ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА СЫВОРОТОЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У КРЫС ПРИ ВИБРАЦИОННО-ШУМОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

[*Н. Г. Абдулкина, К. В. Зайцев, О. Б. Жукова, А. А. Гостюхина, В. А. Воробьев, А. А. Зайцев*](#)

*ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального
медико-биологического агентства» (ЗАО Северск)*

Проведенное исследование было посвящено экспериментальному обоснованию возможности коррекции нарушений при моделировании длительного воздействия повышенных уровней общей вибрации и шума у крыс с помощью клеточных технологий. Полученные результаты продемонстрировали положительные изменения уровней кортикостерона и нейронспецифической енолазы при введении мезенхимальных стволовых клеток на фоне длительного вибрационно-шумового воздействия.

Ключевые слова: производственная вибрация, производственный шум, мезенхимальные стволовые клетки, эксперимент, кортикостерон, нейронспецифическая енолаза, креатинин.

Абдулкина Наталья Геннадьевна — доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе Филиала «Томский научно-исследовательский институт курортологии и физиотерапии» ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (г. Томск), рабочий телефон: 8 (3822) 51-53-88, e-mail: nauka@med.tomsk.ru

Зайцев Константин Васильевич — кандидат медицинских наук, руководитель экспериментальной лаборатории биомедицинских технологий Филиала «Томский научно-исследовательский институт курортологии и физиотерапии» ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (г. Томск), рабочий телефон: 8 (3822) 90-65-17, e-mail: ZaycevKV@med.tomsk.ru

Жукова Оксана Борисовна — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник экспериментальной лаборатории биомедицинских технологий Филиала «Томский научно-исследовательский институт курортологии и физиотерапии» ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства»

(г. Томск), e-mail: exper@med.tomsk.ru

Гостюхина Алена Анатольевна — научный сотрудник экспериментальной лаборатории биомедицинских технологий Филиала «Томский научно-исследовательский институт курортологии и физиотерапии» ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (г. Томск), рабочий телефон: 8 (3822)90-65-17, e-mail: exper@med.tomsk.ru

Воробьев Виктор Александрович — генеральный директор ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (ЗАО Северск), рабочий телефон: 8 (3823) 54-37-03, e-mail: kb81@med.tomsk.ru

Зайцев Алексей Александрович — кандидат медицинских наук, директор Филиала «Томский научно-исследовательский институт курортологии и физиотерапии» ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (г. Томск), рабочий телефон: 8 (3822) 51-20-05, e-mail: niikf@med.tomsk.ru

Введение. Современное производство, как правило, характеризуется сочетанием различных профессионально-производственных факторов, которые при соответствующих условиях могут оказывать негативное влияние на здоровье работника [1]. Медицина, базирующаяся на применении массивных доз фармацевтических препаратов, переживает кризис в лечении хронических экономически значимых заболеваний человека. В настоящий период поиск новых подходов патогенетической терапии, изучение тонких механизмов регуляции функций клеток остаются наиболее важными направлениями биомедицинских исследований. Успешное внедрение в практику экспериментальной биологии методов длительного культивирования стволовых клеток и клеток-предшественниц разных тканей животных и человека, выделенных из эмбрионов, плодов и взрослых организмов, создали предпосылки для разработки технологий заместительной клеточной и тканевой терапии заболеваний различной этиологии [3].

В связи с вышеизложенным *целью данного исследования* явилась оценка влияния мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на уровни кортикостерона, нейроспецифической енолазы и креатинина в сыворотке крови у крыс с моделью длительного вибрационно-шумового воздействия.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование было выполнено на 30-ти половозрелых крысах-самцах породы Wistar массой 270–306 г, содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе со свободным доступом к воде. Все процедуры с животными выполняли в соответствии с международными правилами и нормами (European Communities Council Directives of 24 November 1986, 86/609/EEC). Экспериментальные животные случайным образом были разделены на 2 группы:

1. 10 крыс, которые находились в клетках, установленных на неработающей виброплатформе Clear Fit CF-PLATE Compact 101 — контрольная группа;
2. 20 крыс, которых подвергали воздействию общей вертикальной вибрации (частота 35–40 Гц) и шума (94 Дба) с помощью виброплатформы Clear Fit CF-PLATE Compact 101 — опытная группа.

Процедуру вибрационно-шумового воздействия выполняли ежедневно по 1 часу в течение

30-ти дней. Животных по 5 особей помещали в 2 клетки, установленные на виброплатформе Clear Fit CF-PLATE Compact 101. Клетки накрывали решетчатыми крышками, на которые укладывали металлический диск весом 30 кг для утяжеления. Работающая виброплатформа генерировала общую вибрацию вертикальной направленности с частотой 35–40 Гц и шум в 94 Дба, что превышало предельно допустимые величины на 40 % (СН 2.2.4/2.1.8.562-96). После формирования модели патологического состояния экспериментальные крысы были случайным образом разделены на 2 группы. Животным первой опытной группы внутрибрюшинно вводили 3×10^6 МСК, выделенных из костного мозга крыс. Животным другой опытной группы выполняли инъекцию эквивалентного объема чистой питательной среды для культивирования клеток.

Для получения культуры МСК мононуклеарные клетки, выделенные из костного мозга крыс, культивировали в атмосфере 5 % углекислого газа при температуре 37 °С и 100 % влажности. В результате культивирования на дне флакона формировались колонии адгезированных мезенхимальных клеток. Смену среды проводили каждые 3-е суток для элиминации неприкрепившихся клеток. В результате на 6–7-е сутки образовывалось примерно 60–70 % монослоя. На 12–14-е сутки культивирования формировался 95–100 % монослой МСК. После завершения культивирования питательную среду сливали. Монослой клеток снимали с адгезионной поверхности флаконов, инкубируя в течение 7–10 мин при 37 °С в присутствии 5–7 мл 0,25 % раствора трипсина («ПанЭко», РФ). Полученную клеточную суспензию отмывали чистой питательной средой, затем оценивали жизнеспособность и подсчитывали клеточность. Микроскопию проводили на микроскопе Optika XDS-2SFL (Италия) в режиме 20-кратного увеличения.

Через 14 суток после введения МСК всех животных выводили из эксперимента путем одномоментной декапитации под CO_2 -наркозом. В сыворотке крови крыс определяли содержания креатинина стандартным биохимическим методом, уровни нейронспецифической енолазы и кортикостерона — с использованием твердофазного неконкурентного иммуноферментного анализа согласно инструкции, предлагаемой производителями тест-систем («Fujirebio Diagnostics AB», Швеция и «IBL», Германия соответственно).

При обработке полученных данных были использованы методы статистического описания, включающие проверку на нормальность распределения исследуемого признака по критерию Шапиро-Вилка, расчет медианы (M), верхнего и нижнего квартилей ($Q_1; Q_3$), межгрупповое сравнение показателей с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты исследований и обсуждение. Измерение концентрации кортикостерона проводили как гормона стресса [6]; нейронспецифической енолазы — для оценки повреждения клеточных мембран нейронов головного мозга [2]; креатинина — как одного из показателей утомляемости мышц [7]. Полученные результаты применения МСК при моделировании длительного вибрационно-шумового воздействия характеризуются статистически не различающимися уровнями кортикостерона и нейронспецифической енолазы с контрольной группой, тогда как у крыс без клеточной терапии эти показатели статистически значимо были выше (см. табл.).

Концентрация кортикостерона, нейроспецифической енолазы и креатинина в сыворотке крови у крыс с моделью вибрационно-шумового воздействия после клеточной терапии, Me ($Q_1; Q_3$)

Исследуемые сывороточные показатели	Крысы контрольной группы (n = 10)	Крысы с моделью вибрационно-шумового воздействия (n = 10)	Крысы с моделью вибрационно-шумового воздействия, которым вводили МСК (n = 10)	P – уровень значимости межгрупповых различий
	1	2	3	
Содержание кортикостерона, нг/мл	69,25 (46,70;95,50)	148,60 (126,30;199,20)	64,95 (27,10;108,65)	p ₁₋₂ = 0,007 p ₁₋₃ = 0,859 p ₂₋₃ = 0,019
Содержание нейронспецифической енолазы, мкг/л	0,00 (0,00;0,10)	0,10 (0,10;0,20)	0,00 (0,00;0,10)	p ₁₋₂ = 0,036 p ₁₋₃ = 0,854 p ₂₋₃ = 0,014
Концентрация креатинина, мкмоль/л	107,70 (103,60;109,50)	166,30 (163,60;172;00)	188,30 (176,00;196,30)	p ₁₋₂ = 0,003 p ₁₋₃ = 0,001 p ₂₋₃ = 0,028

Концентрация сывороточного креатинина у животных обеих опытных групп была выше контроля, что подтверждает факт выраженного мембранопатологического эффекта вибрационно-шумового фактора. Между опытными группами также отмечались статистические различия: концентрации кортикостерона и нейронспецифической енолазы у животных с моделью вибрационно-шумового воздействия были выше, чем у крыс на фоне применения МСК (см. табл.).

Полученные результаты можно объяснить способностью МСК увеличивать количество клеток олигодендроцитной линии в участке повреждения и запускать иммунный отклик в направлении более благоприятного баланса Th1/Th2 за счет клеточной миграции в зону поражения, интеграции, нейтральной трансдифференцировки и стимуляции эндогенного нейро- и ангиогенеза вследствие экспрессии глиального нейротрофического фактора, фактора роста нервов, нейротрофического фактора мозга [4, 5]. Это приводит к коррекции нейрональных повреждений, вызванных длительным вибрационно-шумовым воздействием.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования доказали повреждающий эффект вибрационно-шумового фактора в условиях экспериментальной модели. Полученные при этом результаты могут считаться позитивной оценкой применения МСК при вибрационной патологии в силу доказанной эффективности по ряду ключевых сывороточных показателей.

Выводы

1. Установлено, что использованная в эксперименте модель негативного влияния вибрационно-шумового производственного фактора была эффективна в оценке перспективности использования мезенхимальных стволовых клеток в качестве одного из подходов в решении задач регенеративной медицины.
2. Проведенное исследование продемонстрировало положительную динамику изучаемых показателей сыворотки крови (уровни кортикостерона и нейронспецифической енолазы) при введении мезенхимальных стволовых клеток на фоне длительного вибрационно-шумового воздействия.

Список литературы

1. Бесько В. А. Организация медицинского обслуживания работников ЛПУ : производственный принцип / В. А. Бесько // Здоровоохранение. — 2012. — № 5. — С. 30–34.
2. Иммуноферментный анализ нейроспецифической енолазы на основе моноклональных

- антител в оценке проницаемости гематоэнцефалитического барьера при нервно-психических заболеваниях / В. П. Чехонин [и др.] // Российский психиатрический журнал. — 2000. — № 4. — С. 15-19.
3. Петренко А. Ю. Стволовые клетки. Свойства и перспективы клинического применения / А. Ю. Петренко, Ю. А. Хунов, Э. Н. Иванов. — Луганск : Пресс-экспресс, 2011. — 368 с.
 4. Hepatocyte growth factor mediates mesenchymal stem cell-induced recovery in multiple sclerosis models / L. Bai [et al.] // *Nature neuroscience*. — 2012. — Vol. 15, N 6. — P. 862-870.
 5. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce Th2-polarized immune response and promote endogenous repair in animal models of multiple sclerosis / L. Bai [et al.] // *Glia*. — 2009. — Vol. 57, N 11. — P. 1192-1203.
 6. Newman E. M. Corticosterone and dehydroepiandrosterone in songbird plasma and brain : effects of season and acute stress / E. M. Newman, K. K. Soma // *European Journal of Neuroscience*. — 2009. — Vol. 29, N 9. — P. 1905-1914.
 7. The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress : magnitude and time-course / M. J. Nicolaidis [et al.] // *Sports Medicine*. — 2008. — Vol. 38, N 7. — P. 579-606.

THE EFFECT OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON SERUM INDICES IN RATS DURING EXPOSURE TO VIBRATION AND NOISE

[N. G. Abdulkina](#), [K. V. Zaytsev](#), [O. B. Zhukova](#), [A. A. Gostyukhina](#), [V. A. Vorobyev](#), [A. A. Zaytsev](#)

State Budgetary Institution «The Siberian Federal Research Clinical Center under the Federal Medical Biological Agency» (Seversk)

The study is devoted to experimental evidence that justifies a possibility to correct damage after the simulation of prolonged exposure to high levels of whole-body vibration and noise in rats by using cell technologies. The research findings demonstrate positive changes in levels of corticosterone and neuron specific enolase when mesenchymal stem cells are administered to animals affected by prolonged exposure to vibration and noise.

Keywords: industrial vibration, industrial noise, mesenchymal stem cells, experiment, corticosterone, neuron specific enolase, creatinine.

About authors:

Abdulkina Natalya Gennadyevna — Dr. Sci. (Med.), Deputy Director for Science, Tomsk Research Institute of Health Resort Medicine and Physiotherapy of State Budgetary Institution «The Siberian Federal Research Clinical Center under the Federal Medical Biological Agency» (Tomsk), phone: 8 (3822) 51-53-88, e-mail: nauka@med.tomsk.ru

Zaytsev Konstantin Vasilyevich — Cand. Sci. (Med.), Head of Laboratory, Tomsk Research Institute of Health Resort Medicine and Physiotherapy of State Budgetary Institution «The Siberian Federal Research Clinical Center under the Federal Medical Biological Agency» (Tomsk), phone: 8 (3822) 90-65-17, e-mail: ZaycevKV@med.tomsk.ru

Zhukova Oksana Borisovna — Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Tomsk Research Institute of Health Resort Medicine and Physiotherapy of State Budgetary Institution «The Siberian Federal Research Clinical Center under the Federal Medical Biological Agency» (Tomsk), e-mail: exper@med.tomsk.ru

Gostyukhina Alena Anatolyevna — Researcher, Tomsk Research Institute of Health Resort Medicine and Physiotherapy of State Budgetary Institution «The Siberian Federal Research Clinical Center under the Federal Medical Biological Agency» (Tomsk), phone: 8 (3822) 90-65-17, e-mail: exper@med.tomsk.ru

Vorobyev Viktor Aleksandrovich — Executive Director, State Budgetary Institution «The Siberian Federal Research Clinical Center under the Federal Medical Biological Agency» (Seversk), phone: 8 (3823) 54-37-03, e-mail: kb81@med.tomsk.ru

Zaytsev Aleksey Aleksandrovich — Cand. Sci. (Med.), Director, Tomsk Research Institute of Health Resort Medicine and Physiotherapy of State Budgetary Institution «The Siberian Federal Research Clinical Center under the Federal Medical Biological Agency» (Tomsk),

List of the Literature:

1. Besko V. A. Organization of medical services for employees of health care facilities : a production principle / V. A. Besko // Healthcare. — 2012. — Vol. 5. — P. 30-34.
2. An ELISA analysis of neuron-specific enolase based on monoclonal antibodies in evaluating the blood-brain barrier permeability in neuropsychiatric diseases / V. P. Chekhonin [et al.] // Russian Journal of Psychiatry. — 2000. — Vol. 4. — P. 15-19.
3. Petrenko A. Yu. Stem Cells. Properties and prospects of clinical application / A. Yu. Petrenko, Yu. A. Khunov, E. N. Ivanov. — Lugansk : Press-express, 2011. — 368 p.
4. Hepatocyte growth factor mediates mesenchymal stem cell-induced recovery in multiple sclerosis models / L. Bai [et al.] // Nature neuroscience. — 2012. — Vol. 15, N 6. — P. 862-870.
5. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce Th2-polarized immune response and promote endogenous repair in animal models of multiple sclerosis / L. Bai [et al.] // Glia. — 2009. — Vol. 57, N 11. — P. 1192-1203.
6. Newman E. M. Corticosterone and dehydroepiandrosterone in songbird plasma and brain : effects of season and acute stress / E. M. Newman, K. K. Soma // European Journal of Neuroscience. — 2009. — Vol. 29, N 9. — P. 1905-1914.
7. The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress : magnitude and time-course / M. J. Nicolaidis [et al.] // Sports Medicine. — 2008. — Vol. 38, N 7. — P. 579-606.