

Иммунофлуоресцентное исследование спинного мозга мини-свиней после контузионной травмы на фоне лечения аутологичным лейкоконцентратом, обогащенного генетическим материалом.

Научный руководитель – Исламов Рустем Робертович

*Гарифуллин Р.Р.¹, Измайлов А.А.², Минязева И.С.³, Шевченко Р.В.⁴, Давлеева М.А.⁵,
Фадеев Ф.О.⁶, Петрова В.П.⁷*

1 - Казанский государственный медицинский университет, Медико-профилактический факультет, Казань, Россия, *E-mail: ravil.116rus@mail.ru*; 2 - Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия, *E-mail: gostev.andrei@mail.ru*; 3 - Казанский государственный медицинский университет, Медико-биологический факультет, Казань, Россия, *E-mail: minyazevairina@yandex.ru*; 4 - Казанский государственный медицинский университет, Медико-биологический факультет, Казань, Россия, *E-mail: shev42006@yandex.ru*; 5 - Казанский государственный медицинский университет, Медико-биологический факультет, Казань, Россия, *E-mail: izmailova_maria@mail.ru*; 6 - Казанский государственный медицинский университет, Лечебный факультет, Казань, Россия, *E-mail: philip.fadeyev@gmail.com*; 7 - Казанский государственный медицинский университет, Лечебный факультет, Казань, Россия, *E-mail: pvitaliap@gmail.com*

Ранее нами было установлено, что генно-модифицированные мононуклеарные клетки пуповинной крови человека, экспрессирующие рекомбинантные нейротрофические факторы, являются перспективным лекарственным средством для терапии нейродегенеративных заболеваний. На основании полученных результатов нами был разработан протокол персонифицированной прецизионной генной терапии с помощью аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генетическим материалом.

Целью данного исследования было провести анализ эффективности генной терапии травмы спинного мозга у мини-свиней с помощью аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного рекомбинантными генами, кодирующими сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), глиальный нейротрофический фактор (GDNF) и нейрональную молекулу клеточной адгезии (NCAM).

Мини-свиньи породы вьетнамская вислобрюхая (n=12) весом 15 кг были разделены на 3 группы: опытная (n=4); контрольная (n=4) и группа интактных животных (n=4). У животных за сутки до моделирования контузии из ушной вены забирали 50 мл крови в гемакон. Далее из крови животных выделяли лейкоконцентрат, который трансдуцировали тремя аденовирусными векторами Ad5/35F-VEGF(1/3)+Ad5/35F GDNF(1/3)+Ad5/35F-NCAM(1/3) в гемаконе.

На следующий день у экспериментальных животных моделировали контузионную травму спинного мозга на уровне Th8 и через 4 часа животным из опытной группы внутривенно вводили лейкоконцентрат, обогащенный генетическим материалом (30 мл), а мини-свиньям из контрольной группы - физиологический раствор (30 мл).

Через 60 суток после моделирования нейротравмы в сером веществе у мини-свиней из контрольной и опытной групп морфометрический анализ патологических полостей обнаружил уменьшение площади сохранившейся ткани выше и ниже травмы. Иммунофлуоресцентное окрашивание спинного мозга антителами против белка эффектора апоптоза ниже и выше эпикентра травмы обнаружило Caspase3-позитивные клетки в передних и задних рогах серого вещества. При этом, у контрольных животных клеток, вступивших в апоптоз, было больше, чем у животных на фоне генной терапии. Уровень иммуноэкспрессии белка теплового шока (Hsp27) и калий-хлорного канала (KCC2) не выявил значимых

отличий в сером веществе спинного мозга подопытных животных, относительно интактных мини-свиней. Однако, более высокие значения иммуноэкспрессии Hsp27 и KCC2 были выявлены выше эпицентра травмы спинного мозга у контрольных животных.

Впервые разработан протокол генной терапии контузионной травмы спинного мозга у мини-свиней с помощью аутологичного генетически модифицированного лейкоконцентрата, сверхэкспрессирующего рекомбинантные молекулы VEGF, GDNF и NCAM. На основе полученных данных мы можем предположить, что персонифицированная генная терапия с помощью аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генетическим материалом, оказывает положительное действие на выживание клеток серого вещества и уменьшает показатели клеточного стресса в спинном мозге после нейротравмы. Исследование было поддержано грантом РНФ № 16-15-00010.