ВОЗМОЖНОСТИ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ НА МОДЕЛИ СИНДРОМА КОРОТКОЙ КИШКИ

© *Кокорина Арина Александровна [1], Косулин Артем Владимирович [1], Бельдиман Людмила Никитична[1], Кромский Сергей Владимирович[1], Александров Виктор Николаевич[1, 2]*

[1] Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет.
194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2
[2] Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова. 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6

E-mail: El-kaa@mail.ru

Ключевые слова: синдром короткой кишки; тканевая инженерия; внеклеточный матрикс; децеллюляризация; рецеллюляризация; стволовые мезенхимальные стромальные клетки.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром короткой кишки (СКК) является важной клинической проблемой, характеризующейся высокой частотой серьезных осложнений, смертей и социально-экономических последствий. Парентеральное питание обеспечивает только временное решение без снижения риска осложнений. Это в равной степени относится и к хирургическому лечению, в частности, к трансплантации аллогенной тонкой кишки, лишь облегчающей адаптацию кишечника к новым условиям. В настоящей работе на анализе подходов, которые может предложить динамично развивающиеся клеточные технологии, оценен вариант создания персонифицированной тканеинженерной конструкции кишечника, включающий природный каркас кишки и мезенхимальные стволовые стромальные клетки для его заселения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить возможность создания тканеинженерной кишки — внеклеточного матрикса кишки (каркаса), засеянного мезенхимальными стромальными клетками, как альтернативы пересадки аллогенного кишечника при СКК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовано 10 крыс-самцов Wistar возрастом 3–4 месяца и массой 150–180 г. Модель СКК (3 крысы) воспроизводили в асептических условиях, резецируя ≈80 см тонкого кишечника (73% его длины у крысы) у наркотизированного животного, с наложением еюно-цекального анастомоза и последующего контроля массы животных в динамике послеоперационного периода. Каркас тонкой кишки получали из нативной кишки летально наркотизированной крысы-донора. Кишку, выделенную вместе с брыжейкой и канюлированной a. mesentericacranialis, подвергали exvivo детергентно-ферментной обработке. Растворы (деионизированная вода, додецилсульфат натрия, тритон X-100, ферменты) в заданной концентрации в течение 31 ч и в определенной последовательности подавали в орган со скоростью 6 мл/мин посредством двух одноканальных перистальтических насосов Alaris (Швейцария), входящих в открытые контуры перфузии, обеспечивающих обработку органа, как через просвет кишечной трубки, так и через ее микроциркуляторную систему. Качество полученного каркаса оценивали на предмет отсутствия клеток, ядерного материала и состояния внеклеточного матрикса. Использовали световую (AxioLab. A1, ZEISS, Германия), конфокальную (LSM 710, ZEISS, Германия) и сканирующую электронную микроскопию (JeolJSM 6390LA, Jeol, Япония) гистологических препаратов с образцов поперечных срезов децеллюляризированной кишки, подготовленных в соответствии с видом микроскопии. Мезенхимальные стромальные стволовые клетки получали из костного мозга бедренной кости крысы пункцией верхнего эпифиза. Полученный костный мозг тут же ресуспендировали в 1 мл культуральной среды DMEM (БиолоТ, Россия), культивировали в полной среде DMEM в чашках Петри в условиях CO_2-инкубатора при 5% CO_2 и сменой среды каждые третьи сутки до достижения 70–80% конфлюэнтности.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Модель СКК, полученная на крысах 3–4 месячного возраста, судя по интегральному показателю — динамике массы тела, — падению веса животных в первые трое суток с восста-

новлением к пятым суткам послеоперационного периода, отражая типичное для СКК развитие адаптации инвалидного кишечника, может быть достаточной для дальнейшего исследования болезни в эксперименте. В равной мере это касается и протокола получения внеклеточного матрикса кишки, использованного в работе. Децеллюляризация тонкой кишки детергентно-ферментным способом, обусловленная перфузией растворами фактически всех слоев слизистой (за счет их подачи, как в просвет кишки, так и в сосуды, питающие слизистую), предопределили получение матрикса, лишенного клеток, внутриклеточных структур, без явных повреждений и, возможно, с сохраненными сигнальными молекулами, участвующих в хоминге, пролиферации и дифференцировке органоспецифичных клеток. Наличие такого иммунологически инертного матрикса является условием необходимым и достаточным для создания персонифицированной тканеинженерной конструкции при его заселении клетками пациента. Стволовые мезенхимальные стромальные клетки костномозгового происхождения активно пролиферировали и на третьем пассаже были в количестве достаточном для заселения на децеллюляризированный матрикс кишки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, тканевая инженерия предоставляет значительные возможности для конструирования протезов тонкого кишечника. Ведется активный поиск оптимального варианта прекондиционирования exvivo и *in vivo* конструкции для формирования морфофункционального аналога кишки, как альтернативы аллогенного кишечника или его части.