

Краткий отчет по выполнению темы государственного задания

Тема: Тестирование эффектов клеточной терапии при моделировании различных ишемических состояний на животных (Экспериментальные разработки).

Исполнители:

Д. м. н., руководитель института экспериментальной медицины М. М. Галагудза,
д. м. н., зав. НИЛ системного кровообращения А. И. Тюкавин,
д. м. н., зав. группой генно-клеточной инженерии С. В. Анисимов
д. м. н., вед. н. с. НИЛ системного кровообращения Н. В. Буркова
к. м. н., зав. НИЛ биопротезирования и кардиопротекции Д. И. Курапеев
к. б. н., мл. н. с. НИЛ системного кровообращения Т. А. Голованова
к. б. н., ст. н. с. НИО экспериментальной физиологии и фармакологии Г. Б. Белостоцкая
зав. биобанком М. В. Пузанов
к. б. н., мл. н. с. НИЛ системного кровообращения Д. Ю. Ивкин
ст. н. с. НИЛ системного кровообращения Е. А. Захаров
мл. н. с. НИЛ системного кровообращения И. В. Нерубацкая
мл. н. с. НИЛ нанотехнологий А. А. Карпов

Цель работы — создание экспериментальных моделей ишемии и изучение эффектов клеточной терапии на размеры ишемического повреждения, скорость репаративных процессов и ангиогенез.

Основные результаты

Разработана эффективная и репрезентативная модель ишемически-реперфузионного повреждения миокарда у крыс в хроническом эксперименте путем наложения лигатуры на левую коронарную артерию. Создана эффективная методика интрамиокардиального периинфарктного введения мезенхимных стволовых клеток (МСК). В результате проведенных исследований первичных культур мезенхимных стволовых клеток из красного костного мозга и висцеральной жировой ткани крыс охарактеризована морфология МСК и продемонстрирована высокая скорость их пролиферации. Установлено, что введение МСК из красного костного мозга через 7 суток после моделирования ишемического повреждения миокарда приводило к достоверному уменьшению размера постинфарктного рубца и улучшению функционального состояния левого желудочка (рис. 1). Напротив, введение того же количества МСК из жировой ткани не сопровождалось кардиопротективным эффектом.

Разработана эффективная методика индукции апоптоза с помощью лазерного излучения в культуре фибробластов. Установлена доза воздействия лазером (александрит), вызывающая массивный переход клеток с флуоресцентной меткой в кожу. Установлено, что лазерное облучение в дозе, вызывающей апоптоз в культуре фибробластов, стимулирует переход мезенхимальных клеток из крови в кожу. Деструктивные изменения в коже по типу некроза блокируют этот процесс. Результаты исследования позволяют расценивать инициацию апоптоза в тканях как один из физиологических механизмов адресного привлечения стволовых клеток из кровотока в органы-мишени целостного организма. Таким образом, можно утверждать, что сигнальные молекулы, привлекающие мезенхимальные стволовые клетки в ткани, появляются в результате программированной гибели клеток.

В результате проведенных экспериментов разработана эффективная и репрезентативная модель. Разработана эффективная и репрезентативная методика интрацеребральной трансплантации МСК красам, которая может быть использована для доклинического тестирования эффективности различных нейропротективных препаратов. Изучена динамика изменения плотности микрососудистой сети пиальной оболочки коры головного мозга крыс в течение 2-х лет жизни и выявлено влияние интрацеребральной трансплантации МСК на ангиогенез у животных разных возрастных групп. Было показано, что трансплантация МСК приводит к повышению плотности микрососудистой

сети пиальной оболочки во всех возрастных группах животных в 1,5-1,8 раза по сравнению с интактными и контрольными крысами; плотность артериолярного участка при этом увеличилась в 2,1-2,4 раза (рис. 2).

В результате проведенных экспериментов разработана эффективная и репрезентативная методика изготовления микрокапсул заданного размера с заключенными в них МСК. Подобный метод модификации МСК может быть использован в различных областях медицины для повышения эффективности клеточной терапии, поскольку большая часть инкапсулированных клеток сохраняет жизнеспособность в течение 5 дней (рис. 3). Установлено отсутствие влияния трансплантации микросфер из альгината на нативный миокард в долгосрочном периоде наблюдения.

Отработана методика ультразвукового исследования сердца, позволяющая эффективно оценивать морфофункциональные показатели сердца в динамике. Данная методика широко применима в различных направлениях экспериментального исследования патофизиологических процессов, происходящих в миокарде, а также клеточной терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы.

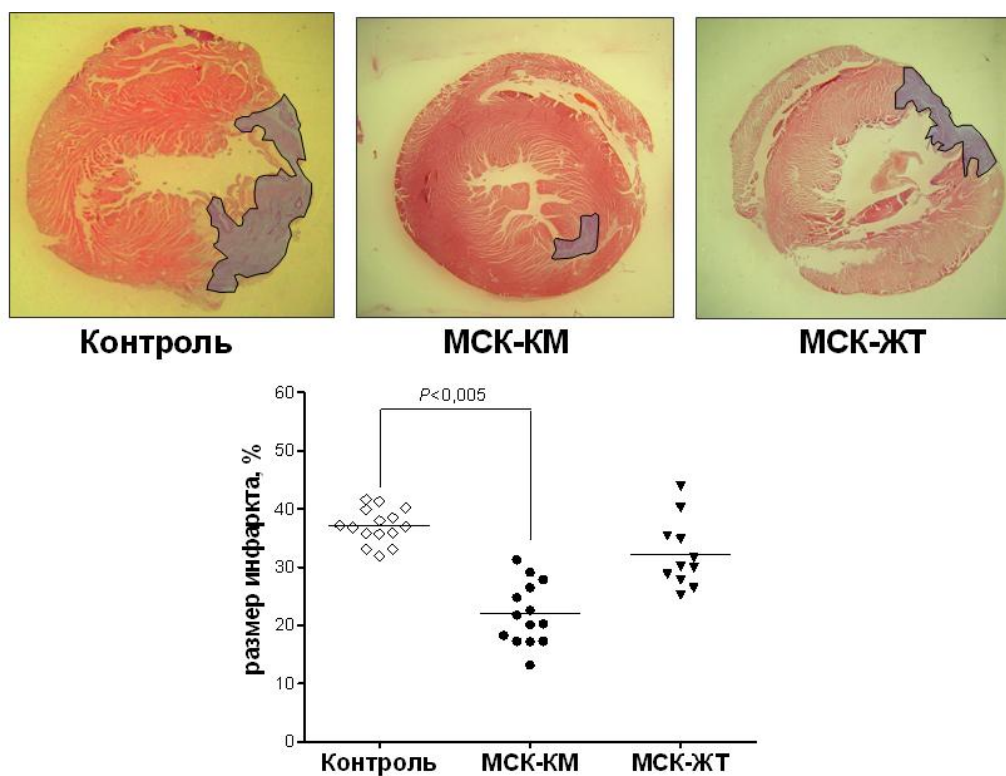


Рисунок 1 - Влияние интрамиокардиальной трансплантации мезенхимных стволовых клеток из красного костного мозга (МСК-КМ) и жировой ткани (МСК-ЖТ) на размер постинфарктного рубца

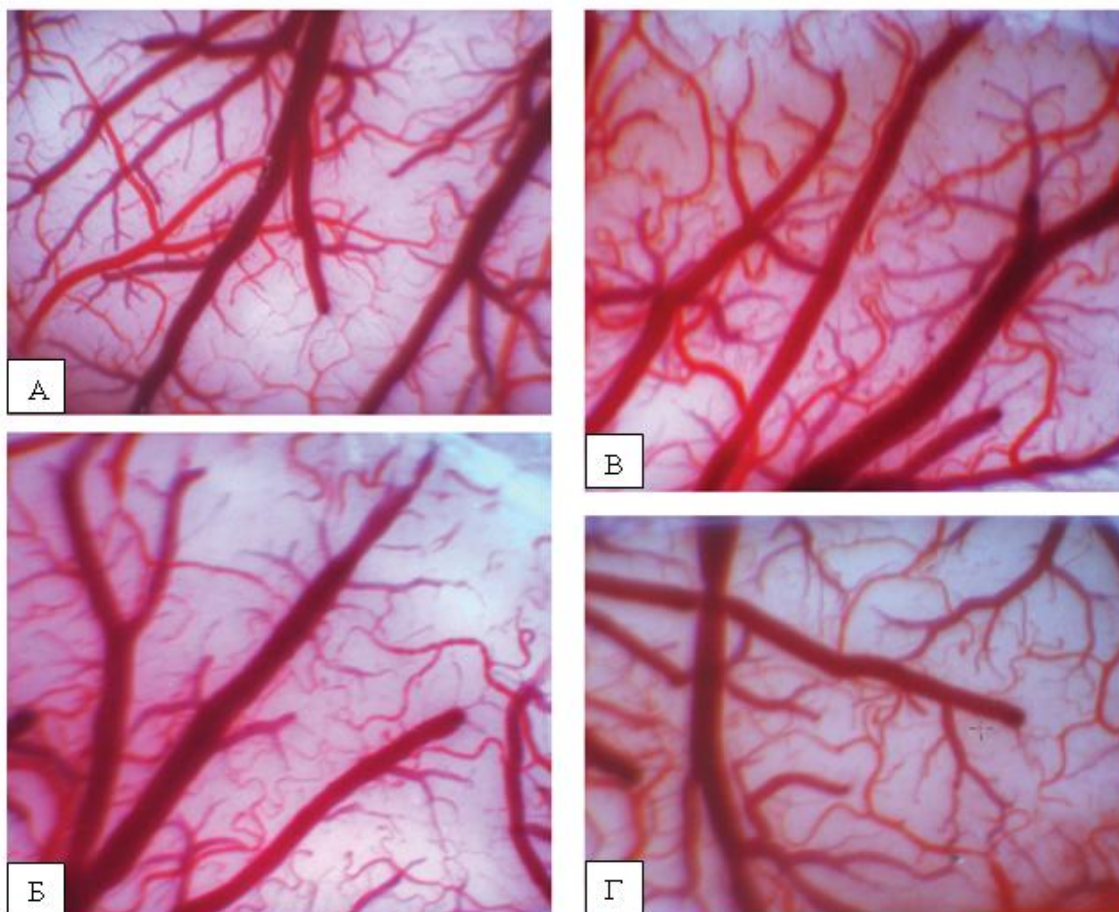


Рисунок 2 - Микрососудистое исследование пиальной оболочки коры полушарий крысы (x40). А – 2-3-месячная интактная крыса; Б – 2-летняя интактная крыса; В – 2-летняя крыса контралатеральное полушарие; 3 недели после трансплантации МСК; Г – 2-летняя крыса контралатеральное полушарие; 1 год после трансплантации МСК

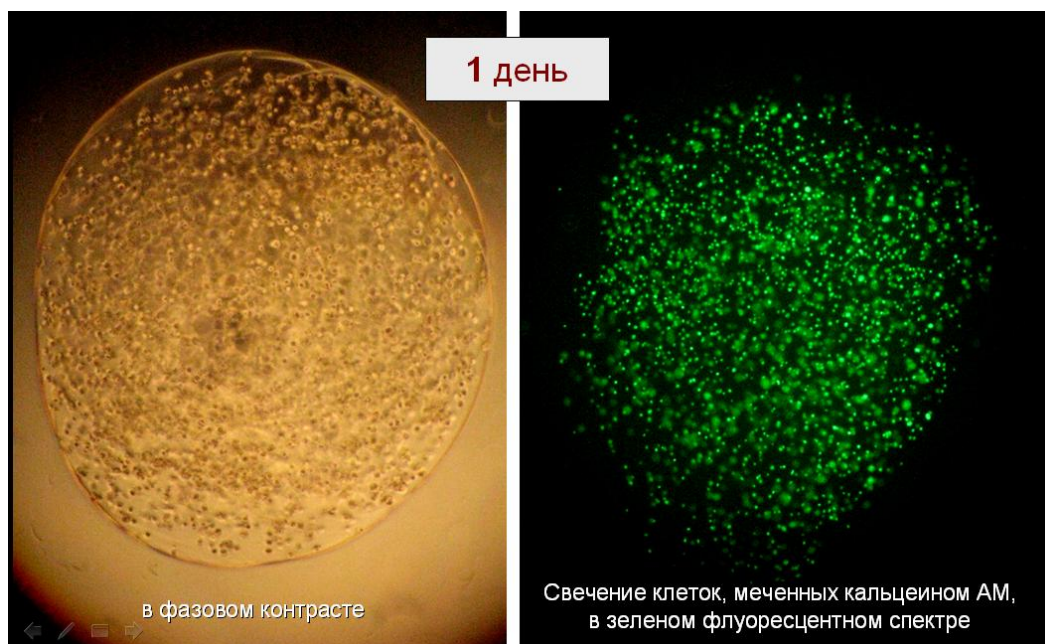


Рисунок 3 - Оценка жизнеспособности инкапсулированных мезенхимных стволовых клеток показывает сохранение жизнеспособности на первый день после инкапсуляции

Список публикаций

1. Baidyuk E. V., Bitkova E. A., Bezborodkina N. N., Karpov A. A., Korshak O. V., Sakuta G. A., Kudryavtsev B. N. Heterogeneity of left ventricular cardiomyocytes from rat heart // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2012. – Vol. 153. – No. 2. – P. 198-200.
2. Тюкавин А. И., Галагудза М. М., Михайлов В. М., Венков А. А., Мчедлидзе Г. Ш., Буркова Н. В. Механизм целевой миграции мезенхимальных стволовых клеток // *Клеточные технологии в биологии и медицине*. – 2012. – № 2. – С. 106-109 (Импакт-фактор РИНЦ 0,287).
3. Карпов А.А., Успенская Ю.К., Ваулина Д.Д. Роль мезенхимных стволовых клеток в терапии ишемического повреждения сердца // *Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова*. – 2012. – № 5. – С. 30–38.
4. Karpov A.A., Uspenskaya Yu.K., Minasian S.M., Puzanov M.V., Dmitrieva R.I., Bilibina A.A., Anisimov S.V., Galagudza M.M. The effect of bone marrow- and adipose tissue-derived mesenchymal stem cell transplantation on myocardial remodeling in the rat model of ischaemic heart failure // *International Journal of Experimental Pathology*. – 2013. – Vol. 94. № 3. – P. 169–177. doi: 10.1111/iep.12017.
5. Соколова И. Б., О. Р. Федотова О. Р., Гилерович Е. Г., Сергеев И. В., Анисимов С. В., Пузанов М. В., Дворецкий Д. П. Влияние интрацеребральной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на ориентировочно-исследовательское поведение старых животных // *Успехи геронтологии*. – 2013. – Т. 26. – № 2. – С. 236–241.
6. Карпов А. А., Ивкин Д. Ю., Драчева А. В., Питухина Н. Н., Успенская Ю. К., Ваулина Д. Д., Усков И. С., Эйвазова Ш. Д., Минасян С. М., Власов Т. Д., Бурякина А. В., Галагудза М. М. Моделирование постинфарктной сердечной недостаточности путем окклюзии левой коронарной артерии у крыс: техника и методы морфофункциональной оценки // *Биомедицина*. – 2014. – № 3. – С. 50–66 (Импакт-фактор РИНЦ = 0,234).