

приводит к снижению экспрессии GDNF, как в норме, так и в мутантных линиях.

Из литературных данных известно, что человеческий GDNF не связывается с RET-рецепторами дрозофилы, через которые GDNF запускает внутриклеточные каскады (Abrescia et al., 2005). Однако, согласно нашим данным, возрастание уровня GDNF после температурного воздействия в GDNF трансгенной линии коррелирует с повышением способности к обучению. По-видимому, белки теплового шока (БТШ), которые вырабатываются в ответ на многочисленные стрессорные воздействия, являются компонентами GDNF индуцированного сигнального каскада. Действительно, координированное взаимодействие БТШ70 и БТШ 90 регулирует активность более 100 белков клиентов, в том числе рецепторов стероидных гормонов и многих других сигнальных молекул формируя с ними комплекс с использованием энергии АТФ (Hernández et al., 2002). Известно, что БТШ 90 распознает киназную петлю RET рецептора, электростатически взаимодействует с ней, что увеличивает время полужизни молекулы и ее активность (Citri et al., 2006). Возможно, участие БТШ в работе RET-рецептора способствует принятию им конформации, при которой осуществляется соединение с лигандом человека с последующим запуском каскада сигнальной трансдукции. Вместе с тем известно, что GDNF способен активировать внутриклеточные каскады и независимо от Ret (Saarma, 2000). Так как при повреждениях мозга разной этиологии наблюдается синтез БТШ, то вероятно увеличением активности RET-рецептора опосредуются нейропротективные эффекты GDNF у различных объектов. Предполагается, что БТШ воздействуют и на процессы приживления трансплантата, поскольку участвуют в регуляции активности рецепторов, через которые GDNF осуществляют свою функцию.

А.М. Савинцев, Ш. Ф. Адылов, А.Б. Смолянинов

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА В ЛЕЧЕНИИ ЗАКРЫТЫХ ПЕРЕЛОМОВ ДЛИННЫХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ

*Северо-Западный государственный медицинский университет
им. И.И. Мечникова, СПб ГУЗ «Городская Покровская больница»,
ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург, Россия
doctorsmolvma@inbox.ru*

Цель исследования – оценить эффективность трансплантации аутологичных стволовых клеток костного мозга (АСК КМ) в качестве дополнительной процедуры к хирургическому лечению больных с повреждениями опорно-двигательной системы.

Материал и методы

Основу работы составили 8 больных, которые находились на лечении на

отделении травматологии и ортопедии Городской Покровской больницы Санкт-Петербурга (Россия) в 2007 - 2008 гг. Характер повреждений опорно-двигательной системы был следующий: 1 – с несросшимся переломом большеберцовой кости с краевым дефектом, 1 - с закрытым оскольчатый переломом бедренной кости на границе верхней и средней третей, 4 – с закрытыми медиальными переломами шейки бедренной кости и 2 – с подкожным разрывом ахиллова сухожилия. Мужчин было 5, женщин – 2. Возраст больных варьировал от 30 до 66 лет, средний возраст составил – 47,7 лет.

Среди причин травм можно отметить следующие: кататравма (падение с высоты) (2), падение на горизонтальной плоскости (с высоты роста) (4), перенапряжение мышц голени (2).

Нами была предпринята попытка оптимизации процесса репаративной регенерации при свежем переломе посредством применения АСК КМ.

Результаты

Процесс репаративной регенерации костной ткани оценивали в динамике по результатам рентгенологического обследования через 6, 12 и 24 недели. В качестве контрольной группы использовались больные, со схожими по механизму повреждениями, которым при идентичном характере и локализации перелома выполнялся аналогичный технически металлоостеосинтез без дополнительного применения АСК КМ. Послеоперационное ведение больных было аналогично.

Рентгенологический контроль через 6 недель после операции выявил следующие результаты: у пациента К., которому была введены АСК КМ отмечаются хорошо дифференцируемые элементы периостальной и эндостальной костной мозоли. При этом обращает на себя внимание отсутствие (лизис) костного кортикального осколка имевшегося ранее в месте перелома бедренной кости.

Рентгенологический контроль через 12 недель после операции выявил, что у пациента К., элементы костной мозоли хорошо дифференцируются, линия перелома прослеживается лишь частично по наружной поверхности бедренной кости. Также обращают на себя внимание выраженные участки оссификации по внутренней поверхности бедренной кости.

Анализ рентгенограмм через 24 недели после хирургического вмешательства показал полную консолидацию перелом бедренной кости у больного К.

Таким образом, первые результаты клинического применения АСК КМ отчётливо свидетельствуют о том, что при его трансплантации в место перелома он обладает выраженным остеоиндуцирующим и оптимизирующим действием на течение процессов регенерации костной ткани. АСК КМ могут быть использованы в качестве дополнительной процедуры к хирургическому лечению больных с повреждениями опорно-двигательной системы, позволяющей повысить эффективность основного способа лечения и сократить сроки реби-

литации больных после травмы. Исследования проведено на средства Покровского банка стволовых клеток.

*Смирнова С.А., Хрупина А.С., Айзеништадт А.А.,
Иволгин Д.А., Смолянинов А.Б.*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АБСОЛЮТНОГО КОЛИЧЕСТВА ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ CD34+ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ

НИЛ клеточных технологий Северо-Западного Государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова, ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург, Россия, doctorsmolvma@inbox.ru

Пуповинная кровь (ПК) является альтернативным костному мозгу источником гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) для осуществления трансплантаций при лечении ряда гематологических и наследственных заболеваний. Возможность и успешность проведения трансплантации во многом зависит от количества жизнеспособных стволовых клеток и клеток-предшественников ПК из расчета на килограмм массы тела реципиента. Количественная оценка ГСК основана на выявлении CD34+ клеток методом проточной цитометрии.

Исследование образцов пуповинной крови (n=870), полученных после выделения ядерных клеток (ЯК), проводилось методом проточной цитофлуориметрии с использованием реагентов Stem Kit (Beckman Coulter, USA). Подготовка проб для выявления CD34+ ГСК осуществлялась согласно протоколу производителя. Анализ образцов выполнялся на проточном цитометре FC 500 (Beckman Coulter, США) с программным обеспечением СХР с длиной волны лазерного излучения 488 нм. Стратегия гейтирования соответствовала всем требованиям протокола ISHAGE (International Society of Hematology and Graft Engineering). В качестве контроля, образцы ПК были исследованы с помощью гемоанализатора («ACT diff 2», Beckman Coulter, США), для определения общего количества ЯК.

Оценка образца ПК проходила по нескольким критериям, предъявляемых к трансплантату ПК в международной практике - общее количество ядерных клеток (Total Nuclear Cell - TNC) в образце, количество CD34+ клеток и процент жизнеспособных CD34+ клеток. TNC в образцах ПК составило $156,32 \pm 8,49 \times 10^7$. Количество CD34+ клеток и процент жизнеспособных клеток составил $3,65 \pm 0,41 \times 10^6$ и $97,2 \pm 1,59$ % соответственно. TNC в образцах ПК, исследованных на гемоанализаторе, составило $162,21 \pm 2,28 \times 10^7$. Разница в показаниях гемоанализатора и проточного цитометра подтверждает присутствие в образцах ПК ядерных предшественников эритроцитов, процент которых составил не более 5% от общего количества TNC.

Количественное определение CD34+ ГСК методом проточной цитофлуо-