

Клеточно-опосредованная генная терапия для стимулирования нейрорегенерации после контузионной травмы спинного мозга

Михаил Соколов Евгеньевич¹, Фадеев Филип Олегович²

1 - Казанский государственный медицинский университет, Республика Татарстан, Россия; 2 - Казанский государственный медицинский университет, Республика Татарстан, Россия

E-mail: supermihon@yandex.ru

Введение. Проблема терапии нейродегенеративных заболеваний и нейротравм остаётся одной из актуальных в фундаментальной и практической медицине [1]. Эти состояния сопровождаются гибелью нейронов, дегенерацией аксонов и нарушением функции иннервируемой ткани-мишени. Больные получают симптоматическое лечение, которое существенно не повышает качество жизни и не продлевает ее продолжительность.

Цель исследования: преодоление последствий нейродегенерации и стимулирование нейрорегенерации в спинном мозге после контузионной травмы с помощью генно-клеточного препарата на основе моноклеарных клеток крови пуповины человека и аденовирусных векторов, кодирующих молекулы стимуляторы регенерации, а именно: сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), глиальный нейротрофический фактор (GDNF) и нейрональную молекулу адгезии (NCAM).

Задачи исследования: 1. Создание модели контузионной травмы спинного мозга на мини-свиньях. 2. Получение генно-клеточного препарата на базе банка стволовых клеток КГМУ. 3. Интратекальное введение генно-клеточного препарата мини-свиньям после контузионной травмы спинного мозга. 4. Исследование эффективности генно-клеточной терапии контузионной травмы спинного мозга у экспериментальных животных с помощью поведенческих тестов и электрофизиологических методов.

Результаты исследования. Кровь пуповины разделяли на фракции путем центрифугирования в градиенте плотности фиколла ($\rho=1.077$) в течение 40 минут со скоростью 1 тыс. об. /мин. и последующим отбором интерфазного кольца. Полученные моноклеары инкубировали (37°C, 5% CO₂) в культуральных планшетах в полной культуральной среде RPMI-1640 с добавлением L-глутамин, антибиотиков (пенициллин, стрептомицин) и эмбриональной телячьей сыворотки. На следующие сутки клетки трансдуцировали аденовирусными векторами, кодирующими молекулы, обладающие регенеративным потенциалом, а именно: сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), глиальный нейротрофический фактор (GDNF) и нейрональную молекулу адгезии (NCAM). Аденовирусные вектора разработаны совместно с НИИ эпидемиологии и микробиологии им Н.Ф. Гамалеи. Подбор оптимальной инфекционной дозы был осуществлен в ходе предварительных экспериментов с помощью аденовирусного вектора, экспрессирующего ген зелёного флуоресцирующего белка (GFP) и последующего подсчета количеств живых GFP-позитивных клеток на проточном цитофлуориметре. Подопытные и контрольные животные получили интратекальную инъекцию генетически модифицированных клеток (2 млн клеток в 200 мкл физ. раствора) и 200 мкл физ. раствора, соответственно. Эксперимент включает 3 подопытных и 3 контрольных животных.

Выводы. Сравнительный анализ поведенческих тестов и электрофизиологических, а также результатов морфологических, цитологических и молекулярных исследований позволят установить эффективность терапии контузионной травмы спинного мозга с помощью разработанного нами генно-клеточного препарата.

Источники и литература

- 1) 1. Д.С. Гусева, А.А. Ризванов, А.П. Киясов, Р.Р. Исламов. Генетически модифицированные мононуклеары пуповинной крови – стимуляторы нейрорегенерации при дегенеративных заболеваниях центральной нервной системы. *Гены и клетки* Том VIII, № 3, С. 106-112, 2013