**Сколожабський Андрій Анатолійович. Селективно культивовані гемопоетичні стовбурові клітини у корекції експериментального променевого імунодефіциту. : Дис... канд. наук: 14.03.04 – 2007**

|  |  |
| --- | --- |
| |  | | --- | | **Сколожабський А.А.**Селективно культивовані гемопоетичні стовбурові клітини у корекції експериментального променевого імунодефіциту. – Рукопис.  Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Харківський державний медичний університет МОЗ України, Харків, 2007.  У дисертаційній роботі показано можливість корекції експериментального імунодефіцитного стану у тварин (миші, щури) за допомогою 6-тижневої селективно вирощеної культури ГСК плюрипотентного класу при ксеногенному й ізогенному введенні. На основі розробленої концепції запропонована методологія селективного культивування ГСК, що відрізняється простотою й дешевиною та дає можливість одержання більшої, у порівнянні зі стандартними способами й методами культивування, маси однорідних за фенотиповими ознаками життєздатних стовбурових клітин кісткового мозку. Доведено їхню фізіологічну активність при внутрішньочеревному й внутрішньовенному введенні тваринам у постпроменевий період, що сприяє захисту смертельно Х-опромінених тварин від імунодефіциту й полегшує тяжкість гострої променевої хвороби. | |
| |  | | --- | | У дисертації викладено теоретичне узагальнення й нове вирішення актуальної наукової медичної задачі – корекції вторинних імунодефіцитних станів. Ця наукова задача вирішена шляхом розробки вдосконаленої методології селективного культивування ГСК і патогенетичного обґрунтування можливості їхнього використання для корекції імунодефіцитних станів на прикладі ГПХ в експерименті.   1. Розроблено методологію селективного культивування пунктату кісткового мозку ссавців для одержання гомогенної за фенотиповими ознаками клітинної суспензії ГСК плюрипотентного класу. Концепція ґрунтується на припущенні про різну міцність міжклітинних зв’язків у залежності від ступеня диференціації (тип, клас, рівень тощо), завдяки чому підібраний склад живильного розчину сприяє селективній дисоціації і елімінації баластових клітин та посиленому росту клітин, що залишилися. Цей процес протікає за рахунок: поповнення живильного середовища біологічно активними продуктами розпаду баластових клітин; перегрупування адгезивних контактів і взаємодій як між клітинами, так і між клітинами та матриксом; збільшення ступеня розпластування клітин, унаслідок чого вони мають змогу вловлювати більше молекул фактору росту й поглинати більше живильних речовин, що сприяє посиленню проліферації клітин, які залишаються на субстраті. 2. На основі запропонованої концепції вдосконалена методика культивування кісткового мозку ссавців, що спрощує й прискорює вирощування однорідної за фенотиповими ознаками популяції ГСК і дозволяє отримати в 9,2 рази більшу масу активних стовбурових клітин з одиниці площі поверхні підложки в порівнянні з іншими методами культивування. Удосконалена методика включає низку принципових змін до рецептури традиційного живильного розчину МЕМ. Новий варіант рецептури селективного живильного середовища містить оновлений якісний склад та більш збалансовані масові концентрації деяких складових (амінокислот, вітамінів, мінеральних сполук) з додаванням гормональних регуляторів клітинного поділу, факторів росту та тіазолвмісних сполук для забезпечення вибіркової функції живильного розчину, знезаражування культури та її довготермінового культивування без перевисівань. Запропоновано також оптимальну схему оновлення живильного середовища, що сприяло відновлюванню втрат живильних речовин та буферних сполук, які «виснажувалися» протягом культивування. 3. За допомогою світлового, електронного мікроскопування (за цитоморфологічними показниками та ознаками структури клітинних органел) та імунологічних методів дослідження (за цільовими CD-маркерами CD34, CD90, CD117, CD133, Sca-1) показана відповідність морфологічних і функціональних властивостей селективно культивованих ГСК кісткового мозку щурів класичним характеристикам ГСК плюрипотентного класу. 4. Порівняльне вивчення різних шляхів введення ксеногенних ГСК у дослідженнях на мишах продемонструвало прийнятність внутрішньочеревного введення суспензії клітин поряд із внутрішньовенним. Інші способи (внутрішньом'язове, підшкірне введення, аплікації) виявилися неефективними. 5. У неопромінених тварин внутрішньочеревне введення ксеногенних селективно культивованих ГСК призводить до розвитку вираженого імунного конфлікту, проте внутрішньовенне введення ізогенних селективно культивованих ГСК імунного конфлікту не викликає. В опромінених тварин використання як ізогенних, так і ксеногенних селективно культивованих ГСК (у дозах відповідно 14,9106 і 74,5106 Кл/кг) послаблює тяжкість ГПХ; при цьому введення ксеногенних ГСК супроводжується відстроченим, помірним, але затяжним імунним конфліктом, а введення ізогенних ГСК імунного конфлікту не викликає. | |