

Использование моноклеарной фракции клеток аллогенного костного мозга мышей B10.GFP для терапии сахарного диабета типа II на мышах линии C57BL/KsJYdb/+

О.И.Степанова, Н.А.Онищенко*, Э.Х.Абдрашитова, Е.А.Степанова*, Л.А.Конопленко, Т.В.Галахова, Т.Б.Бескова, В.А.Зайденев*

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва

*НИИ Трансплантологии и искусственных органов Росздрава, Москва

Ключевые слова: сахарный диабет II типа, моноклеарная фракция, регенерация, реципиент, трансплантация.

Несмотря на определенные достижения последних лет, современная медикаментозная терапия СД по-прежнему не способна надежно препятствовать возникновению и прогрессированию клинических проявлений СД и его осложнений. Поэтому поиск и разработка новых подходов к лечению СД остается актуальной проблемой современной медицины.

Целью настоящего исследования явилось изучение возможности восстановления регуляции углеводного обмена в организме при СД II типа за счет нормализации иммунозависимых межклеточных и клеточно-внутриклеточных взаимодействий, путем введения активных прогениторных клеток моноклеарной фракции аллогенного КМ здоровых доноров.

Для моделирования СД 2-го типа были использованы мыши линии C57BL/KsJYdb/+, которые несут рецессивный ген diabetes – db (8-я группа сцепления, 4-я хромосома). Ген db в гомозиготном состоянии вызывает диабет, обусловленный снижением рецептор-опосредованной чувствительности клеток организма к эндогенному инсулину. В результате развивается гипергликемия, полиурия, глюкозурия, дегрануляция бета-клеток в островках поджелудочной железы и аномальное ожирение.

Следствием гипергликемии является развитие микроангиопатий, активация системной воспалительной реакции и развитие иммунного дисбаланса, который усугубляет рецептор-зависимые нарушения в организме.

Для восстановления нарушенных рецептор-зависимых взаимодействий и коррекции иммунного дисбаланса у мышей C57BL/KsJYdb/+, нами была применена моноклеарная фракция клеток костного мозга (ККМ) здоровых доноров без признаков нарушения в ней иммунно-клеточных взаимодействий.

Донорами ККМ служили мыши линии B10.GFP с геном зеленого белка. ККМ этих мышей использовали для коррекции СД и для выявления присутствия трансплантированных ККМ в организме реципиентов.

ККМ вводили однократно либо в хвостовую

вену в количестве 1,5 млн. клеток либо внутривентриально в количестве 4,5 - 5 млн. клеток после 3-х дневного культивирования.

У мышей-реципиентов ККМ в течение 3-х месяцев, измеряли вес, содержание глюкозы, гликозилированного гемоглобина и липидный профиль в цельной крови. Определяли: вес селезенки, поджелудочной железы, печени и почек. Исследовали криосрезы поджелудочной железы, селезенки, печени и почек на присутствие донорских ККМ с геном зеленого белка.

Установлено, что модель СД 2-го типа является адекватной моделью для изучения эффектов клеточной терапии. Показано, что большая доза ККМ при внутривентриальном введении способна пролонгированно снижать в крови содержание глюкозы и гликозилированного гемоглобина. Отмечено: отсутствие мацерации кожных покровов, снижение аппетита, частоты мочеиспускания и исчезновение полиурии. В контрольной группе мышей вес увеличивался тогда, как в экспериментальной группе животных вес за аналогичный период не изменялся.

Выявлено полное отсутствие признаков жировой дистрофии печени при введении ГККМ мышам с СД II типа. Введенные ГККМ активизируют работу адаптационных механизмов у мышей с СД II типа и нормализуют жировой обмен, увеличив клиренс липидов печени из организма.

Под действием ГККМ в ткани селезенки формируются крупные лимфоидные фолликулы, наблюдается интенсивная бластотрансформация лимфоидных клеток в селезенке, что свидетельствует о восстановлении структуры селезенки, как иммунокомпетентного органа и восстановлении её иммунорегуляторной активности.

Было установлено, что в криосрезах из органов, исследованных на 66 сутки после внутривенного введения ГККМ, эти клетки не погибают, а сохраняют свою жизнедеятельность, мигрируя в разные органы, в том числе в поджелудочную железу и селезенку, стимулируя участие этих органов в регенерации. Так как донорами клеток были мыши B10.GFP с геном зеленого белка, то выявить эти клетки при люминесцентной микроскопии не составила особого труда.

Application of allogeneic mononuclear bone marrow fraction of B10.GFP mice as II type diabetes therapy in C57BL/KsJYdb/+ mice

O.I.Stepanova, N.A.Onischenko*, E.Kh. Abdrashitova, E.A. Stepanova*, L.A.Konoplenko, T.V.Galahova, T.B.Beskova, V.B. Zaidenov*

Scientific Center of Biotechnology, Moscow

**Research Institute of Transplantology and Artificial Organs, Moscow*

Key words: type II diabetes; mononuclear bone marrow fraction; recipient; transplantation.

The aim of our study was to restore the immune imbalance in C57BL/KsJYdb/+ mice with diabetes. We used transgenic B10.GFP mice as donors. Mononuclear bone marrow fraction (BMF) of B10.GFP mice was used for diabetes correction and detection of transplanted cells in recipients. Bone marrow cells (BMC) were injected (single dosing) intravenously or intraperitoneally. Due to immune regulation and inhibition of inflammatory response the regress of clinical implications were observed. The prolonged therapeutic effect was achieved. It was noticed that BMC were able to reduce glucose blood level and appetite. The absence of polyuria and skin maceration were observed. However, the BMC injection normalized the carbohydrate metabolism only within several months.