УДК: 612.67.071.1 : 612.419.014.481

В.М. Кирик, А.Є. Родніченко

Оцінка впливу трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку на імунологічні показники в молодому та старому організмі в різні терміни після опромінення

ДУ "Інститут геронтології АМН України", лабораторія патофізіології та імунології

Ключові слова: гемопоетичні стовбурові клітини, трансплантація кісткового мозку, летальне опромінення

Останнім часом важлива роль приділяється вивченню ранніх та віддалених ефектів трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин для потреб регенеративної медицини.

Мета - порівняти в динаміці регенераторний потенціал дорослих гемопоетичних стовбурових клітин кісткового мозку та їх вплив на окремі показники імунної системи при опроміненні в старому і молодому організмі.

Матеріали та методи. Досліди проведені на самцях мишей лінії СВА/Са. В якості донорів кісткового мозку виступали самці віком 3 місяці, реципієнтами гемопоетичних клітин були самці віком 3 та 20 місяців.

Тварин-донорів забивали під ефірним наркозом методом цервікальної дислокації, стегнові кістки виділяли в стерильних умовах і вимивали з них клітини кісткового мозку стерильним середовищем RPMI-1640 з додаванням 5% фетальної телячої сироватки. Гемопоетичні стовбурові клітини виділяли шляхом центрифугування протягом 10 хв при 1500 об/хв на градієнті концентрації Ficoll (р=1.077 г/мл).

Реципієнтів опромінювали за 3 години до трансплантації за допомогою рентгенологічного апарата РУМ-7 в летальній дозі 9,0 Гр, з потужністю дози 0,8 Гр/хв. Трансплантація клітин проводилась в хвостову вену за допомогою розробленого пристрою для фіксації мишей. Реципієнтам вводили в хвостову вену $9\text{-}10\cdot10^6$ кістковомозкових ядровмісних клітин на мишу в 100 мкл поживного середовища RPMI-1640. Контрольній групі для оцінки летальної дози вводили лише 100 мкл поживного середовища RPMI-1640.

Протягом перших 10 днів після опромінення тварини отримували окситетрациклін в концентрації 100 мг/л з підкисленою кип'яченою водою (1 mM HCl, pH=2,5). Тварин брали в дослід через 3 та 12 тижнів після опромінення і трансплантації гемопоетичних клітин. За 5 днів до забою тварин імунізували внутрішньочеревно 3% зависом еритроцитів барана в дозі $2x10^8$ клітин в 0,2 мл фізіологічного розчину NaCl для оцінки рівня гуморальної імунної відповіді.

У тварин визначали масу тіла, тимуса, селезінки, вміст ядровмісних клітин кісткового мозку, тимуса, селезінки, розраховували тимічний і селезінковий індекс. Для оцінки гуморальної ланки імунної відповіді визначали титр аглютинінів і гемолізинів, кількість антитілоутворюючих клітин селезінки.

Результати та їх обговорення. Після опромінення та трансплантації клітин кісткового мозку вижили 52,6% молодих та 36,1% старих реципієнтів. Пік загибелі тварин спостерігався на 3-5 дні після опромінення та трансплантації клітин.

Через 3 тижні після опромінення та трансплантації клітин кісткового мозку у старих та молодих тварин спостерігалось зниження основних досліджуваних імунологічних показників, в порівнянні з інтактними тваринами. Проте у молодих тварин показники маси тимуса та тимічного індексу були вищі, ніж у інтактних тварин, та тварин через 12 тижнів після експерименту. У старих тварин цього не спостерігалось. У молодих тварин значно зменшилась кількість ядровмісних клітин кісткового мозку через 12 тижнів після опромінення та трансплантації, як в порівнянні з інтактними тваринами, так і з тваринами через 3 тижні після опромінення. Титр аглютинінів і гемолізинів дещо швидше відновлювався у старих реципієнтів, ніж у молодих на 3 і на 12 тижні.

Трансплантація дорослих гемопоетичних клітин не призвела до повного відновлення загальної кількості клітин селезінки і тимуса, маси тимуса та кількості антитілоутворюючих клітин селезінки у старому організмі через 3 тижні після опромінення, але через 12 тижнів ці показники перевищували рівень контрольної групи. У молодих тварин повного відновлення вказаних показників через 12 тижнів після експерименту не спостерігалось.

Висновки

1. Відновлення основних імунологічних показників після опромінення та трансплантації клітин кісткового мозку у молодих та старих тварин проходить по різному.

2. Старі тварини менш стійкі до опромінення в летальних дозах при наступній трансплантації гемопоетичних клітин кісткового мозку.

3. Трансплантація кістковомозкових клітин молодих донорів старим опроміненим реципієнтам викликає покращення деяких імунологічних показників через 3 місяці після трансплантації в порівнянні з інтактними старими тваринами.

© В.М. Кирик, А.Є. Родніченко, 2008