аминотрансферазы в периферической крови. На фоне действия Д при воздействии ПМП снижается уровень всех изученных биогенных аминов с последующим повышением уровня Г. Для окончательного выяснения положительных и отрицательных сторон сочетанного воздействия на организм ПМП и цитостатиков необходимы дальнейшие исследования.

ИЗМЕНЕНИЯ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОК ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ СЛИЗИСТОЙ ВЛАГАЛИЩА ДЛЯ ЕЕ РЕПАРАЦИИ ПРИ ПОМОЩИ ЛАЗЕРНОЙ СИСТЕМЫ SMARTXIDE2 V2LR

Шульчина И.В., Ищенко А.И., Жуманова Е.Н., Ищенко А.А., Горбенко О.Ю.

ФГБУ «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава РФ, Москва, Россия
Москва, Иваньковское шоссе д.3, тел.: +7 (903) 246-26-91, shulchinairina@rambler.ru

С проблемой атрофических изменений нижнего урогенитального тракта сталкиваются 52–80% женщин в период пери- и постменопаузы. Применение принципов регенеративной медицины для слизистой влагалища дает возможность получить новый специализированный метод репарации слизистой влагалища в период менопаузы при помощи фракционной лазерной системы CO-2 импульсного действия (лазерная система SmartXide2 V2LR).

Целью исследования стала оценка изменения качества жизни пациенток после коррекции слизистой влагалища с помощью лазерной системы SmartXide2 V2LR.

Методы. В группу исследования были включены 27 больных, обратившихся с симптомами урогенитальных расстройств в пери- и постменопаузальном периоде. Всем пациенткам после комплексного гинекологического обследования однократно проводилась обработка слизистой влагалища с помощью лазерной системы SmartXide2 V2LR. Результаты лечения оценивали через 1,5 месяца путем анкетирования пациенток с использованием опросников PFDI-20, PFIQ-7, PISC-12, SF-36. Средний возраст женщин, участвующих в исследовании составил 54±5,7 лет, 20 (74,1%) из них находились в постменопаузальном периоде. Жалобы на сухость и зуд во влагалище предъявляли 15 (55,6%) женщин, диспареунию – 8 (29,6%), дизурические расстройства – 13 (48,2%). Сочетание с пролапсом гениталий отмечалось у 22 (81,5%) пациенток. Данные сравнительного анализа качества жизни по специализированным опросникам PFDI-20, PFIQ-7 показали улучшение после терапии качества жизни у 24 (88,9%) пациенток, причем у 12 (44,4%) – более чем на 50%. Качество сексуальной сферы (по данным опросника PISC-12) улучшилась у 26 (96,3%) пациенток. Общее качество жизни по данным общего опросника SF-36 улучшилось у 18 (66,7%) пациенток. Таким образом, применение коррекции слизистой влагалища для ее регенерации с помощью лазерной системы SmartXide2 V2LR при урогенитальных расстройствах пери- и постменопаузального периода является весьма эффективным методом лечения, положительно влияющим на симптоматику данного заболевания и качество жизни пациенток.

ГЕННО-КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ МОДЕЛИРУЕМОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК (ММСК), ТРАНСФЕЦИРОВАННЫХ НЕВИРУСНЫМ ВЕКТОРОМ ГЕНА VEGF

Шуман Е.А., Коротков А.В., Макеев О.Г.

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, Екатеринбург, Россия.
ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург, Россия
Екатеринбург, ул. Ключевская, 17, тел. +7 (343) 242-15-46, larim@mail.ru

Генно-клеточная терапия ишемии миокарда находится в центре внимания многих исследователей. Было показано, что применение генетически модифицированных ММСК, сверхэкспрессирующих гены факторов ангиогенеза, в частности VEGF, сопровождается не только новообразованием сосудов, но и улучшением функций сердца в целом. Однако в данных исследованиях использовались векторы на основе вирусов, интегрирующихся в геном, что потенциально может привести к мало предсказуемым последствиям, существенно ограничивающим их применение в клинической практике. Между тем, сведений об оценке эффективности применения ММСК, предварительно трасфецированных векторами, обеспечивающими эпигеномную экспрессию генов ангиогенеза, в доступной литературе найти не удалось.

Это позволило сформулировать цель настоящей работы: оценить эффективность применения ММСК, трансфецированных невирусными векторами гена VEGF.

Методы. Эксперименты проводили на взрослых кроликах-самцах породы Шиншилла весом 2,8–3,2 кг. Моделирование окклюзии передней нисходящей артерии сердца проводили путем ее неполной (80%) перевязки на мадрене, после чего в область ишемии равномерно по площади вводили 106 ММСК, предварительно трансфецированных pWZLBlast-VEGF (опыт) или EGFP (контроль).

Результаты. В опытной группе животных к исходу 30-х суток было выявлено большее количество функционирующих капилляров (на 224,2%, $p<0,05$), их плотности на единицу объема (на 350,1% $p<0,01$) площади их поверхности (на 245,4%, $p<0,01$) и pO2 (на 282% $p<0,01$) и наличие анастамозов с сосудистым руслом неповрежденных участков. Полученные результаты подтверждают перспективность применения предварительно генетически модифицированных ММСК для восстановления кровоснабжения миокарда.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТОВ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ОТОРИНОЛАРИНГОЛОГИИ

Щербаков Д.А.

ФГБУ «ВЦГПХ» Минздрава России, Уфа, Россия
Уфа, Р. Зорге 67/1, тел. +7 (919) 611-08-66, dmst@bk.ru

Актуальность. Требуют дальнейшей разработки технологии восстановительных операций на ЛОР-органах с учетом возможностей регенеративной медицины.

Цель: разработать принципы применения аллотрансплантатов в оториноларингологии.

Материалы и методы. Доклинические исследования проводились на кроликах Шиншилла (n=48) и крысах Вистар (n=64). Моделировались костные, хрящевые, а также комбинированные дефекты, соответствующие запросам оториноларингологии, с последующей пластикой различными аллотрансплантатами. В клиникемы наблюдали 164 пациентов после реконструктивных операций на ЛОР-органах с применением аллотрансплантатов (Щербаков Д.А., 2012; 2013): реконструкция стенок околоносовых пазух (n=88), закрытие перфораций перегородки носа (n=17), тимпанопластика (n=27), миринготомия (n=23), реконструкция передней стенки гортани (n=9).

Результаты. В доклинических исследованиях на лабораторных животных, а также клинически получены новые данные о возможности восполнения костных дефектов хрящевыми аллотрансплантатами, производство которых проще и дешевле деминерализованных костных аллотрансплантатов. При этом в случаях с объемными костными дефектами (после мастоидопластики, при операции синус-лифтинга) целесообразно применять измельченную форму хрящевого аллотрансплантата. При закрытии плоских костных дефектов (стенки околоносовых пазух) оправдано применение хрящевого аллотрансплантата в виде пластины. Дефекты хрящевой ткани (перфорации перегородки носа, эстетическая ринопластика, дефекты стенок гортани) мы рекомендуем закрывать хрящевым аллотрансплантатом в виде пластин, соответствующих размеров. Большинство проведенных операций не требовали длительного пребывания пациентов в стационаре. В среднем оборот койки увеличился на 17%, при уменьшении количества койко-дней в среднем на 23%, что позволяет говорить об экономической эффективности предложенных технологий.

Выводы. Реконструктивная хирургия ЛОР-органов с применением аллотрансплантатов является перспективным направлением современной медицины и позволяет улучшить качество жизни пациентов даже при значительном дефиците тканей уха горла и носа.

ДЛИТЕЛЬНОСТЬ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ

Щуров В.А., Щуров И.В.

ФГБУ «РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Курган. Россия. 640014, ул. М. Ульяновой, 6. Тел +7 (3522) 45-42-86. shchurovland@mail.ru

С проблемой увеличения сроков фиксации костных отломков при стандартизированной методике лечения по Илизарову больных с переломами костей голени мы впервые столкнулись в 1984 году, но понять причину явления не удалось.

В настоящее время, ретроспективно проанализировав динамику лечения 771 больного мужского пола различных возрастных групп за последние 40 лет, мы обнаружили, что уже в 1973 году началось увеличение сроков лечения у больных пенсионного возраста, в 1980 году у больных 40–60 лет, в 1981 году у больных подросткового возраста, в 1985 году у больных 20–30 лет и позднее всего (в 1986 году) в группе больных 30–40 лет. Такая очередность определяется динамикой экономического статуса у людей разных возрастных групп. За период с 1980 по 2003 год средние сроки фиксации при закрытых оскольчатых переломах костей голени возросли с 50 до 96 дней, при винтообразных – с 45 до 65 дней. В том числе из-за увеличения сроков фиксации в последние 10 лет врачи вынуждены переводить больных на амбулаторный режим лечения, при котором нарушен ежедневный контроль лечения, и сроки фиксации увеличиваются ещё на 30 дней. Анализ зависимости сроков лечения от социально-экономического статуса больных подтвердил гипотезу, что ухудшение репаративного остеогенез определяется снижением качества питания пациентов. Сокращение сроков фиксации возможно не только при ликвидации протеиново-калорической недостаточности питания, но и при оптимизации метода лечения, например, в условиях применения аппарата Мацукатова. При точной репозиции концов отломков и увеличении жесткости их фиксации (М-микроподвижность в мкм/10кг) сроки фиксации (Т, дни) уменьшаются: $T=51{,}1 + 0{,}36*M$ ($R2=0.859$). С уменьшением микроподвижности костных отломков при аксиальной функциональной нагрузке конечности силой 10 кгс до 120 мкм происходит нормализация напряжения кислорода в тканях голени и ускорение кровотока в сосудах зоны регенерата до 5 см/с. По мере сращений костных отломков скорость кровотока в сосудах голени нормализуется. Таким образом, для оптимизации репаративной регенерации необходимо полноценной питание человека, точная репозиция и надёжная фиксации концов костных отломков.

УРОВЕНЬ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СИЛЫ МЫШЦ ПОСЛЕ ПЕРЕЛОМОВ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ

Щуров В.А., Хубаев Н.Д., Скрипников А.А., Митина Ю.Л.

ФГУ «РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова». Город Курган, 640001, ул. М. Ульяновой 6
shchurovland@mail.ru

Ранее нами было установлено, что в период естественного продольного роста тела увеличение длины голени на 1 см приводит к увеличению силы её мышц на 2,4%, а при посттравматической компенсаторной гипертрофии, при ускорении роста на ту же величину – к приросту силы на 5,5%. Чем меньше сила травмирующего воздействия, тем больше вероятность полного восстановление сократительной способности мышц. При снижении силы поврежденной голени более, чем на 50% условно исходного уровня обнаружено компенсаторное увеличения силы мышц интактной конечности.

Целью работы было выявление степени восстановления сократительной способности мышц голени у 59 больных трудоспособного возраста после закрытых переломов лодыжки, пролеченных по методу Илизарова.

Материалы и методы. Исследование выполнено с использованием разработанного нами динамометрического стенда, позволяющего менять исходную установку стопы в голеностопном суставе от 115^0 до 75^0. С помощью метода магнитной резонансной томографии исследована площадь поперечного сечения мышц.

Результаты. Через 5 лет после травмы обнаружено, что между моментом силы мышц и площадью их сечения существует логарифмическая зависимость: $F = 47{,}08\ln(S) - 33{,}7$; ($R^2$=0,866). Между величинами момента силы мышц голени и амплитудой М-ответа выявлена прямая корреляционная взаимосвязь: Ам=0,177*F-2,9; (r=0,806). В тоже время, показатели М-ответов мышц поврежденной конечности составили от 52% до 124% от уровня показателей интактной конечности. Была проанализирована динамика изменения максимального момента силы мышц голени при изменении их длины, обусловленном изменениями установки стопы в голеностопном суставе. При этом оказалось, что усредненные значения силы мышц задней группы мышц травмированной голени в отдаленные сроки после лечения были больше, чем показатели интактной при любой исходной длине мышц. Величина силы мышц передней группы мышц поврежденной голени достигала уровня показателя интактной лишь в узком диапазоне продольных размеров мышц, соответствующем привычной установке стопы под углом 100^0.

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК ЖТ В ПРИСУТСТВИИ ИБУПРОФЕНА

Эшмотова Г.К.[2], Бухарова Т.Б.[1], Антонов Е.Н.[4], Васильев А.В.[1,2], Попов В.К.[4], Вихрова Е.Б.[1], Минаева С.А.[4], Капанадзе Г.Д.[5], Ревякин А.О., Гольдштейн Д.В.[1], Волков А.В.[2,3]

1 – ГБУ «МГНЦ» РАМН;
2 – ФГБУ «НИИМЧ» РАМН;
3 – ФГБУ «ЦНИИС и ЧЛХ» Минздрава РФ;
4 – ФГБУН ИПЛИТ РАН;
5 – ФГБУН НЦБМТ ФМБА России

Выбор источника получения клеточных культур обусловлен клинической задачей и предполагает использование как аутологичных, так и донорских клеток. Преимуществами аллогенных трансплантаций являются отсутствие необходимости длительного процессинга культур, практически неограниченный объем материала, отсутствие риска потери индивидуального трансплантата. Существенным ограничением использования аллогенного клеточного материала является низкая иммунная совместимость донорского трансплантата и организма реципиента. Для снижения иммунного ответа при аллогенной трансплантации в настоящей работе был использован нестероидный противовоспалительный препарат ибупрофен.

Цель работы. Исследование регенерации костной ткани при трансплантации тканеинженерной конструкции на основе аллогенных МСК жировой ткани, преддифференцированных в остеогенном направлении и матриц носителей из полилактогликолида, инкапсулированных ибупрофеном на модели костного дефекта у крыс.

Материалы и методы. 1.Получение культуры МСК: у крыс забирали фрагмент жировой ткани и дезагрегировали. Клетки культивировали в ростовой среде ДМЕМ/F12 (ПанЭко) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (РАА), 2 mM L-глутамина (ПанЭко), 100 мг/л амикацина (Синтез). 2. Получение матриц носителей с ибупрофеном: инкапсуляция в полимер НПВС по технологии сверхкритической CO2. 3. Для получения ТИК суспензию МСК наносили на матрицу и добавляли бычий тромбин, растворенный в 10% растворе хлорида кальция. ТИК транспалнтировали крысам линии Balb/C в дефект большеберцовой кости.

Результаты. На 30 сут. после трансплантации костная рана преимущественно заполнена организующимся молодым костным матриксом, расположенным среди гранул материала, завершены процессы регенерации с компактизацией костного матрикса кортикального слоя вокруг матрицы носителя, реорганизацией вторичной костной мозоли, начальными признаками восстановления проходимости костно-мозгового канала. При микроскопическом исследовании лимфоцитарная инфильтрация в зоне трансплантации конструкции с ибупрофеном отсутствует полностью в отличии от контроля.

Выводы. ТИК с включением в матрицу носителя противовоспалительного агента – НПВС ибупрофена ускоряет процессы формирования первичной костной мозоли, снижает воспалительную реакцию в регенерате и снижает сроки репарации костной раны.

Работа выполнена при финансовой поддержке МинОбрНауки РФ,
соглашение №8309 от 24.08.2012 г

ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА БЕЛКОВ ВКМ И АКТИВНОСТИ ММП У ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ РАЗНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Юдинцева Н.М., Воронкина И.В., Смагина Л.В., Пинаев Г.П.

Институт цитологии РАН; Санкт-Петербург, Россия
СПб, Тихорецкий пр. д.4; +7 (812) 297-39-83, yudintceva@mail.ru

Заживление обширных и глубоких повреждений дермы заканчивается образованием рубца, который нарушает структуру и функции ткани. Исключение составляет заживление повреждений эмбриональной ткани, при котором не образуются рубцы (Dang et al., 2003; Matthew et al., 2003). Причина образования рубцов до настоящего времени не выяснена. Так как основными клетками, участвующими в формировании грануляционной ткани и рубца являются фибробласты (Фб), то целью данного исследования было выявить особенности синтеза белков внеклеточного матрикса (ВКМ) и матриксных металлопротеиназ (ММП) дермальными фибробластами разного происхождения в условиях двухмерного и трехмерного культивирования (в коллагеновом и фибриновом гелях).

Материалы и методы. Фб выделяли методом миграции из фрагментов нормальной и рубцовой кожи взрослых доноров, а также из кожи эмбриона позднего срока развития. Трехмерное культивирование клеток осуществляли путем их введения в формируемые коллагеновый или фибриновый гели. Был выполнен электрофоретический анализ белков ВКМ, синтезируемых Фб в разных условиях и на различных сроках культивирования, с последующим иммуноблотингом. Активность ММП у Фб определяли методом зимографии.

Результаты. Фб разного происхождения отличаются друг от друга по количеству синтезируемых белков ВКМ, соотношению между ними и молекулярной массе их фрагментов. Степень этих различий зависит от условий культивирования. Выявлены различия в степени активности ММП у Фб различного происхождения, которые, возможно, могут являться причиной различного состава и размеров фрагментов белков ВКМ, синтезируемых Фб. На основании выявленных особенностей в синтезе белков ВКМ и активности ММП у Фб разного происхождения можно предполагать, что они могут формировать грануляционную ткань, отличающуюся по количеству, синтезируемых клетками белков. Таким образом, происхождение клеток, участвующих в процессе формирования грануляционной ткани может играть определяющую роль в дальнейшей организации соединительной ткани.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЛУЧЕВОМ ПОВРЕЖДЕНИИ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ОРГАНОВ

Южаков В.В., Коноплянников А.Г., Яковлева Н.Д., Севанькаева Л.Е., Ингель И.Э.

ФГБУ «МРНЦ» Минздрава России, Обнинск, Россия
Обнинск, ул. Королева, 4, тел. +7 (48439) 9-72-74,
yuzhakov@mrrc.obninsk.ru

Одним из перспективных направлений разработки новых эффективных методов лечения лучевых повреждений является клеточная терапия, основанная на трансплантации культивируемых in vitro мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Цель настоящей работы – изучение влияния системно трансплантируемых аллогенных МСК на выживаемость крыс и функциональную морфологию их кишечника и лимфоидных органов после γ-облучения.

Материалы и методы. Исследования выполнены на крысах-самцах Вистар массой 140–160 г., которых подвергали общему однократному воздействию γ-квантов 60Co на установке «Луч» в дозах 7 и 9 Гр. Животным опытных групп через 1 сутки после облучения однократно внутривенно вводили 106 МСК, полученных из костного мозга половозрелых особей той же популяции. Изучали гистологические препараты двенадцатиперстной кишки, вилочковой железы и селезенки крыс, выведенных из опыта через 5,7, 10 и 14 суток после воздействия ионизирующего излучения. Для мечения реплицирующихся клеток крысам внутрибрюшинно вводили бромдезоксиуридин (BrdU) из расчета 50 мг/кг. Методы исследования включали иммуноокрашивание на PCNA и BrdU. Результаты показали, что системная трансплантация МСК достоверно снижала смертность животных, облученных в дозе 7 Гр, близкой к полулетальной (LD50/30). При этом уже в ранние сроки после облучения усиливалась пролиферативная активность клеток кишечника, активировался экстрамедуллярный гемопоэз в селезенке и лимфопоэз в тимусе. Внутривенное введение МСК не влияло на выживаемость крыс, облученных в дозе 9 Гр (LD95/30) и не оказывало существенного влияния на морфофункциональные показатели восстановительных процессов в изученных органах.

Сформулирована концепция лечебного потенциала МСК и его ограничения при лучевом поражении радиочувствительных органов. Есть основание полагать, что терапевтическая эффективность МСК обусловлена их способностью мигрировать в зоны радиационного повреждения, стимулировать ангиогенез и пролиферацию выживших после облучения эндогенных стволовых/прогениторных клеток.

ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ В МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АДЪЮВАНТНОГО АРТРИТА

Ямпольская Е.Е., Бондарович Н.А., Гольцев А.Н.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков, Украина
Харьков, ул. Переяславская, 23, тел. (057) 373-57-89, yampi@ukr.net

В общем спектре препаратов клеточной и тканевой терапии особое место занимает фетальная печень. Ее уникальный терапевтический потенциал продемонстрирован в самых различных ситуациях, в том числе и при лечении ревматоидного артрита (РА). Поскольку индукцию апоптоза в иммунокомпетентных клетках рассматривают как один из подходов купирования нарушений в иммунной системе, новой стратегий лечения РА может быть коррекция апоптотических процессов в клетках моноцитарно-фагоцитарной системы (МФС) с помощью КФП.

Целью данного исследования было: провести оценку развития апоптотических процессов в клетках МФС (перитонеальных макрофагах) животных с адъювантным артритом (АА) до и после их лечения криоконсервированными КФП (кКФП).

Материалы и методы. Исследования проводили на экспериментальной модели РА человека – АА, индуцированном у мышей субплантарным введением полного адъюванта Фрейнда. КФП вводили внутривенно в дозе $5x10^6$ кл/на мышь на 7-е или 14-е сутки развития АА. Криоконсервирование КФП осуществляли под защитой 5% ДМСО по 4-х этапной программе. В качестве позитивного контроля использовали лечение животных дексаметозоном. Анализ экспрессии белков каскада CD95 в лизатах клеток МФС проводили с помощью Вестрн-блоттинга.

Результаты. Максимально выраженный проапоптотический эффект зафиксирован при введении кКФП на 7 сутки АА, что подтверждено наиболее высокими активностями каспаз -3 и -8 в клетках МФС у реципиентов с АА. Способность криоконсервирования модифицировать структурно-функциональный статус биообъекта, в том числе КФП, может использоваться для оптимизации клеточной и тканевой терапии.

СОДЕРЖАНИЕ

3 BONE REPLACEMENT MATERIAL BASED ON LOW TOXIC ALTERNATIVES TO (METH)ACRYLATES
Husár B., Samusjew A., Mautner A., Heller C., Varga F., Koch T., MacFelda K., Russmüller G., Stampfl J., Liska R.

4 БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ ФОН ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ И ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ЕГО ДИНАМИКУ ПРИ МЕСТНОЙ ТЕРАПИИ
Абдувосидов Х.А., Матвеев Д.В., Семенов С.В., Снигоренко А.С., Ломакин А.А.

5 ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЛАЗМЫ КРОВИ И РАНЕВОГО ЭКССУДАТА В ДИНАМИКЕ ЗАЖИВЛЕНИЯ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ
Абдувосидов Х.А., Матвеев Д.В., Вавилова Т.П., Островская И.Г., Ломакин А.А.

6 СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ
Абдулхакимов Н.А.

7 МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КАК «КЛЮЧЕВОЙ» ЭЛЕМЕНТ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ИНДУЦИРОВАННЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ПРИМАТОВ
Агрба В.З., Порханов В.А., Лапин Б.А., Коноплянников А.Г., Карал-оглы Д.Д., Орлов С.В.

8 ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БАВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В СПОРТЕ НАИВЫСШИХ ДОСТИЖЕНИЙ
Агрба В.З., Аравиашвили Д.Э., Гварамия И.А., Игнатова И.Е., Карал-оглы Д.Д., Лубяко А.А., Петрова Е.С., Русия А.Г., Сергеева Н.В., Чугуев Ю.П.

9 О ПРИМЕНЕНИИ РЕКОМБИНАНТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО КОСТНОГО БЕЛКА BMP-2 В ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛАХ
Акатов В.С., Чеканов А.В., Фадеева И.С., Вежнина Н.О., Соловьева М.Е., Просвирин А.А., Склянчук Е.Д., Гурьев В.В.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

10 КОМПОЗИЦИОННЫЙ КОСТНО-ПЛАСТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ «ДЕПРОТЕКС» В ОРТОПЕДИИ (ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ)
Александров Т.И., Кирилова И.А., Чорний С.И., Подорожная В.Т.

11 МЕХАНИЗМЫ МИГРАЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ИЗ КРОВЕНОСНОГО РУСЛА В УЧАСТКИ ПОВРЕЖДЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ВОСПАЛЕНИЯ
Александрова С.А., Старикова Э.А., Александрова А.В., Пинаев Г.П.

12 МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АУТОПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАН
Алексеева Н.Т.

13 СТВОЛОВЫЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ CD117^{+} – ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР ПОСТИНСУЛЬТНОГО АНГИОГЕНЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С ЛАКУНАРНЫМИ ИНФАРКТАМИ МОЗГА
Анацкая Л.Н., Гончарова Н.В.

14 ТЕХНОЛОГИЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ТРЕХМЕРНОГО МАТРИКСА ДЕРМЫ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ
Андреев Ю.В., Боровкова Н.В., Миронов А.С., Пономарев И.Н., Шугай С.В.

15 ИММУНОСУПРЕССИВНЫЕ СВОЙСТВА И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВАЦИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ТКАНЕВОЙ РЕПАРАЦИИ
Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б.

16 ОСОБЕННОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ
Аникина Т.А., Рубина К.А., Сысоева В.Ю.

17 РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТРОМБОЦИТОВ В РЕАКЦИИ НА ХИРУРГИЧЕСКОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ
Антропова И.П., Юшков Б.Г.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

18 ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА НА СОСТОЯНИЕ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ КОНЕЧНОСТЕЙ КРЫС
Арутюнян И.В., Макаров А.В., Ельчанинов А.В., Кананыхина Е.Ю., Фатхудинов Т.Х.

19 РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТРОМБОЦИТОВ В РЕАКЦИИ НА ХИРУРГИЧЕСКОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ
Антропова И.П., Юшков Б.Г.

20 ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА НА СОСТОЯНИЕ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ КОНЕЧНОСТЕЙ КРЫС
Арутюнян И.В., Макаров А.В., Ельчанинов А.В., Кананыхина Е.Ю., Фатхудинов Т.Х.

21 ПОСТИНФАРКТНОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ МИОКАРДА КАК ОТРАЖЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КАЛЬЦИЙ – ТРАНСПОРТИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ КАРДИОМИОЦИТОВ
Афанасьев С.А., Кондратьева Д.С., Егорова М.В., Козлов Б.Н., Попов С.В.

22 ОБРАТНОЕ РАЗВИТИЕ (ЛИКВИДАЦИЯ) АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО СТЕНОЗА КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ ЧЕЛОВЕКА ВСЛЕДСТВИЕ НЕИНВАЗИВНОЙ ОБРАБОТКИ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ В ТЕЛЕ КРОВИ ПО ИММУНОЛОГИЧЕСКОМУ МОЛЕКУЛЯРНОМУ МЕХАНИЗМУ «СВОЙ-ЧУЖОЙ» ФИЗИЧЕСКИМ ПОЛЕМ СО СПЕЦИАЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ
Баданов М.П., Рябченко В.Н.

23 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕСТНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ ПОСЛЕ ДЕСТРУКТИВНЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЙ ШЕЙКИ МАТКИ
Бадретдинова Ф.Ф., Кортунова В.В.

24 ТРЕХМЕРНАЯ ПЕЧАТЬ ОСТЕОКОНДУКТИВНЫХ КЕРАМИЧЕСКИХ МАТРИКСОВ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ
Баринов С.М., Вахрушев И.В., Егоров А.А., Комлев В.С., Кортунов В.Н., Кротова Л.И., Попов В.К., Федотов А.Ю., Ярыгин К.Н.,

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

25 СПОСОБЫ ИНТЕНСИВНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО РЕЗЕРВА ОРГАНИЗМА В СПОРТЕ ВЫСШИХ ДОСТИЖЕНИЙ МЕТОДАМИ КЛЕТОЧНОЙ, ТКАНЕВОЙ И ОРГАННОЙ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ
Башлыков Д.В., Шипицын А.В., Светличная С.В., Тямбина А.С., Лубяко А.А.

26 ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА МОДЕЛИ ОСТРОГО ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК
Белогородцев С.Н., Кожевников Ю.А., Селедцова Г.В.

27 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ОСТЕОМИЕЛИТА
Белогородцев С.Н., Кожевников Ю.А., Селедцова Г.В.

28 КОЛОНИИ РЕЗИДЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК IN VITRO И IN VIVO – ОДИН ИЗ СПОСОБОВ САМООБНОВЛЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ МИОКАРДА МЛЕКОПИТАЮЩИХ
Белостоцкая Г.Б., Голованова Т.А., Нерубацкая И.В.

29 ФИБРОБЛАСТЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ТКАНИ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ РАН
Блинова М.И.

30 ЛОКАЛЬНАЯ ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ В КОСТНОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ
Бозо И.Я., Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Исаев А.А.

31 ИЗУЧЕНИЕ ГОРИЗОНТАЛЬНОЙ МИГРАЦИИ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА EA.HY926 НА АППАРАТЕ CELL-IQ
Бондаренко Н.А., Лыков А.П., Повещенко О.В., Ким И.И., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.

32 МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ИНТЕНСИВНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ
Борисов А.Г., Савченко А.А.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

33 ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ STEMNESS-ГЕНОВ В КЛЕТКАХ ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ
Борисов П.А., Димитров А.Ю., Гольцев А.Н.

34 РАЗРАБОТКА МОДИФИЦИРОВАННОГО ТРАНСПЛАНТАТА ТВЕРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКИ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ
Боровкова Н.В., Миронов А.С., Земченкова Е.С., Неплюхин С.М., Хватов В.Б.

35 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ СЕМЕННИКОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ ПАКЛИТАКСЕЛА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ
Боровская Т.Г., Дыгай А.М.

36 ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПРОЦЕССА ОСТАТОЧНЫХ ОЧАГОВ ПОРАЖЕНИЯ В ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ МАЛОИНВАЗИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
Борсуков А.В., Лемешко З.А., Мамошин А.В., Морозова Т.Г., Ковалев А.В.

37 КЛИНИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ОСТЕО- И МЯГКОТКАННОЙ ИНТЕГРАЦИИ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ФИКСАЦИИ ПОКРЫВНОГО ПРОТЕЗА
Бронштейн Д.А., Кащенко П.В., Жаров А.В.

38 ПАТОТРОПИЗМ ВЗРОСЛЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ГЕМОПОЭЗА К ГЛИОМЕ С6 В ЭКСПЕРИМЕНТЕ IN VITRO КАК СТРАТЕГИЧЕСКИЙ АРГУМЕНТ ПРИ ВЫБОРЕ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ СПОСОБОВ ЛЕЧЕНИЯ МУЛЬТИФОРМНОЙ ГЛИОБЛАСТОМЫ
Брюховецкий И.С., Брюховецкий А.С., Мищенко П.В., Хотимченко Ю.С.

39 ПОСТТРАВМАТИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ В УСЛОВИЯХ ИМПЛАНТАЦИИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ, ИЗВЛЕЧЕННОЙ В МОМЕНТ ОПЕРАЦИИ, И ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
Булякова Н.В., Азарова В.С.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

40 МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ОСТЕОГЕННОГО ДИФФЕРОНА В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ
Буравкова Л.Б., Григорьев А.И.

41 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРУБЧАТОЙ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННОЙ СОСУДИСТОЙ МАТРИЦЫ ДЛЯ УРЕТРОПЛАСТИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
Бутнару Д.В., Винаров А.З., Шехтер А.Б., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Гуллер А.Е., Люндуп А.В., Данилевский М.И., Елистратов П.А., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

42 КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ СОСУДИСТОЙ МАТРИЦЫ И АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ШЕКИ ДЛЯ УРЕТРОПЛАСТИКИ
Бутнару Д.В., Винаров А.З., Люндуп А.В., Данилевский М.И., Елистратов П.А., Шехтер А.Б., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Гуллер А.Е., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

43 IN VIVO ОЦЕНКА ОСТЕОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ ММСК ЖТ, ПОЛИЛАКТИДНЫХ НОСИТЕЛЕЙ И ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕЛЯ
Бухарова Т.Б., Антонов Е.Н., Попова А.В., Гольдштейн Д.В., Попов В.К., Волков А.В.

44 ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ЧЕЛЮСТЕЙ В ОТДАЛЁННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ ПО БЕЛКОВОМУ СПЕКТРУ СЛЮНЫ И ПЕРИИМПЛАНТАЦИОННОЙ ЖИДКОСТИ
Вавилова Т.П., Базикян Э.А., Савич О.В.

45 НОВЫЙ АЛЛОГЕННЫЙ КОМБИНИРОВАННЫЙ ТРАНСПЛАНТАТ
Ваза А.Ю., Боровкова Н.В., Клюквин И.Ю., Миронов А.С., Хватов В.Б.

46 СОЗДАНИЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИСПРАВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ НА ОСНОВЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРЫС ЛИНИИ BRATTLEBORO
Васькова Е.А., Медведев С.П., Стекленева А.Е., Немудрый А.А., Елисафенко Е.А., Евшин И.С., Шарипов Р.Н., Сайфутдинова С.Г., Шевченко А.И., Кизилова Е.А., Железова А.И., Иванова Л.Н., Покушалов Е.А., Сухих Г.Т., Закиян С.М.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

47 МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПУЛЬПЫ МОЛОЧНОГО ЗУБА КАК МАТЕРИАЛ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ
Вахрушев И.В., Каралкин П.А., Комлев В.С., Федотов А.Ю., Попов В.К., Антонов Е.Н., Ярыгин К.Н.

48 КОМПЛЕКСНОЕ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ ЛЕЧЕНИЕ СТЕНОКАРДИИ НАПРЯЖЕНИЯ
Ведехина О.Ю.

49 ОПЫТ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МСК ИЗ ЭНДОМЕТРИЯ
Верясов В.Н., Чернуха Г.Е., Захаров А.В., Табеева Г.И., Чулкина М.М., Савилова А.М.

50 ДИАГНОСТИКА АДАПТИВНО-КОМПЕНСАТОРНЫХ РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА
Виха Г.В., Папазов И.П.

51 МИКРОТРАНСПЛАНТАТ ФИБРОБЛАСТОВ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА
Вишнякова Х.С., Попов К.В., Панаев Я.И., Егоров Е.Е.

52 АУТОФАГИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ?
Вишнякова Х.С., Попов К.В., Размахаев Г.С., Егоров Е.Е.

53 СИНЕРГИЗМ ДЕЙСТВИЯ БЕЛКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КУЛЬТИВИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И ФЕРМЕНТОВ-АНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНГАЛЯЦИОННЫХ ОЖОГОВ ТРАХЕИ
Волкова А.Г., Шарапов М.Г., Темнов А.А., Новоселов В.И.

54 АКТИВНОСТЬ ММП И СОСТОЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ПРИ АНЕВРИЗМЕ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА АОРТЫ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА
Воронкина И.В., Смагина Л.В., Малашичева А.Б., Иртюга О.Б., Моисеева О.М.

55 ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СОВМЕСТНОЙ СОЧЕТАННОЙ ПЕРЕСАДКИ ДЕРМАЛЬНОГО ЭКВИВАЛЕНТА И РАСЩЕПЛЕННОГО КОЖНОГО ЛОСКУТА ПО АКТИВНОСТИ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ
Воронкина И.В., Протасов М.В., Смагина Л.В., Юдинцева Н.В., Пинаев Г.П.

56 АНТИГЕНОМНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ РЕМОДЕЛИРОВАНИИ ТКАНЕЙ С НАРУШЕНИЯМИ МЕТАБОЛИЗМА, ОБУСЛОВЛЕННЫМИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИЛИ ПРИОБРЕТЕННОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ МИТОХОНДРИЙ
Высоких М.Ю., Tonin Y., Heckel A-M, Довыденко И.С., Мещанинова М.И., Веньяминовна А.Г., Тарасов И., Entelis N.

57 РЕГЕНЕРАЦИЯ МАССИВНЫХ ТРОФИЧЕСКИМХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ У ЛИЦ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА
Гаврилюк Б.К., Ковальцова О.А., Гаврилюк В.Б.

58 ПРОЯВЛЕНИЕ ИММУНОКОРРИГИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ ПРИ РАЗВИТИИ БОЛЕЗНИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
Гаевская Ю.А., Дубрава Т.Г., Мацевитая И.Ю., Гольцев А.Н.

59 ПРИМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-МОДИФИЦИРОВАННОГО СУХОЖИЛЬНОГО ТРАНСПЛАНТАТА В ОФТАЛЬМОХИРУРГИИ
Галимова В.У., Мусина Л.А., Шангина О.Р., Хасанов Р.А., Булгакова Л.А.

60 ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОМАТЕРИАЛОВ АЛЛОПЛАНТ В ХИРУРГИИ ВРОЖДЕННОГО МИКРОФТАЛЬМА И ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ СУБАТРОФИИ ГЛАЗА
Галимова Л.Ф.

61 ВЛИЯНИЕ АППЛИКАЦИОННО-ИНЪЕКЦИОННОГО ВВЕДЕНИЯ ГИДРОЛИЗАТА КОЛЛАГЕНА НА РЕПАРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В РАНАХ
Глухов А.А., Андреев А.А., Алексеева Н.Т., Фролов Р.Н.

62 ВЛИЯНИЕ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЗАЖИВЛЕНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
Глушаков Р.И., Соболев И.В., Власьева О.В., Козырко Е.В., Тапильская Н.И.

63 ВЛИЯНИЕ СРЕДНЕИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЗОН ЛОКАЛИЗАЦИИ КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА НА РЕПАРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ИШЕМИЗИРОВАННЫХ ТКАНЯХ
Головнева Е.С., Рейдман В.Р., Гужина А.О., Кравченко Т.Г.

64 МОДИФИЦИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СТВОЛОВЫХ РАКОВЫХ КЛЕТОК И КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ
Гольцев А.Н., Бондарович Н.А., Кузняков А.В., Останков М.В., Останкова Л.В., Челомбитько О.В.

65 ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ СТВОЛОВО-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ НА МОДЕЛЬНЫХ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ
Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Дубрава Т.Г., Бабенко Н.Н., Гаевская Ю.А., Останков М.В., Ямпольская Е.Е., Бондарович Н.А., Порожан Е.А., Димитров А.Ю.

66 ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА» МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ, ВЫРАЩЕННЫМИ НА НАНОПОКРЫТИЯХ
Гольцев А.Н., Рассоха И.В., Дубрава Т.Г., Останкова Л.В., Останков М.В., Сафонов В.И., Зыкова А.В.

67 ОСОБЕННОСТИ АДГЕЗИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА, ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ И ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ИНДОЛАМИН 2,3-ДИОКСИГЕНАЗЫ В КЛЕТКАХ ПЛАЦЕНТЫ ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ
Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Останков М.В., Димитров А.Ю.

68 ИММУНОМОДУЛЯТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ММСК В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ КИСЛОРОДА
Горностаева А.Н., Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

69 РЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ УЗКОПОЛОСНОГО СВЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 540 НМ
Гузалов П.И., Кирьянова В.В., Емельянов А. Н.

70 СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОФИЛЯ ЭКСПРЕССИИ МКРНК И ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ ТКАНИ МОЗГА КРЫС ЧЕРЕЗ 24 И 48 ЧАСОВ ПОСЛЕ НАЧАЛА ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ
Гусар В.А., Тимофеева А.В., Жанин И.С., Шрам С.И., Пинелис В.Г., Баранов А.А.

71 ГЕННАЯ ИНДУКЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ МИКРОСОСУДИСТОГО РУСЛА В КОМПЛЕКСНОМ НЕОПЕРИАТИВНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ОБЛИТЕРИРУЮЩИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СОСУДОВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ
Деев Р.В., Бозо И.Я., Чухраля О.В., Мжаванадзе Н.Д., Червяков Ю.В., Староверов , Калинин Р.Е., Исаев А.А.

72 СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ СИНДРОМА УДЛИНЕННОГО ИНТЕРВАЛА QT С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕМЕЙНОГО ПОДХОДА
Дементьева Е.В., Григорьева Е.В., Вялкова А.В., Медведев С.П., Шевченко А.И., Елисафенко Е.А., Байрамова С.А., Покушалов Е.А., Караськов А.М., Сухих Г.Т., Закиян С.М.

73 ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА IDO В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ
Димитров А.Ю., Челомбитько О.В., Борисов П.А., Гольцев А.Н.

74 ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ И ОЦЕНКА ЕГО БЕЗОПАСНОСТИ В ПРИМЕНЕНИИ
Добринская М.Н., Ларионов Л.П., Стрекалов И.М.

75 СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ СТЕПЕНИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА
Долганова Т.И., Мартель И.И., Бажитов А.П., Матушкин П.А.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

76 ОСОБЕННОСТИ ПРАВОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ БИОТЕХНОЛОГИЙ
Долгушева Т.Л.

77 ВЛИЯНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЭНДОМЕТРИЯ НА РАЗВИТИЕ ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ
Домнина А.П., Михайлов В.М., Никольский Н.Н.

78 МЕХАНИЗМЫ РЕГЕНЕРАЦИИ ГЕМОПОЭЗА ПРИ МИЕЛОИНГИБИРУЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ
Дыгай А.М., Жданов В.В.

79 МОДУЛЯЦИЯ ЭНДОГЕННЫХ СТВОЛОВЫХ И ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК – НОВЫЙ ПОДХОД В ЛЕЧЕНИИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Першина О.В., Хмелевская Е.С., Ермакова Н.Н., Крупин В.А., Резцова А.М.

80 АУТОТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ НЕПОДВИЖНОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ ФРАГМЕНТОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ ПРИ ЕЁ РЕКОНСТРУКЦИИ
Дюрягин Н.М.

81 АУТОТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ РЕКОНСТРУКЦИИ КОСТНЫХ ФРАГМЕНТОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ
Дюрягин Н.М.

83 АУТОТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ РЕКОНСТРУКЦИИ ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОГО СУСТАВА
Дюрягин Н.М.

84 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ АУТОТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ
Дюрягин Н.М.

85 ВЛИЯНИЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПУПОЧНОГО КАНАТИКА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ СУБТОТАЛЬНОЙ РЕЗЕКЦИИ
Ельчанинов А.В., Арутюнян И.В., Макаров А.В., Володина М.А., Тарасова Н.В., Кананыхина Е.Ю., Фатхудинов Т.Х.

86 ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ЖИВОТНЫХ С ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕЙ
Желудев А.А., Пархисенко Ю.А., Цветикова Л.Н..

87 МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА В ЛЕЧНИИ ХРОНИЧЕСКИХ РАН
Жидких С.Ю., Горюнов С.В., Суздальцева Ю.Г., Жидких Н.В., Привиденцев А.И., Абрамов И.С., Ярыгин К.Н., Ступин В.А.

88 УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ И НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СИНАПТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ ГЕТЕРОТОПИЧЕСКИМ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАТОМ И МОЗГОМ КРЫСЫ
Журавлева З.Н.

89 КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В АЛЬГИНАТНЫХ СФЕРИЧЕСКИХ НОСИТЕЛЯХ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ВКЛЮЧЕНИЕМ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
Зайков В.С., Петренко Ю.А., Правдюк А.И., Петренко А.Ю.

90 ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА НА ТЕЧЕНИЕ АСЕПТИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ХРОМОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ
Засорин Б.В., Насиров И.Н., Гебель В.В., Галата Л.В., Оразбаева К.Б.

91 ВЫБОР ЗАМЕЩАЮЩЕГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ КОСТНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОЗВОНОЧНИКА ПРИ МИЕЛОМНОЙ БОЛЕЗНИ
Захаров А.В., Киселев А.М., Кедров А.В., Биктимиров Р.Г.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

92 ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ ИММУНОМОДУЛЯТОРНЫХ МОЛЕКУЛ В КУЛЬТУРАХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ВНЕЗАРОДЫШЕВЫХ ТКАНЕЙ И ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА
Захаров А.В., Сердюк Я.В., Метлюк Е.А., Чулкина М.М., Савилова А.М.

93 РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОЧНО-НАПОЛНЕННОГО СОСУДИСТОГО ТРАНСПЛАНТАТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАПРАВЛЕННОЙ ВАСКУЛЯРНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА
Захарова И.С., Шевченко А.И., Живень М.К., Саая Ш.Б., Карпенко А.А., Покушалов Е.А., Иванова Л.Н., Сухих Г.Т., Закиян С.М.

94 ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СМЕШАННЫХ КУЛЬТУР АУТОГЕННЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ТЕРАПИИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ
Зверева А.Е., Улыбин А.И., Бабушкина Ю.В., Макеев О.Г.

95 ИССЛЕДОВАНИЕ МИГРАЦИИ И ОСОБЕННОСТЕЙ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ОРГАНИЗМЕ РЕЦИПИЕНТА-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ
Зубарева К.Э., Соловьева А.О., Нечаева Е.А., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.

96 ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛАЗЕРНОЙ ФОТОХИМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В РЕГЕНЕРАЦИИ ЭНДОМЕТРИЯ
Зуев В.М., Ищенко А.И., Александров М.Т., Калинина Е.А., Джибладзе Т.А., Везирова В.Р., Арутюнян Н.А., Хомерики Т.А.

97 РАЗВИТИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ СТРАТЕГИИ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ВЫСОКОСЕЛЕКТИВНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ НА ОСНОВЕ АЛКАЛОИДОВ
Зюзьков Г.Н., Жданов В.В., Суслов Н.И., Дыгай А.М.

98 ПРИМЕНЕНИЕ ИМПЛАНТАТОВ И СОЗДАНИЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ КОЛЛАГЕНОВЫХ МАТРИЦ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДЕФЕКТОВ СУСТАВНОГО ХРЯЩА
Иванников С.В., Люндуп А.В., Жарова Т.А., Тельпухов В.И., Тоненков А.М., Данилевский М.И., Елистратов П.А., Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Николенко В.Н.

99 ГИБРИДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ AL2O3-ZRO2 И АЛИФАТИЧЕСКИХ ПОЛИЭФИРОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В НОВЫХ БИО- И МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЯХ
Ильющенко А.Ф., Цедик Л.В., Белов Д.А., Бухарова Т.Б., Волков А.В., Эшмотова Г.К., Антоневич Н.Г., Квачева З.Б., Гончаров А.Е.

100 СОЗДАНИЕ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ
Истранов Л.П., Истранова Е.В., Абоянц Р.К., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Гуллер А.Е., Люндуп А.В., Данилевский М.И., Бутнару Д.В., Елистратов П.А., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

101 ТЕКТОНИЧЕСКАЯ И МЕЛИОРАТИВНАЯ КЕРАТОПЛАСТИКА С ПРИМЕНЕНИЕМ БИОМАТЕРИАЛА АЛЛОПЛАНТ ДЛЯ ПОСЛОЙНОЙ КЕРАТОПЛАСТИКИ
Кадыров Р.З., Усманова А.Ф.

102 ТРАНСПЛАНТАЦИЯ МОНОНУКЛЕАРОВ И КУЛЬТИВИРОВАННЫХ МСК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ПОСТИНФАРКТНОМ КАРДИОСКЛЕРОЗЕ У КРЫС
Кананыхина Е.Ю., Арутюнян И.В., Ельчанинов А.В., Макаров А.В., Фатхудинов Т.Х.

103 ПРИМЕНЕНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО КОНТРОЛЯ ПРИ ВВЕДЕНИИ АУТОЛОГИЧНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫМ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ КОНЕЧНОСТЕЙ
Каргин В.Д., Чечеткин А.В., Солдатенков В.Е., Бураков В.В., Волошин С.В., Розанова О.Е., Чубукина Ж.В., Павлова И.Е., Глазанова Т.В.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

104 УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ МЫШЕЙ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА ОТ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ДОНОРОВ
Карнаухов А.В., Карнаухова Е.В., Сергиевич Л.А, Богданенко Е.В., Жукоцкий А.В., Смирнов А.А., Карнаухова Н.А., Карнаухов В.Н.

105 ИССЛЕДОВАНИЕ КАРДИОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА МИОКАРД ПОСЛЕ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ
Карпов А.А.

106 ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА SNAIL ЭНДОМЕТРИЯ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ГИПЕРПЛАЗИИ И ГИПОПЛАЗИИ
Катанугина А.С., Маркитантова Ю.В., Красный А.М.

107 КОСТНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ТЕЛ ШЕЙНЫХ ПОЗВОНКОВ ПОСЛЕ ПЕРЕДНЕГО СПОНДИЛОДЕЗА ИМПЛАНТАТАМИ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА
Кедров А.В., Киселев А.М., Биктимиров Р.Г.

108 ПОЗДНЕСРОЧНЫЕ РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В НАДПОЧЕЧНИКЕ КРЫСЫ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ЛАЗЕРНОЙ ДЕСТРУКЦИИ
Кемоклидзе К.Г., Александров Ю.К., Дворников М.В., Тюмина Н.А.

109 МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ОСТЕОГЕНЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОСТНО-ПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА «КОСТМА»
Кирилова И.А., Подорожная В.Т.

110 ЭФФЕКТ МОДИФИКАЦИИ БИОПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОЧНЫХ МАТРИЦ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ РОСТА КЛЕТОК IN VITRO
Кирошка Е.В., Юрчук Т.А., Бондаренко Т.П., Чуб Н.Н., Петрова В.А., Черняков Д.Д., Скорик Ю.А.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

111 ПОЛУЧЕНИЕ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК ИЗ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРОЛИКОВ
Кирсанова Л.А., Баранова Н.В., Бубенцова Г.Н., Скалецкий Н.Н.

112 ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИММЕНЕНИЯ СВЕТА ВИДИМОГО СПЕКТРА В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ
Кирьянова В.В., Емельянов А.Н., Гузалов П.И.

113 ПРИНЦИПЫ ХУРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ И ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ НЕСРОСШИХСЯ ПЕРЕЛОМОВ ЗУБОВИДНОГО ОТРОСТКА С2 ПОЗВОНКА
Киселев А.М., Киселев А.А., Михневич Ю.С.

114 ПОДХОДЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ ОРГАНОВ ГОЛОВЫ И ШЕИ
Киселева Е.В., Батухтина Е.В., Кунакова Т.А., Терских В.В.

115 СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДОЛГОСРОЧНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ И СТАНДАРТНОЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА
Князев О.В., Парфенов А.И., Ручкина И.Н., Лазебник Л.Б., Коноплянников А.Г.

116 ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ С РЕФРАКТЕРНЫМИ ФОРМАМИ БОЛЕЗНИ КРОНА – 5 ЛЕТ НАБЛЮДЕНИЯ
Князев О.В., Щербаков П.Л., Парфенов А.И., Ручкина И.Н., Коноплянников А.Г., Лазебник Л.Б.

117 РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ КОЖИ НА ОСНОВЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОЙ ВОДНОЙ СРЕДЫ
Ковалев А.В., Омельяненко Н.П.

118 ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ СЕМЕЙНОГО АДЕНОМАТОЗА ТОЛСТОЙ КИШКИ
Коган Е.А., Вышегородцев Д.В., Файзуллина Н.М., Демура Т.А., Кузьминов А.М., Шелыгин Ю.А., Сухих Г.Т.

119 ЭКСПРЕССИЯ AFA, TRA-1–81 И CD117 В «ЗОНАХ РОСТА» ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ ОПУХОЛЕЙ МАТКИ
Коган Е.А.[1], Демура Т.А.[1], Файзуллина Н.М.[1], Беккер-Коич З.[2], Сухих Г.Т.[1]

120 ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СФЕРОИДНЫЕ СТРУКТУРЫ В РЕПАРАЦИИ СЛИЗИСТОЙ ШЕЙКИ МАТКИ: ИССЛЕДОВАНИЕ IN VIVO
Коган Е. А., Файзуллина Н. М., Демура Т.А., Сухих Г.Т.

121 ОПЫТ ВЫДЕЛЕНИЯ И ДЛИТЕЛЬНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТРОФОБЛАСТОВ ТЕРМИНАЛЬНОЙ ПЛАЦЕНТЫ
Колокольцова Т.Д., Нановская Т.В., Ахмед М.С., Сабурина И.Н., Репин В.С., Сухих Г.Т.

122 МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНЫХ ТКАНЕЙ
Комлев В.С., Баринов С.М.

124 КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЛЕЧЕНИЯ ТЯЖЕЛОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ (ХСН), КАК АЛЬТЕРНАТИВА ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА
Коненков В.И., Повещенко О.В., Караськов А.М., Покушалов Е.А.

125 РЕГЕНЕРАЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ФИБРОБЛАСТОВ В ПРИСУТСТВИИ МЕТАЛЛОКЕРАМРЧЕСКИХ И КЕРАМИЧЕСКИХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ
Кононенко В.И., Хубаев С.-С.З., Берсанов Р.У.

126 ВОЗМОЖНОСТИ И ПРЕРСПЕКТИВЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ФИЗИОТЕРАПИИ
Кончугова Т.В, Бобровницкий И.П., Орехова Э.М., Пузырева Г.А., Королев Ю.Н., Ильинская Г.В.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

127 ДОЛЯ ТКАНЕВОГО ИНГИБИТОРА МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ 1 ТИПА СРЕДИ БЕЛКОВ БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО СЕКРЕТА ОТРАЖАЕТ АКТИВНОСТЬ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЕГКИХ
Корецкая Н.А., Ткачев Г.А.

128 МЕТОД НЕИНВАЗИВНОЙ ОЦЕНКИ КОМПОЗИЦИИ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА И УЛУЧШЕНИЕ ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МЕТОДОМ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО БИОУПРАВЛЕНИЯ
Косов И.С., Михайлова С.А

129 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАЗМЫ БОГАТОЙ ФАКТОРАМИ РОСТА КАК МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ APC-СИНДРОМА (ADDUCTOR–RECTUS–SYMPHISYS–SYNDROME) У СПОРТСМЕНОВ
Коструб А.А., Блонский Р.И., Лучко Р.В., Вовченко А.Я., Тютюнник И.Н.

130 ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АУТОЛОГИЧЕСКИХ МСК, АУТОЛОГИЧЕСКИХ ФИБРОБЛАСТОВ И АУТОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАЗМЫ БОГАТОЙ ФАКТОРЫ РОСТА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ СУХОЖИЛИЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)
Коструб А.А., Грищенко В.И., Блонский Р.И., Бруско А.Т., Магомедов А.Т., Гочарук Е.И., Довбешко Г.И., Волкова Н.А.

131 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧЕСКИХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАЦИИ СУСТАВНОГО ХРЯЩА
Коструб А.А., Засаднюк И.А., Гончарук Е.И., Волкова Н.

133 ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ПОДСЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ УРЕТРЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СТРИКТУР. КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
Котенко К.В., Кызласов П.С., Еремин И.И., Мурзабеков М.Б., Пулин А.А., Наделяева И.И., Еремин П.С., Чаузова Т.С., Жгутов Ю.А., Лазарева Н.Л.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

135 КОРРИГИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПИДНОЙ ФРАКЦИИ ПЛАЦЕНТЫ В ОТНОШЕНИИ CD4+CD25+ Т-КЛЕТОК ПРИ АДЪЮВАНТНОМ АРТРИТЕ У КРЫС
Кравченко М.А., Гольцев А.Н.

136 БЕЛКОВЫЙ СПЕКТР, ПРОДУЦИРУЕМЫЙ ДЕРМАЛЬНЫМИ ФИБРОБЛАСТАМИ У ДЕТЕЙ
Кропотов В.С., Колесов С.А., Васильева Е.А.

137 ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПАНТЕНОЛ-СПРЕЯ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ КОНСЕРВАТИВНОМ ЛЕЧЕНИИ ЭРОЗИИ ШЕЙКИ МАТКИ У НЕРОЖАВШИХ ЖЕНЩИН
Кузнецов М.И., Кузнецова Е.М., Проничкина Т. В., Рассказова Т. В.

138 ЦИТОФЛУОРИМЕТРИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ РАЗМЕРА, ГРАНУЛЯРНОСТИ И ИММУНОФЕНОТИПА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
Кузьмина Е.Г., Неприна Г.С., Лепехина Л.А., Коноплянников А.Г.

139 РАЗРАБОТКА ТРАНСПЛАНТОЛОГИЧЕСКИХ СПОСОБОВ КОМПЕНСАЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ
Куликов А.В., Куликов Д.А., Архипова Л.В., Смирнова Г.Н., Куликова П.А., Филюшкин Ю.Н., Машков А.Е.

140 НОВЫЕ СПОСОБЫ ТОРМОЖЕНИЯ НЕОБРАТИМОЙ ВОЗРАСТНОЙ АТРОФИИ ТИМУСА И КОМПЕНСАЦИИ ЭНКОПРЕЗА
Куликов Д.А., Архипова Л.В., Смирнова Г.Н., Куликова П.А., Филюшкин Ю.Н., Машков А.Е., Куликов А.В.

141 СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ПЕРВИЧНОГО МУЖСКОГО ГИПОГОНАДИЗМА ПУТЕМ АТОПИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ТКАНИ АЛЛОГЕННОГО КОСТНОГО МОЗГА
Куликова П.А., Архипова Л.В., Смирнова Г.Н., Куликов Д.А., Машков А.Е., Филюшкин Ю.Н., Куликов А.В.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

142 СВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И БИОМАРКЕРОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В КРОВИ ДЕТЕЙ-РЕЦИПИЕНТОВ ПЕЧЕНИ
Курабекова Р.М., Цирульникова О.М., Луговская С.А., Наумова Е.В., Кунцевич Н.В., Цирульникова И.Е., Долгов В.В., Шевченко О.П.

143 ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ВНУТРИВЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ПУПОВИНЫ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ
Курсенко В.В., Бурунова В.В.

144 ТЕЧЕНИЕ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ СПОНДИЛИТАХ КРАНИО-ВЕРТЕБРАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ
Лавров В.Н., Киселев А.М.

145 РЕГЕНЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ИШЕМИЧЕСКИ ПОВРЕЖДЕННОГО МИОКАРДА КРОЛИКОВ, ИНДУЦИРОВАННЫЙ БИОМАТЕРИАЛОМ АЛЛОПЛАНТ®
Лебедева А.И., Мусина Л.А.

146 РЕГЕНЕРАЦИЯ СТЕНКИ РОГА МАТКИ КРОЛИКА ПОСЛЕ ЕЕ РАЗРЕЗА ЛУЧОМ ЛАЗЕРА И ПРИМЕНЕНИЯ БИОМАТЕРИАЛА АЛЛОПЛАНТÒ
Лебедева А.И., Муслимов С.А.

147 КОСТНОПЛАСТИЧЕСКИЕ БИОКОМПОЗИЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПРОЦЕССЫ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ
Лекишвили М.В., Склянчук Е.Д., Акатов В.С., Очкуренко А.А., Юрасова Ю.Б.

148 МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: ПРЯМЫЕ И ОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ
Лисяный Н.И., Гнедкова И.А., Бельская Л, Н., Семенова В.М., Ключникова А.И., Задорожная Е.В., Стайно Л.П., Станецкая Д.И.

149 ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ ЛЕЧЕНИЕ МЕТОДАМИ КЛЕТОЧНОЙ, ТКАНЕВОЙ И ОРГАННОЙ ТЕРАПИИ
Лубяко А.А.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

150 ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ СВОЙСТВА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO
Лупатов А.Ю., Каралкин П.А., Савилова А.М., Захаров А.В., Верясов В.Н., Вахрушев И.В., Быстрых О.А., Полтавцева Р.А., Ярыгин К.Н., Сухих Г.Т.

151 ИССЛЕДОВАНИЕ МИГРАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ
Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Ким И.И., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.

152 ЭФФЕКТ ЖИДКОГО НИТРОГЛИЦЕРИНА НА МИГРАЦИОННУБ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ЛИНИИ ЧЕЛОВЕКА EA.HY926 ПО ДАННЫМ КЛЕТОЧНОГО ИМПЕДАНСА В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ
Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Повещенко О.В., Ким И.И., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.

153 ДИФФЕРЕНЦИРОВКА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ СОЗДАНИИ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ДЕФЕКТОВ СУСТАВНОГО ХРЯЩА
Люндуп А.В., Елистратов П.А., Иванников С.В., Жарова Т.А., Тельпухов В.И., Тоненков А.М., Данилевский М.И., Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Николенко В.Н.

154 ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННОЙ СОСУДИСТОЙ МАТРИЦЫ И КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ЩЕКИ
Люндуп А.В., Данилевский М.И., Елистратов П.А., Шехтер А.Б., Винаров А.З., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Гуллер А.Е., Бутнару Д.В., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

155 ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ И АПОПТОЗ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ПОСЛЕ АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
Мавликеев М.О., Плотников М.В., Газизов И.М., Гумерова А.А., Максимов А.В., Киясов А.П.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

156 ИНЪЕКЦИОННЫЕ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СТРЕССОВОГО НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ
Макаров А.В., Фатхудинов Т.Х., Арутюнян И.В., Тетерина Т.А., Аполихина И.А., Попов В.К., Богородский С.Э.

157 ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО КОМПОНЕНТА КОМБИНИРОВАННЫХ БИОТРАНСПЛАНТАТОВ НА ОСНОВЕ ГУБЧАТОЙ КОСТИ
Макаров М.С., Конюшко О.И., Боровкова Н.В., Миронов А.С., Хватов В.Б.

158 КАРДИОЛОГИЧЕСКАЯ СИСТЕМНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ – ЗАЛОГ МЕДИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ В РЕГИОНЕ
Малышев В.К.

159 ХРОНИЧЕСКАЯ ИШЕМИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА: РЕВИТАЛИЗАЦИОННАЯ РОЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ «САМАРСКИЙ ЗДОРОВЯК»
Малышев В.К.

160 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМПОЗИЦИОННОГО БИОМАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ФИБРИНОВОГО ГИДРОГЕЛЯ И ГРАНУЛ ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТА В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЯ АУТОЛОГИЧНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА КРОЛИЧЬЕЙ МОДЕЛИ
Мамонов В.Е., Дризе Н.И., Чемис А.Г., Берковский А.Л., Сац Н.В., Проскурина Н.В., Каргальцев А.А., Комлев В.С.

161 ВЛИЯНИЕ NO-СОДЕРЖАЩЕГО РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И СОСТОЯНИЕ ЛОКАЛЬНОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖОГОВОЙ РАНЕ
Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Соловьева А.Г., Мельникова Н.Б., Перетягин П.В., Славкина В.М.

162 ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ NO ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАТОРНЫХ И РЕАДАПТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ
Мартусевич А.К.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

163 ЭНЗИМОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ИНГАЛЯЦИЙ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НА СОСТОЯНИЕ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ТЕРМОИНГАЛЯЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ
Мартусевич А.К., Соловьева А.Г., Мартусевич А.А., Перетягин С.П.

164 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ ФРАКЦИИ МАЛОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ИЗ ПУПОВИННОЙ КРОВИ
Маслова Е.В., Андреева Е.Р., Романов Ю.А., Буравкова Л.Б.

165 ЛИМФОТРОПНАЯ ИММУНОКОРРЕКЦИЯ И СТАДИЙНЫЙ ПОДХОД К МЕСТНОМУ ЛЕЧЕНИЮ ПРИ ВЕНОЗНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВАХ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ
Матвеев Д.В., Семенов С.В., Снигоренко А.С., Абдувосидов Х.А., Ломакин А.А.

166 ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ
Матвейчук И.В., Розанов В.В., Литвинов Ю.Ю., Лекишвили М.В., Шутеев С.А.

167 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ
Матвейчук И.В., Розанов В.В., Денисов-Никольский Ю.И.

168 ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ УРОВНЯ ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ В МОЧЕ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРАКТИВНЫМ МОЧЕВЫМ ПУЗЫРЕМ (РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ)
Махмеджанова Ф.Н., Аполихина И.А., Беснощенко О.С.

169 ВЛИЯНИЕ ПРОДУКТОВ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ НА РЕАКТИВНУЮ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ НЕЙТРОФИЛОВ
Маянская И.В., Васильева Е.А., Руднева Е. И., Ашкинази В.И., Толкачева Н.И.

170 ПРИМЕНЕНИЕ НОВЕЙШИХ МЕТОДОВ ГЕНОМНОЙ ИНЖЕНЕРИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПЕРСПЕКТИВНОЙ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА

Медведев С.П., Елисафенко Е.А., Устьянцева Е.И., Васькова Е.А., Валетдинова К.Р., Стекленева А.Е., Иванова Л.Н., Покушалов Е.А., Сухих Г.Т., Закиян С.М.

171 ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОЗДАНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ НИКЕЛИДА ТИТАНА И МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ДЕСНЫ ДЛЯ ПЛАСТИКИ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ В ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Медведев Ю.А., Люндуп А.В., Баласанова К.В., Золотопуп Н.М., Елистратов П.А., Данилевский М.И., Удалова М.М., Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Николенко В.Н.

172 МИГРАЦИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В КЛЕТОЧНОЙ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ТЕРАПИИ

Миллер Т. В., Соловьева А. О., Повещенко О.В., Повещенко А.Ф., Коненков В.И.

173 КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ЗАМЕДЛЕННО ФОРМИРУЮЩИХСЯ ДИСТРАКЦИОННЫХ РЕГЕНЕРАТОВ

Миронов С.П., Омельяненко Н.П., Кожевников О.В., Ильина В.К., Иванов А.В.

174 РЕЗУЛЬТАТЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ СОЕДИНИТЕЛЬНО-ТКАННЫХ КОСТНО-МОЗГОВЫХ КЛЕТОК В ОБЛАСТЬ РЕЗЕКЦИИ ВРОЖДЕННОГО ЛОЖНОГО СУСТАВА КОСТЕЙ ГОЛЕНИ У ДЕТЕЙ

Миронов С.П., Омельяненко Н.П., Кожевников О.В., Ильина В.К., Иванов А.В.

175 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА «КОМБАС» В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКИ ТЕКУЩЕГО ГНОЙНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА

Митрофанов В.Н., Бугров С.Н., Алейник Д.Я., Кулакова К.В., Живцов О.П.

176 ЗАМЕНА КОСТНОГО МОЗГА КАК СПОСОБ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Михайлов В.М., Зайчик А.М., Соколова А.В., Кравцова В.В., Каминская Е.В., Тимонина Н.А., Кривой И.И.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

177 ПРИНЦИПЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ХИРУРГИИ В УРОЛОГИИ
Мулдашев Э.Р., Павлов В.Н., Шангина О.Р.

178 ТЕХНОЛОГИИ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ НА ОСНОВЕ БИОМАТЕРИАЛОВ АЛЛОПЛАНТ
Мулдашев Э.Р.

179 ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ СИСТЕМЫ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ПОДДЕРЖКИ В ДЕТСКОЙ ПРАКТИКЕ
Мусин Е.А., Буланин Д.С., Жумадилов Ж.Ш., Олжаев Ф.С., Federspiel W., Jeffries G.

180 ВОЗМОЖНОСТИ ПОЛНОЦЕННОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ АРХИТЕКТОНИКИ ЯИЧНИКОВ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ
Муслимова С.Ю., Сахаутдинова И.В., Муслимов С.А.

181 ОЦЕНКА МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННЫХ АРТЕРИЙ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА
Насединов А.С., Анисимов С.В., Вавилов В.Н., Курапеев Д.И., Лебедева Е.А.

182 РЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИЯ СОСУДИСТОГО КОНДУИТА МЕЗЕНХИМНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ
Насединов А.С., Лаврешин А.В., Анисимов С.В., Вавилов В.Н., Курапеев Д.И.

183 СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МАТРИКСОВ АРТЕРИЙ МАЛОГО КАЛИБРА И ИХ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
Насединов А.С., Лаврешин А.В., Анисимов С.В., Вавилов В.Н., Курапеев Д.И.

184 ЭЛАСТИНОВЫЕ БИОМАТЕРИАЛЫ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ХИРУРГИИ МЯГКОГО ОСТОВА
Нигматуллин Р.Т., Щербаков Д.А., Гизатуллина Э.Р., Мухаметов А.Р.

185 АМПУТАЦИЯ КОНЕЧНОСТИ И КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ
Николаева Л.П.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

186 ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТКАНЕЙ ДЕСНЫ С МЕТАЛЛОКЕРАМИЧЕСКИМИ КОРОНКАМИ НА ФРЕЗЕРОВАННЫХ И ЛИТЫХ КАРКАСАХ
Олесов Е.Е., Зверяев А.Г., Лернер А.Я.

187 БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РЕАКЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ НА НАГРУЗКУ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ
Олесова В.Н., Амирханян М.А., Никончук Е.Е., Магамедханов Ю.М.

188 ЕСТЕСТВЕННАЯ КЛЕТОЧНО-МАТРИКСНАЯ ОСНОВА ДЛЯ ИНДУЦИРУЕМОЙ КОСТНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ
Омельяненко Н.П., Ильина В.К., Карпов И.Н., Ковалев А.В.

189 ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ РЕПАРАТИВНЫХ КОСТНЫХ РЕГЕНЕРАТОВ НА СУПРАМОЛЕКУЛЯРНОМ И ТКАНЕВОМ УРОВНЕ ОРГАНИЗАЦИИ
Омельяненко Н.П., Карпов И.Н., Ковалев А.В., Иванов А.В., Хлыстова А.В.

190 КОРРЕКЦИЯ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК И ВОЗНИКАЮЩИХ СИСТЕМНЫХ НАРУШЕНИЙ ИММУНИТЕТА С ПОМОЩЬЮ МСК
Онищенко Н.А., Мещерин С.С., Расулов М.Ф., Аврамов П.В., Шагидулин М.Ю.

191 РАЗРАБОТКА КОЛЛАГЕН-ФИБРОНЕКТИНОВОГО МАТРИКСА ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ RHBMP-2
Осидак Е.О., Карягина А.С., Лунин В.Г., Домогатский С.П.

192 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЕСНЕВОЙ ЖИДКОСТИ В ОЦЕНКЕ ЗАЖИВЛЕНИЯ ОПЕРАЦИОННОЙ РАНЫ ПОСЛЕ ЦИСТЭКТОМИИ
Островская И.Г., Шишкин С.В., Мазур Л.Г.

193 ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ И МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ
Павлова Е.А., Ордиянц И.М.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

194 РОЛЬ МАКРОФАГОВ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ГЕПАТОЦИТАХ ПРИ КЛЕТОЧНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ
Панин Л.Е.

195 БИОИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЛЕЧЕНИИ УРОТЕЛИАЛЬНОГО РАКА (СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ)
Перепечин Д.В., Белов П.Г., Чернышев И.В.

196 ПРАВОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ
Перепечина И.О., Перепечин Д.В., Смирнова Д.В., Сафин Р.Н.

197 КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ОБЪЕМНЫХ НОСИТЕЛЯХ
Петренко А.Ю., Петренко Ю.А., Зайков В.С., Правдюк А.И., Лозинский В.И., Иванов Р.В., Кацсен-Глоба А., Мэйзер И., Циммерман Х.

198 ОРГАНИЗАЦИЯ ОБЩЕСТВЕННОГО РЕГИСТРА ДОНОРОВ ПУПОВИННОЙ КРОВИ С ГЕНОТИПОМ CCR5 DELTA 32/DELTA 32 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ
Пирожков И.А., Смолянинов А.Б., Чечеткин А.В., Иволгин Д.А., Хрупина А.С.

199 ВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ
Плотников Е.Ю., Пулькова Н.В., Певзнер И.Б., Зорова Л.Д., Сухих Г.Т., Зоров Д.Б.

200 ХОУМИНГ C-KIT-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫСЫ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ
Плюшкина А.С., Калигин М.С., Шафигуллина А.К., Киясов А.П.

201 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ПРИ МОБИЛИЗАЦИИ G-CSF
Повещенко О.В., Покушалов Е.А., Романов А.Б., Бондаренко Н.А., Лыков А.П., Ким И.И., Повещенко А.Ф., Караськов А.М., Коненков В.И.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

202 ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ДЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ КОМПОЗИЦИОННЫХ КОСТНО-КЕРАМИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ
Подорожная В.Т., Кирилова И.А.

203 ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ БИОКОМПОЗИЦИОННОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ КОСТИ АЛЛОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И КЕРАМИКИ
Подорожная В.Т., Кирилова И.А.,

204 РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕЧЕНИЯ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА АППАРАТЕ «БИОИСКУССТВЕННАЯ ПЕЧЕНЬ»
Полевщикова Е.Е., Рябинин В.Е., Козочкин Д.А.

205 ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КАРДИОМИОБЛАСТОВ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ МИОКАРДА ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ
Полтавцева Р.А., Власов Г.П., Сухих Г.Т.

206 ТКАНЕВАЯ ИЖЕНЕРИЯ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА – СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ
Пономарёв И.В., Ройтер Т., Барневиц Д.

207 ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ПРОЧНОСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА ДЕЦЕЛЛЮЛЯРОВАННЫХ СОСУДИСТО-КЛАПАННЫХ ГРАФТОВ
Попандопуло А.Г., Петрова М.В.

208 КЛЕТОЧНО-ТКАНЕВОЙ ЭКВИВАЛЕНТ РОГОВИЦЫ
Попандопуло А.Г., Кавелина А.С., Иванова О.Н., Дрожжина Г.И.

209 ВЛИЯНИЕ ФЕТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НА Т-РЕГУЛЯТОРНЫЕ КЛЕТКИ ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА
Порожан Е.А., Бабенко Н.Н., Останков М.В., Гольцев А.Н.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

210 ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ОДНОСТЕНОЧНЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК
Посыпанова Г.А., Москалева Е.Ю., Федоров Г.Е., Гайдученко И.А., Северин С.Е.

211 БИОЛОГИЧЕСКАЯ И СТРУКТУРНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ АДЕКВАТНОСТЬ СИНТЕЗИРОВАННОЙ КОЛЛАГЕН-ГИДРОКСИАПАТИТОВОЙ МАТРИЦЫ ЗАДАЧАМ КОНСТРУИРОВАНИЯ ОСТЕОГЕННЫХ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ
Просвирин А.А., Склянчук Е.Д., Гурьев В.В., Акатов В.С., Фадеева И.С., Фадеев Р.С., Телешев А.Т., Горшенев В.Н.

212 КОРРЕКЦИЯ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОСРЕДСТВОМ ИНТРАЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
Пузанов М.В., Анисимов С.В., Соколова И.Б.

213 РАЗРАБОТКА ЦЕЛЛЮЛЯРНО-МАТРИЧНОГО КОМПЛЕКСА НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ
Рахматуллин Р.Р., Бурцева Т.И., Бурлуцкая О.И., Спичкина О.Г., Калмыкова Н.В.

214 ФЕНОМЕН РЕГЕНЕРАЦИИ В СЕРОЗНЫХ ПОЛОСТЯХ В ФИЛОГЕНЕЗЕ
Резцов О.В.

215 3D ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОДИНОЧНЫХ ДОРМАНТНЫХ МИКРОСФЕР ИЗ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА СО ВТОРИЧНОЙ РЕПАРАТИВНОЙ АКТИВАЦИЕЙ IN VITRO
Репин В.С., Сабурина И.Н., Борзенок С.А., Кошелева Н.В., Горкун А.А., Зурина И.М.

216 РЕКОНСТРУКЦИЯ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ДЕФЕКТА УРЕТРЫ С ПОМОЩЬЮ ЖИВОГО ЭКВИВАЛЕНТА КОЖИ
Роговая О.С., Файзулин А.К., Васильев А.В., Терских В.В.

217 АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦ В КАЧЕСТВЕ НОСИТЕЛЕЙ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ОСТЕОГЕНЕЗА
Родина А.В., Москалева Е.Ю., Тенчурин Т.Х., Хоменко А.Ю., Григорьев Т.Е., Северин С.Е.

218 РЕПАРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КОСТНОМОЗГОВЫХ МСК РАЗНОВОЗРАСТНЫХ КРЫС
Рое М.П., Буравкова Л.Б.

219 ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАТА ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ В ЛЕЧЕНИИ СПАСТИЧЕСКИХ ФОРМ ДЦП
Романов Ю.А., Тараканов О.П., Радаев С.М., Зотова Н.С., Дугина Т.Н., Ряскина С.С., Смирнов В.Н., Сухих Г.Т.

220 МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АНГИОГЕНЕЗА В КОЖНЫХ ПОКРОВАХ ЧЕЛОВЕКА И ПОИСК МЕТОДОВ ИХ КОНТРОЛЯ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ТЕРАПИИ
Романова О.А., Веир Л., Силина С.Г., Пальцев М.А., Пантелеев А.А.

221 НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ОСНОВЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ
Россиев В.А., Макаров С.В., Корымасов Е.А., Сивак В.Ф., Казанцев А.В., Купцов Д.Н.

222 РАЗВИТИЕ МЕТОДОВ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ И КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ
Рябинин В.Е., Полевщикова Е.Е., Пушкарев С.А., Попков П.Н., Синицкий А.И.

223 ОТДАЛЕННЫЕ 8-ЛЕТНИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ И ЭХОКАРДИОГРАФИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ВНУТРИКОРОНАРНОГО ПЕРЕНОСА АУТОЛОГИЧНЫХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА
Рябов В.В., Суслова Т.Е., Киргизова М.А., Марков В.А., Карпов Р.С.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

224 ВВЕДЕНИЕ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ/ПЛАЦЕНТАРНОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПОМОГАЕТ ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА
Рябов С.И., Гринь А.А., Чехонин В.П., Смирнов В.А., Звягинцева М.А., Павлович Е.Р., Смирнов В.Н.

225 МЕЗЕНХИМО-ЭПИТЕЛИАЛЬНАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ В ОДИНОЧНЫХ МИКРОСФЕРАХ: РОЛЬ КОМПАКТИЗАЦИИ
Сабурина И.Н., Репин В.С., Колокольцова Т.Д., Борзенок С.А., Зурина И.М., Кошелева Н.В., Горкун А.А.

226 КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЛЕЧЕНИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ АХИЛЛОВА СУХОЖИЛИЯ
Савинцев А.М., Дегтярев О.М., Матвеев Л.А., Багаева В.В.

227 ЛЕЧЕНИЕ ПЕРЕЛОМОВ ПРОКСИМАЛЬНОГО ОТДЕЛА БЕДРЕННОЙ КОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
Савинцев А.М., Малько А.В., Багаева В.В.

228 ВЛИЯНИЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК НА РЕГЕНЕРАЦИЮ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН
Сазонов С.В., Коротких А.Г.

229 БИОАКТИВНЫЕ ГЕТЕРОГЕННЫЕ БИОПОЛИМЕРНЫЕ ГИДРОГЕЛИ В ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ И РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ
Севастьянов В.И., Перова Н.В., Шагидулин М.Ю., Пономарева А.С., Готье С.В.

230 ОЦЕНКА СВОЙСТВ СОСУДИСТОГО ГРАФТА ИЗ ПОЛИКАПРОЛАКТОНА, СОДЕРЖАЩЕГО VEGF
Севостьянова В.В., Головкин А.С., Филипьев Д.Е., Глушкова Т.В., Бураго А.Ю., Сергеева Т.Ю., Барбараш Л.С.

231 МАТЕРИАЛЫ – СКАФФОЛДЫ И ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ НА ИХ ОСНОВЕ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ КОСТНО-ХРЯЩЕВЫХ ДЕФЕКТОВ: СОВРЕМЕННЫЕ РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ
Сергеева Н.С., Баринов С.М., Рещетов И.В., Тепляков В.В., Свиридова И.К., Комлев В.С., Попов В.К.

232 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛАЗЕРНОГО ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ОРГАНОТИПИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ УЗЛОВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ И МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ
Сергеева Т.В., Жаров Е.В., Алёхин А.И., Васильев В.В., Киселёва Е.В., Богатырев О.П., Базаева В.В., Луковкин А.В.

233 ДЕТЕРГЕНТЫ ВЛИЯЮТ НА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЗАСЕЛЕНИИ БЕСКЛЕТОЧНЫХ СОСУДИСТЫХ ПРОТЕЗОВ
Сергеевичев Д.С., Васильева М.Б., Субботовская А.И., Васильев В.Ю.

234 ПЕПТИДЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА, УМЕНЬШАЮТ ВЫРАЖЕННОСТЬ ПОЧЕЧНОЙ И ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
Склифас А.Н., Темнов А.А., Вагабов А.В., Рогов К.А., Лебедев М.П.

235 ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОНЦЕНТРАТА КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ РЕЗИСТЕНТНЫМИ ДЕПРЕССИЯМИ
Смулевич А.Б., Дубницкая Э.Б., Воронова Е.И., Морозова Я.В., Радаев С.М.

236 ПРИМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАТА КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ В ТЕРАПИИ ИПОХОНДРИЧЕСКИХ РЕМИССИЙ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ
Смулевич А.Б., Дубницкая Э.Б., Павлова Л.К., Морозова Я.В.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

237 РЕГЕНЕРАЦИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В ПРИСУТСТВИИ ГЕТЕРОГЕННОГО БИОПОЛИМЕРНОГО ГЕЛЯ И МЕМБРАНЫ ИЗ БАКТЕРИАЛЬНОГО СОПОЛИМЕРА, АРМИРОВАННОЙ ВИКРИЛОВОЙ СЕТКОЙ
Соловьёва И.В., Перова Н.В.

238 ПРОТЕОМНЫЕ МАРКЕРЫ АДЕНОМИОЗА
Сорокина А.В., Радзинский В.Е., Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П.

239 ВЛИЯНИЕ ТРАНСПОРТИРОВКИ ТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА НА СВОЙСТВА ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
Степанов А.А., Коротаев Е.В., Рабинович В.И., Астахова Л.П., Пономарев С.А.

240 ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В СЕРДЦЕ ПРИ ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ И СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
Степанова О.В., Куликова Т.Г., Чадин А.В., Полтавцева Р.А., Масенко В.П., Терещенко С.Н., Сухих Г.Т.

241 РЕПАРАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА СУПЕРНАТАНТА РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ
Супруненко Е.А., Василегина Ю.И., Бурлакова О.В., Голиченков В.А.

242 ВЗАИМОСВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ РЕЗИДЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК С МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ
Сухачева Т.В., Чудиновских Ю.А., Еремеева М.В., Серов Р.А., Бокерия Л.А.

243 ГИРУДОТЕРАПИЯ В СИСТЕМЕ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ
Сухов К.В.

244 КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ХИРУРГИИ И НА ЭТАПАХ РЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ И ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ
Сухих Г.Т., Манукян Г.В., Мусин Р.А.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

245 АКТИВАЦИЯ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТОК ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЧ ИЗЛУЧЕНИЯ
Терехов И.В., Бондарь С.С.

246 ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В МОДЕЛИ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕЙРОНОВ IN VITRO
Тимофеева А.В., Бобров М.Ю., Жанин И.С., Гусар В.А., Пинелис В.Г.

247 РЕГЕНЕРАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОТЕНЦИРОВАННЫХ ОРГАНОПРЕПАРАТОВ
Томкевич М.С.

248 ЗАЖИВЛЕНИЕ ЯЗВЕННОГО ДЕФЕКТА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА У КРЫС
Трубицына И.Е., Тимен Л.Я., Ткаченко Е.В., Варванина Г.Г., Смирнова А.В., Чикунова Б.З.

249 БАЛАНС БИОГЕННЫХ АМИНОВ И НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА У КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЯЗВЕ
Трубицына И.Е., Ткаченко Е.В., Варванина Г.Г., Смирнова А.В., Чикунова Б.З.

251 ПРОДУКТЫ АПОПТОЗА ВЛИЯЮТ НА МИГРАЦИЮ МЕЗЕНХИМНЫХ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ РЕЗИДЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
Тюкавин А.И., Белостоцкая Г.Б., Голованова Т.А., Галагудза М.М., Венков А.А., Захаров Е.А., Буркова Н.В., Ивкин Д.Ю., Карпов А.А.

252 РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АУТОГЕННЫХ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ
Улыбин А.И., Зубанов П.С., Костюкова С.В., Зверева А.Е., Макеев О.Г.

253 ДЕЙСТВИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ ДЫХАНИЮ НА ВЕНТИЛЯЦИЮ И ГАЗООБМЕН В ЛЕГКИХ У БОЛЬНЫХ ХОБЛ
Урюмцев Д.Ю.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

254 ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЦИТОКИНОВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РЕГЕНЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ТРАНСПЛАНТАТОВ СОСУДОВ И КЛАПАНОВ СЕРДЦА
Фадеева И.С., Муратов Р.М., Сачков А.С., Бритикова Д.В., Акатов В.С.

255 СУБПОПУЛЯЦИЯ ГЕТЕРОГЕННОЙ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК, ОТВЕЧАЮЩАЯ ПО МЕХАНИЗМУ КАЛЬЦИЙ-ИНДУЦИРОВАННОГО ВЫБРОСА КАЛЬЦИЯ
Фадеева Ю.И., Тюрин-Кузьмин П.А., Сысоева В.Ю., Котова П.Д.

256 МЕХАНИЗМЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК
Фатхудинов Т.Х.

257 ИЗМЕНЕНИЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙРОНОВ СПИННОМОЗГОВЫХ ГАНГЛИЕВ В ПРОЦЕССЕ РЕГЕНЕРАЦИИ ГЛУБОКОЙ РАНЫ КОЖИ С ПОДЛЕЖАЩИМИ ТКАНЯМИ
Фетисов С.О., Алексеева Н.Т., Кварацхелия А.Г.

258 МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ИЗ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН
Хайдар Сахаб А, Третьяк С.И.

259 ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРЕЭКЛАМПСИИ
Халфорд-Князева И.П., Самоходская Л.М., Радзинский В.Е., Яровая Е.Б.

260 ОПЫТ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ
Хубутия М.Ш., Михайлов И.П., Боровкова Н.В., Пономарёв И.Н., Александрова И.В., Кудряшова Н.Е., Гольдина И.М.

261 ПРИМЕНЕНИЕ КОМБИНАЦИИ ММСК И ДЕРМАЛЬНОГО МАТРИКСА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
Хубутия М.Ш., Похитонов Д.Ю., Боровкова Н.В., Филиппов О.П., Клюквин И.Ю., Пономарёв И.Н., Шугай С.В., Андреев Ю.В..

262 МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЗАЖИВЛЕНИЯ ВЕНОЗНЫХ ЯЗВ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ У ПОЖИЛЫХ БОЛЬНЫХ
Чекмарева И.А, Паклина О.В., Матвеев Д.В., Семенов С.В., Снигоренко А.С., Абдувосидов Х.А., Ломакин А.А.

263 МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕПАРАЦИИ ТКАНЕЙ У БОЛЬНЫХ СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ
Чекмарева И.А., Паклина О.В., Гордиенко Е.Н., Блатун Л.А.

264 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАКТОРОВ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ
Челомбитько О.В., Бондарович Н.А., Останков М.В., Димитров А.Ю.

265 РЕГЕНЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КАРДИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ЭКСПЛАНТА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ ЧЕЛОВЕКА
Чепелева Е.В., Павлова С.В., Малахова А.А., Перовский П.П., Дементьева Е.В., Покушалов Е.А., Закиян С.М.

266 СТИМУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ КРИОПРЕЦИПИТАТА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ С ДИФФУЗНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ
Черноусов А.Ф., Хоробрых Т.В., Карпова Р.В.

267 ФУНКЦИЯ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ У БОЛЬНЫХ ХОБЛ С СОПУТСТВУЮЩЕЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ДО И ПОСЛЕ ПРИМИНЕНИЯ ТРИМЕТАЗИДИНА И НИЛИ
Черных Ю.Н., Цветикова Л.Н., Мясищева О.В.

268 МУЛЬТИПОТЕНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ТРОФОБЛАСНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА
Шаблий В.А., Кучма М.Д., Кирик В.М., Онищенко А.Н., Шаблий Ю.Н., Лукаш Л.Л., Лобынцева Г.С.

269 СОЧЕТАННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КП И ММСК КАК ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД КОРРЕКЦИИ И ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е., Ильинский И.М., Можейко Н.П., Волкова Е.Н.[1], Аврамов П.В., Люндуп А.В., Перова Н.В., Севастьянов В.И., Готье С.В.

270 СВЯЗЬ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ГЕМОДИНИМИКИ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА
Шахнович П.Г., Моргулис Б.А., Свистов А.С., Черкашин Д.В., Онохин К.В., Шуленин К.С., Аланичев А.Е., Хасанова Е.Н.

271 ПРИМЕНЕНИЕ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТОВ В КОМПЛЕКСЕ С АУТОЛОГИЧНЫМИ ФИБРОБЛАСТАМИ В МЕТОДЕ ВНУТРИКОСТНОГО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ КОНЕЧНОСТЕЙ
Шевцов М.А., Галибин О.В., Юдинцева Н.М., Блинова М.И., Пинаев Г.П., Питкин М.Р.

272 КОНТРОЛЬ ТРИНСКРИПЦИОННОГО СТАТУСА ГЕНОВ Х-ХРОМОСОМЫ ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИНИЙ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И ИХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
Шевченко А.И., Захарова И.С., Сметанина М.А., Закиян С.М.

273 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ КОРРЕГИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ НА ТЕЧЕНИЕ СИАЛАДЕНИТА У КРЫС
Шепитько В.И., Ерошенко Г.А., Якушко Е.С., Вильховая Е.В., Шепитько И.В.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

274 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ И БИОДЕГРАДАЦИИ ПЛАСТИНЧАТЫХ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗИРОВАННЫХ МАТРИЦ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ
Шехтер А.Б., Гуллер А.Е., Винаров А.З., Истранов Л.П., Абоянц Р.К., Истранова Е.В., Люндуп А.В., Данилевский М.И., Бутнару Д.В., Елистратов П.А., Машин Г.А., Титов А.С., Глыбочко П.В.

275 ФОРМИРОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ГРУПП ПАЦИЕНТОВ С SMN ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ
Шокарев Р.А., Кривенцова Н.В., Горская Н.Е., Линде В.А.

276 БИОАКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА В СЕРДЦЕ И НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КРЫС ПРИ ОДНОКРАТНОМ КРАТКОВРЕМЕННОМ ДЕЙСТВИИ МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ДАКТИНОМИЦИНА
Шорников А.И., Меркулова Л.М., Гурьева К.С.

278 ИЗМЕНЕНИЯ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОК ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ СЛИЗИСТОЙ ВЛАГАЛИЩА ДЛЯ ЕЕ РЕПАРАЦИИ ПРИ ПОМОЩИ ЛАЗЕРНОЙ СИСТЕМЫ SMARTXIDE2 V2LR
Шульчина И.В., Ищенко А.И., Жуманова Е.Н., Ищенко А.А., Горбенко О.Ю.

279 ГЕННО-КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ МОДЕЛИРУЕМОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК (ММСК), ТРАНСФЕЦИРОВАННЫХ НЕВИРУСНЫМ ВЕКТОРОМ ГЕНА VEGF
Шуман Е.А., Коротков А.В., Макеев О.Г.

280 ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТОВ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ОТОРИНОЛАРИНГОЛОГИИ
Щербаков Д.А.

281 ДЛИТЕЛЬНОСТЬ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ
Щуров В.А., Щуров И.В.

>>> Для перехода на тезис кликните на соответствующий пункт содержания

282 УРОВЕНЬ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СИЛЫ МЫШЦ ПОСЛЕ ПЕРЕЛОМОВ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ
Щуров В.А., Хубаев Н.Д., Скрипников А.А., Митина Ю.Л.

283 ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МСК ЖТ В ПРИСУТСТВИИ ИБУПРОФЕНА
Эшмотова Г.К., Бухарова Т.Б.[1] Антонов Е.Н., Васильев А.В., Попов В.К., Вихрова Е.Б., Минаева С.А., Капанадзе Г.Д., Ревякин А.О., Гольдштейн Д.В., Волков А.В.

284 ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА БЕЛКОВ ВКМ И АКТИВНОСТИ ММП У ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ РАЗНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
Юдинцева Н.М., Воронкина И.В., Смагина Л.В., Пинаев Г.П.

285 ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЛУЧЕВОМ ПОВРЕЖДЕНИИ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ОРГАНОВ
Южаков В.В., Коноплянников А.Г., Яковлева Н.Д., Севанькаева Л.Е., Ингель И.Э.

286 ОЦЕНКА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ КЛЕТОК ФЕТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ В МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АДЪЮВАНТНОГО АРТРИТА
Ямпольская Е.Е., Бондарович Н.А., Гольцев А.Н.