

10-ти пациентам РКБ МЗ РТ с КИНК была произведена внутримышечная инъекция двухкассетного экспрессионного плазмидного вектора rBud-VEGF165-FGF2, обеспечивающего одновременную экспрессию VEGF и bFGF, в количестве 500 мкг плазмидной ДНК. Парафиновые срезы биоптатов икроножных мышц, полученных до и через 3 месяца после инъекции, окрашивали с помощью гематоксилина и эозина для морфометрического анализа, по Массону для выявления коллагеновых волокон, иммуногистохимически с применением антител к ядерному антигену пролиферирующих клеток (PCNA) для оценки пролиферации. Окрашенные срезы подвергали морфологическому анализу с использованием графического пакета ImageJ. Статистическая обработка произведена с помощью программного пакета MS Excel.

Морфологический анализ позволил выявить увеличение числа PCNA-позитивных клеток в мышечной ткани после проведенной терапии. Можно предположить – активацию пролиферации эндотелиальных клеток и миосателлитов в результате проведенной терапии. Морфологический анализ не выявил значимых различий в степени фиброза и морфометрических показателей (диаметр, площадь поперечного сечения) мышечных волокон, до и после проведенной терапии, что говорит об отсутствии прогрессирования заболевания. Таким образом, терапия плазмидным вектором, обеспечивающим экспрессию VEGF и bFGF, способствует регенерации мышечных волокон и замедлению прогрессирования ишемии нижних конечностей.

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЗВЁЗДЧАТЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ И ВВЕДЕНИЯ АЦЕТИЛАМИНОФЛУОРЕНА

Титова А.А., Певнев Г.О., Мавликеев М.О.

**Казанский государственный медицинский университет, Казанский (Приволский) федеральный университет
Научный руководитель – к.м.н., асс. Газизов И.М.**

Сегодня активно разрабатываются методы регенеративной медицины для терапии хронических заболеваний печени. Один из клеточных типов, который может быть использован в клеточной терапии этих заболеваний – звездчатые клетки печени (ЗКП). Целью нашего исследования стало изучение влияния трансплантации звездчатых клеток печени на регенерацию печени крыс после частичной гепатэктомии (ЧГ) и введения 2-ацетиламинофлуорена (ААФ).

Материалы и методы. Из печени интактных крыс выделяли ЗКП, метили вирусом, экспрессирующим зелёный флуоресцентный белок GFP. Сразу после ЧГ клетки вводили в воротную вену крысам, которым ежедневно в течение 5-ти дней до ЧГ и после ЧГ до выведения из эксперимента ежедневно внутривентриально вводили ААФ. Животных выводили из эксперимента через 1, 2, 3, 5, 7 суток после трансплантации ЗКП. Образцы окрашивали иммуногистохимически с использованием антител к EGFP, α -фетопротейну (α -ФП) – маркеру гепатоцитов, циткератину 19 (ЦК19) – маркеру гепатоцитов и холангиоцитов.

Результаты. Через сутки после операции GFP+ гепатоциты не выявлены, они появляются и их число достигает максимума через 2-3 суток, а затем быстро снижается. В первые 2-е суток экспрессия GFP отмечена также в единичных перипортальных синусоидных клетках. На ранних сроках ЦК19 присутствовал только в холангиоцитах и единичных мелких клетках перипортально, число которых постепенно возрастало к 3-м суткам, а затем развивалась выраженная дуктулярная реакция. Уже через сутки после операции большинство гепатоцитов экспрессировало α -ФП, многие гепатоциты имели два ядра. На всех сроках α -ФП интенсивно экспрессировали также мелкие округлые клетки, расположенные перипортально и в синусоидах, а также синусоидные клетки. Через сутки число позитивных гепатоцитов резко снижалось, по-прежнему были видны позитивные двуядерные гепатоциты и синусоидные клетки, и через 2 недели в печени реципиентов можно было наблюдать лишь синусоидные клетки, экспрессирующие α -ФП.

Выводы. Мы предполагаем, что на ранних сроках введенные ЗКП стимулируют активацию региональных стволовых клеток печени реципиентов, которые начинают экспрессировать ЦК19 и α -ФП. Позднее (2-3 сутки по динамике экспрессии GFP) начинается дифференцировка трансплантированных ЗКП в гепатоцитарном направлении, которая носит менее выраженный характер.

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АКТИВИРОВАННЫХ IN VIVO ЗВЕЗДЧАТЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ И 2-АЦЕТИЛАМИНОФЛУОРЕНОМ

Шарипова Э.И., Мавликеев М.О., Титова А.А.

**Казанский государственный медицинский университет, Казанский (Приволский) федеральный университет
Научный руководитель – к.м.н., асс. Калигин М.С.**

В настоящее время применение звездчатых клеток печени (ЗКП) – один из перспективных методов для терапии хронических заболеваний печени, что связано с их возможной принадлежностью к популяции региональных стволовых клеток печени. Ранее была показана эффективность трансплантации активированных *in vivo* ЗКП крысам с токсическим повреждением печени четыреххлористым углеродом (ЧХУ). Цель исследования – изучение влияния трансплантации ЗКП, активированных *in vivo*, крысам с введением ЧХУ и 2-ацетиламинофлуорена (ААФ).

Материалы и методы: активацию ЗКП проводили путем введения в хвостовую вену крыс нитрата свинца. Через 2 суток из печени выделяли ЗКП, трансфецировали их геном зеленого флуоресцентного белка (EGFP) и вводили в воротную вену экспериментальной группы (ЭГ) крыс с острым повреждением печени ЧХУ. За 5 дней до и после операции крысам ЭГ внутривентриально вводили ААФ, блокирующий пролиферацию гепатоцитов. Животных выводили из эксперимента через 1, 2, 3, 5, 7, 14 суток после введения клеток. Парафиновые срезы окрашивали иммуногистохимически с использованием антител к EGFP и маркерам: десмин – ЗКП, ЦК-19 – холангиоцитов, α -SMA – миофибробластов, α -ФП – гепатоцитов, PCNA – пролиферирующих клеток. Контрольной группе (КГ) животных с повреждением печени ЧХУ и ААФ клетки не вводили.

Результаты: EGFP+ гепатоциты и синусоидные клетки были обнаружены в печени ЭГ крыс начиная с 3-х суток после введения клеток. В ЭГ и КГ ЦК-19 экспрессировали только холангиоциты. Экспрессия α -ФП обнаружена в ЭГ с 3-х суток среди синусоидных и овальных клеток, перипортально и в паренхиме печени, в КГ – только на 7-е сутки в синусоидных клетках. Увеличение десмин+ клеток выявлено в ЭГ с максимумом на 3-и сутки, в КГ – в течение всего эксперимента. Экспрессия PCNA в ЭГ достигала максимума к 3 суткам, в КГ – в единичных синусоидных клетках на всех сроках. Ни на одном сроке α -SMA+ клеток выявлено не было.

Вывод: трансплантированные активированные ЗКП участвуют в регенерации печени путем восстановления популяции гепатоцитов и синусоидных клеток, увеличивая скорость и активность регенерации.