

REFERENCES

1. Kita K., Lee J. O., Finnerty C. C. et al. Cord blood derived hematopoietic stem/progenitor cells: current challenges in engraftment, infection, and ex vivo expansion. *Stem Cells Int.* 2011; 276193.
2. Broxmeyer H. E., Douglas G.W., Hangoc G. et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1989; 86: 3828–3832.
3. Avery S., Shi W., Lubin M. et al. Influence of infused cell dose and HLA match on engraftment after double unit cord blood allografts. *Blood* 2011; 117: 3277–3285.
4. Ballen K. K., Gluckman E., Broxmeyer H. E. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond. *Blood* 122, 491–498 (2013).
5. Aizenshtadt A.A., Bagaeva V.V., Khyrupina A.S. et al. Modern problems of umbilical cord blood haemopoietic stem cells expansion for oncohaematological application and their solution. *Vestnik SZGMU im. I.I.Mechnicova.* 2012; №4(15): 12-18
6. Shpall E. J., Quinones R., Giller R. et al. Transplantation of ex vivo expanded cord blood. *Biol. Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 368–376.
7. de Lima M., McManis G., Gee A. et al. Transplantation of ex vivo expanded cord blood cells using the copper chelator tetraethylenepentamine: a phase I/II clinical trial. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41(9): 771–778 (2008).
8. Delaney C., Heimfeld G., Brashem-Stein C et al. Notch mediated expansion of human cord blood progenitor cells capable of rapid myeloid reconstitution. *Nat. Med.* 2010; 16: 232–236.
9. de Lima M., McNiece I., Robinson S.N. et al. Cord blood engraftment with ex vivo mesenchymal cell coculture. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367: 2305–2315.
10. Horwitz M. E., Chao N.G., Rizzieri D.A. et al. Umbilical cord blood expansion with nicotinamide provides long term multilineage

engraftment. *J. Clin. Invest.* 2014; 124, 3121–3128.

11. Bart T. Cost effectiveness of cord blood versus bone marrow and peripheral blood stem cells. *Clinicoecon. Outcomes Res.* 2010; 2: 141–147.
12. Majhail N. S., Mothukuri J.M., MacMillan M.L. et al. Costs of pediatric allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Pediatr. Blood Cancer* 2010; 54(1); 138–143.

Authors

Ivolgin Dmitrij A.
North-Western State Medical University n.a. I. I. Mechnikov
PhD, Senior scientist, SRL of cell technologies; Head of stem cells isolation facility « Stem Cell Bank Pokrovskij »
191015, Saint-Petersburg, Kirochnaya str., 45
ida59m@mail.ru

Enukashvili Natella I.
North-Western State Medical University n.a. I. I. Mechnikov

PhD, Senior scientist, SRL of cell technologies; Medical biologist « Stem Cell Bank Pokrovskij »
Research associate, SRL of cell technologies; Head of cells cultures facility « Stem Cell Bank Pokrovskij »
Russian Federation, 191015, Saint-Petersburg, Kirochnaya str., 45
natellae@gmail.com

Aizenshtadt Alexandra A.
North-Western State Medical University n.a. I. I. Mechnikov
Research associate, SRL of cell technologies; Head of cells cultures facility « Stem Cell Bank Pokrovskij »
Russian Federation, 191015, Saint-Petersburg, Kirochnaya str., 45
aizendt@gmail.com

Adulov Sherzod F.
CEO « Stem Cell Bank Pokrovskij »
Russian Federation, 199106, Saint-Petersburg, Bolshoy pr. V.O., 85
dr.adilov@hotmail.com

УДК 591.84:616-092.9

Макарова Э.Б., Захаров Ю.М., Осипенко А.В., Кудрявцева И.П., Рубштейн А.П., Корч М.А.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ НА ТИТАНОВЫХ МАТРИЦАХ С АЛМАЗОПОДОБНЫМ ПОКРЫТИЕМ IN VITRO И IN VIVO

ФГБУ «УНИИТО им. В.Д. Чаплина, г. Екатеринбург, Российская Федерация;

Южно-Уральский государственный медицинский университет,

г. Челябинск, Российская Федерация;

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Российская Федерация;

Институт физики металлов УрО РАН, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. Цель данного исследования — оценить биосовместимость композитов «пористый титан — алмазоподобное покрытие» (ПТi(a-C)) в эксперименте. Эксперимент выполнен на 40 кроликах. *In vitro* выявлено отсутствие токсического влияния ПТi(a-C) на миелокарициты кроликов. *In vivo* ПТi(a-C) обладает способностью активировать остеогенез особенно на ранних сроках наблюдения (4–16 недель после операции) по сравнению с пористым титаном без покрытия. Происходит увеличение количества остеогенных клеток, количества клеток, экспрессирующих щелочную фосфатазу в прооперированном сегменте кости. В результате при имплантации ПТi(a-C) образуется функционально более зрелая и прочная костная ткань.

Ключевые слова: титан, алмазоподобная пленка, костная ткань, регенерация

Распространенность титана и его сплавов в качестве материалов для изготовления костных имплантатов определяется его высокой коррозионной стойкостью и биотолерантностью [1]. Однако титан в тканях организма подвергается коррозии [2], его ионы в клинически значимых концентрациях снижают жизнеспособность остеобластов, остеокластов, эпителиальных клеток [3],

ингибируют экспрессию Runx2, Osterix в остеобластах, усиливают экспрессию RANKL и OPG в остеобластах и эпителиальных клетках [2]. Данные эффекты могут оказывать влияние на долговременную стабильность имплантатов. Один из способов повышения биосовместимости металлов — это модификация состава и структуры их поверхности. Нами для улучшения остеointegrативных свойств поверхность пористых титановых имплантатов была модифицирована углеродсодержащими алмазоподобными пленками, полученными методом импульсного дугового распыления графитовой мишени.

Исходя из вышесказанного, цель данного исследования — оценить биосовместимость композитов «пористый титан — алмазоподобное покрытие» (ПТi(a-C)) в эксперименте.

Материалы и методы

Эксперимент *in vitro* выполнен с использованием 7 половозрелых кроликов стадного разведения, *in vivo* на 33-х кроликах. Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 10993.2-99.

In vitro оценивали способность к колониеобразованию и жизнеспособность миелокарицитов, культивируемых в присут-

ствии ПТi и ПТi(a-C). Цитотоксичность композита ПТi(a-C) оценивали по активности в супернатанте миелокариоцитов лактатдегидрогеназы (ЛДГ), после инкубации миелокариоцитов кролика с образцами ПТi и ПТi(a-C). Культивирование миелокариоцитов осуществляли в стандартных условиях: использовали 2 типа полной культуральной среды: для культивирования прилипающей фракции миелокариоцитов (I тип) — RPMI-1640 (ФГУ ГНЦ «Вектор»), 20% эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone), L-глутамин 30 мг/100мл среды (Sigma), гентамицин — 5 мг/100 мл среды [4], плотность посева $5-6 \times 10^6$ /мл живых клеток. Для функциональной оценки кроветворных клеток (II тип) — полужидкая синтетическая готовая среда MethoCult™, содержащая эритропоэтин, recombinantные человеческие цитокины — фактор стволовых клеток (rhSCF), колониестимулирующие факторы — гранулоцитарно-макрофагальный (rhGM-CSF), гранулоцитарный (rhG-CSF), интерлейкины – ИЛ-3, -6 (rhIL-3, rhIL-6), плотность посева 1×10^4 /мл живых мононуклеаров костного мозга. Культивирование проводили в CO₂ инкубаторе CELL 48 в течение 3–32 суток, при абсолютной влажности, 37°C, 4% CO₂.

In vivo кроликам в большеберцовые и бедренные кости имплантировали цилиндрические ПТi(a-C), предварительно насыщенные аутологичными миелокариоцитами, увеличенными в количестве культивированием в течение 14 суток (ПТi(a-C)МК). Контролем являлись ПТi, насыщенный аутологичными миелокариоцитами, увеличенными в количестве культивированием в течение 14 суток (ПТiМК) и интактные кролики. Подробная характеристика имплантатов и методы их получения, методики оперативного вмешательства и насыщения имплантатов миелокариоцитами описаны ранее [5]. Сроки выведения животных из эксперимента 2, 4, 16, 52 недели после операции.

В эксперименте *in vivo* изучали морфологию костной ткани, проводили ее механические испытания. Прочность костной ткани на разрыв в интерфейсе «костное ложе – имплантат» изучали по оригинальной методике [5] на универсальной испытательной машине FP 100/1 и выражали в % от прочности интактной костной ткани. Для изучения новообразованной в поровом пространстве костной ткани титановую матрицу вытравливали методом глубокого травления по Миргазизову [6]. Костную ткань исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (на микроскопе QUANTA 200) или методом световой микроскопии на тонких срезах после декальцинации (в растворе BiodeCR), обезвоживания в спиртах и окрашивания гематоксилином и эозином. Для объективизации результатов осуществляли измерение площади зрелой новообразованной в порах имплантата костной ткани, при помощи аппаратно-программного комплекса ВидеоТест-Мастер «Морфология» 4.0. Подсчитывали количество остеогенных клеток на 100 мкм² гистологического препарата, гистохимически выявляли активность щелочной фосфатазы (ЩФ) в клетках остеоцитарного ряда с использованием набора реагентов фирмы Bio-Optica и определяли объемную долю профилей клеток остеоцитарного ряда с активностью ЩФ. Ввод изображений осуществляли на цифровом модуле VIDИ-CAM при увеличении 400. Анализ изображений выполнен с использованием программного обеспечения «ВидеоТест Мастер-Морфология 5.2.».

В периферической крови методом иммуноферментного анализа с использованием наборов Cloud-Clone Corp Organism Species: *Oryctolagus cuniculus* (Rabbit) по прилагаемым к наборам протоколам с использованием контролей определяли концентрации костного морфогенетического белка-2 (КМБ-2) и инсулиноподобного ростового фактора-1 (IGF-1).

Результаты описаны с применением статистических характеристик - медиана (Me) и квартили (Q25; Q75). Для выявления различий между двумя группами количественных признаков применяли непараметрические критерии для зависимых (тест Уилкоксона) и независимых (тест Манна-Уитни) групп с использованием технологии множественной проверки гипотез на основе поправки Бонферрони. Статистическую гипотезу считали подтвержденной при уровне значимости $p \leq 0,05$ [7].

Исследования, выполненные *in vitro*, показали, что жизнеспособность клеток при инкубации миелокариоцитов с образцами ПТi(a-C) имела тенденцию к увеличению по сравнению с ПТi. Морфология прилипающих миелокариоцитов кроликов, в лун-

ках без образцов или с ПТi (контроли), а также в присутствии ПТi(a-C) не различалась: большая часть клеток имела типичную фибробластоподобную морфологию. Преобладали плотно упакованные расположенные параллельно веретеновидные клетки. Культуры не останавливали рост при достижении конfluence монослоя, образуя многослойные тяжистые структуры. При культивировании на пористых титановых образцах на 3 сутки преимущественно в порах титановых матриц были выявлены кроветворные клетки и стромальные элементы, часть из них располагались морфологически однородными группами клеток – эритроидных и гранулоцитарно-макрофагальных, что позволяет предполагать их формирование путем дифференциации КОЕэ и КОЕгм. Методом сканирующей электронной микроскопии было выявлено образующееся внеклеточное вещество, к 17-21 суткам часть пор была полностью заполнена компонентами внеклеточного матрикса. На 32-е сутки количество клеток в поверхностных порах при культивировании миелокариоцитов на ПТi(a-C) была значимо выше 166% (80; 200), чем на ПТi.

В исследованиях *in vivo* внедрение ПТi(a-C)МК демонстрировало более высокую и более долговременную активность процессов остеогенеза по сравнению с ПТiМК. При внедрении ПТi(a-C)МК через 4 недели после операции было выявлено значимое увеличение количества остеогенных клеток, клеток, экспрессирующих ЩФ, увеличивалась объемная доля профилей клеток остеоцитарного ряда, экспрессирующих ЩФ, в прилежащем к дефекту сегменте костной ткани по сравнению с их представительством в интактной костной ткани и в костной ткани животных, с внедренными ПТiМК. В результате площадь внутреннего порового пространства, занятая зрелой костной тканью, при внедрении ПТi(a-C)МК, превышала площадь зрелой костной ткани при внедрении ПТiМК и составляла через 4 недели — 57% (51; 62), через 52 недели — 68% (65; 69) ($p < 0,05$), по сравнению с ПТiМК: 54% (45; 68) и 59% (33; 60), соответственно. Прочность костной ткани на разрыв в интерфейсе «костное ложе – имплантат» также была значимо выше при имплантации ПТi(a-C)МК по сравнению с ПТiМК на ранних сроках наблюдения: через 4 недели — 58% (43; 69), 16 недель — 71% (68; 72); при имплантации ПТiМК: через 4 недели — 40,5% (38,8; 41), 16 недель — 47% (44; 48), соответственно. К 52 неделям после операции прочность костной ткани не отличалась от интактной у животных с ПТiМК и ПТi(a-C)МК.

При внедрении ПТi(a-C)МК было отмечено лучшее состояние костного ложа на ранних сроках, характеризующееся меньшей выраженностью дистрофических, некротических процессов, rareфикации прилежащей костной ткани, а на поздних сроках (52 недели после операции) – менее выраженными склеротическими изменениями новообразованной костной ткани. При полуколичественной оценке местной реакции на внедрение имплантатов, (учитывающей выраженность воспалительной реакции, васкуляризацию, фиброз, жировую инфильтрацию, наличие травматического некроза и инородных веществ (ГОСТ ISO 10993-6-2011)), среднее количество баллов через 4 недели после операции при внедрении ПТi(a-C)МК составило — 0,5 (0; 1,0), ПТiМК — 1,0 (1,0; 2,0). Наиболее часто выявляемые признаки отличались при внедрении ПТiМК и ПТi(a-C)МК. При внедрении ПТiМК наиболее часто выявляли — ограниченные некротические участки костной ткани (в 41,2%) и ограниченную по протяженности фиброзную прослойку между костным ложем и имплантатом (в 30,8%), по условиям данного эксперимента через 4-е недели после имплантации у 11,8% на ПТiМК выявлено легкое раздражающее действие. При имплантации ПТi(a-C)МК были минимальные проявления реакции сосудистого звена (в 41,2%); редкие скопления от 2 до 5 плазматических клеток (33,3%). Соединительнотканые элементы в интерфейсе «костное ложе – имплантат» отмечены в 8,3%, что было расценено нами как морфологический признак лучшей остеointеграции ПТi(a-C)МК. На внедрение ПТi(a-C)МК у 1 из 12-и кроликов выявлено местное легкое раздражающее действие. В динамике местная реакция на имплантаты уменьшается при внедрении обоих типов имплантатов: через 16 недель — 1,0 (0; 1,0), 0 (0; 0); 52 недели — 0 (0; 0,5), 0 (0; 0) при внедрении ПТiМК и ПТi(a-C)МК соответственно.

Механизмы регуляции репаративной регенерации костной ткани опосредуются системными (гормональными, нейроэндокрин-

ными факторами, витаминами) и локальными (ростовые факторы, цитокины, костные морфогенетические белки) факторами. При внедрении ПТiМК концентрация КМБ-2 (локального ростового фактора) в периферической крови увеличивалась через 4 недели до 194,1% ($p \leq 0,043$) и нормализовалась к 16-и неделям после операции. Концентрация IGF-1 изменялась статистически незначимо. В регуляции репаративной регенерации при внедрении ПТi(а-С)МК были задействованы, как локальный ростовой фактор (КМБ-2), так и системный гормональный, что отличает данную серию от животных, с ПТiМК. Концентрация IGF-1 у кроликов с ПТi(а-С)МК была повышена в течение 16 недель после операции с максимумом изменений через 4 недели — 405% ($p \leq 0,017$), по сравнению с уровнем до операции. Аналогична динамика концентрации КМБ-2. Через 4 недели после операции она возрастает до 319,4% ($p \leq 0,017$) по сравнению с уровнем до операции и значимо превышает аналогичный показатель в группе с ПТiМК более чем в 2 раза. Участие системных регуляторов остеогенеза, более выраженное увеличение концентрации локальных факторов, индуцирующих остеогенез, косвенно подтверждает большую напряженность процессов репаративного остеогенеза.

Таким образом, помимо osteoconductivity и способности в течении репаративного этапа противостоять формированию соединительной ткани, стремящейся быстро заполнить пространство дефекта кости, пористый титан с алмазоподобной обладает способностью активировать остеогенез.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурьянов А.А., Корж Н.А., Ошкадеров С.П. Металлические материалы для имплантатов ортопедического назначения // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2008. – № 3. – С.5-10.
2. Mercan S., Bölükbaş N., Bölükbaş M.K. Titanium element level in pery-implant mucosa // Biotechnol. and Biotechnol.Eq. – 2013. – Vol.27(4). – P.4002-4005.
3. Mine Y., Makihira S., Nikawa H. [et al.] Impact of titanium ions on osteoblast-, osteoclast- and gingival epithelial-like cells // J.Prostodont Res. – 2010. – Jan. – Vol.54(1). – P.1-6.
4. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. – Томск: Изд. Томского гос. ун-та, 1992. – 272 с.
5. Рубштейн А.П., Макарова Э.Б., Трахтенберг И.Ш., Захаров Ю.М.. Биоимплантаты на основе пористого титана с алмазоподобными пленками для замещения костной ткани. – Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2012. – 136 с.
6. Хафизов Р.Г. Изучение новообразованной ткани внутри пористой структуры никелид титанового имплантата методом глубокого травления по Миргазизову // Рос. вестник дентальной имплантологии. – 2006. – № 1/2 (13/14). – С.26-29.
7. Гланц С. Медико-биологическая статистика // Практика. – М., 1999. – 459 с.

Авторская справка

Макарова Эмилия Борисовна
ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина» Минздрава РФ
к. м. н., старший научный сотрудник клинико-биохимической лаборатории
Российская Федерация, 620014, г. Екатеринбург, переулок Банковский, д. 7
emilia1907@yandex.ru

Захаров Юрий Михайлович

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ
д. м. н., академик РАН, заведующий кафедрой нормальной физиологии
Российская Федерация, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64
zaharovum@chelsma.ru

Осипенко Артур Васильевич

ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ
д. м. н., профессор
Российская Федерация, 620219, г. Екатеринбург, улица Репина, дом 3
osipenko@usma.ru

Кудрявцева Ирина Петровна

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина» Минздрава РФ.

к. м. н., заведующая лабораторией морфологии
Российская Федерация, 620014, г. Екатеринбург, переулок Банковский, д. 7
uniito@mail.ru

Рубштейн Анна Петровна

ФГБУН Институт физики металлов им.М.Н.Михеева УрО РАН
к. ф.-м. н., старший научный сотрудник лаборатории углеродных наноматериалов
Российская Федерация, 620990, г. Екатеринбург, ул. С. Ковалевской, 18
rubshtein@imp.uran.ru

Корч Мария Анатольевна

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина» Минздрава РФ
к. м. н., млад. науч. сотр. лаборатории морфологии
Российская Федерация, 620014, г. Екатеринбург, переулок Банковский, д. 7
brodillka@mail.ru

Makarova E. B., Zakharov Yu. M., Osipenko A. V., Kudryavtseva I. P., Rubshtein A. P., Korch, M.A. **FEATURES OF BONE TISSUE FORMATION ON TITANIUM MATRIX WITH DIAMOND- LIKE COATING IN VITRO AND IN VIVO**

FGBU Ural Scientific Research Institute of Traumatology and

Orthopaedics named after V.D.Chaklin, Yekaterinburg;

South Ural State Medical University, Chelyabinsk;

Ural State Medical University, Yekaterinburg;

The Institute of Metal Physics named after M.N. Miheev of Ural
Branch of RAS, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. The purpose of this study was to evaluate the biocompatibility of composites «porous titanium — diamond-like coating» (PTi(a-C)) in the experiment. The experiment was performed on 40 rabbits. In vitro revealed no toxic effects of PTi(a-C) on the mielokaryocytes of rabbits. In vivo PTi(a-C) has the ability to activate bone formation especially in the early observation periods (4–16 weeks) as compared with porous titanium without any coating. There is an increase in the number of osteogenic cells, the number of cells that expressed alkaline phosphatase in the operated bone segment. As a result, when implantation PT(a-C) a more mature and functionally strong bone was formed.

Keywords: titanium, diamond-like film, bone tissue, regeneration

REFERENCES

1. Buryanov A.A., Korzh N.A., Oshkaderov S.P. Metallic materials for orthopedic implants destination . Orthopedija, Traumatologija i Protezirovanie. - 2008. - № 3. - P.5-
2. Mercan S., Bölükbaş N., Bölükbaş M. K. Titanium element level in pery-implant mucosa. Biotechnol. and Biotechnol.Eq. – 2013. – Vol.27(4). – P.4002-4005.
3. Mine Y., Makihira S., Nikawa H. [et al.] Impact of titanium ions on osteoblast-, osteoclast- and gingival epithelial-like cells. J.Prostodont Res. – 2010. – Jan. – Vol.54(1). – P.1-6.
4. Goldberg E.D. Methods of tissue culture in hematology. E.D. Goldberg, A.M. Dygay, V.P. Shahov. Tomsk: Izd. Tomskogo gos. universiteta. 1992. - 272 p.
5. Rubshtein A.P., Makarova E.B., Trakhtenberg I.Sh., Zakharov Y.M. Bioimplants based on porous titanium with diamond-like films to replace bone. Ekaterinburg: RIO UrO RAN. 2012. - 136 p.
6. Haphizov R.G. The study of the newly formed tissue inside the porous structure of the titanium nickelid implant by deep etching by Mirgazizov . R. G. Haphizov . Ros. vestnik dental'noi implantologii. - 2006. - № 1/2 (13/14). - P.26-29.
7. Glantz S. Biomedical Statistics . Praktika. - M., 1999. – 459 p.

Authors

Makarova Emilia B.
Ural scientific research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after V.D. Chaklin of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation
PhD, Senior researcher of the clinical and biological laboratory

7, Bankovsky per. 620014, Yekaterinburg, Russian Federation
emilia1907@yandex.ru

Zaharov Jurij M.
South Ural State Medical University Ministry of Healthcare of the Russian Federation
64, Vorovsky 454092, Cheljabinsk, Russian Federation
MD, academician of RAS, Head of Department of normal physiology
zaharovum@chelsma.ru

Osipenko Artur V.
Ural State Medical University
MD, Professor
3, Repina, 3620219, Yekaterinburg, Russian Federation
osipenko@usma.ru

Kudrjavceva Irina P.
Ural Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after

V.D.Chaklin
PhD, Head of laboratory of morphology
7, Bankovsky, 620014, Yekaterinburg, Russian Federation
uniito@mail.ru

Rubshtein Anna P.

M.N. Miheev Institute of Metal Physics of Ural Branch of Russian Academy of Sciences
18 S.Kovalevskaya St., 620990, Yekaterinburg, Russian Federation
PhD, senior researcher of carbon nanomaterials
rubshtein@imp.uran.ru

Korch Marija A.
Ural Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after
V.D.Chaklin
PhD, Junior researcher
7, Bankovsky per., 620014, Yekaterinburg, Russian Federation
brodillka@mail.ru

УДК 612.67: 616.83

*Мещанинов В.Н., Хавинсон В.Х., Ткаченко Е.Л., Гаврилов И.В., Жарков С.В., Катыева Ю.Е.,
Вержбицкая Т.Ю., Попов А.В., Савельев Л.И., Фечина Л.Г.*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОЛИГОПЕПТИДОВ В КЛЕТЧНО-ОРИЕНТИРОВАННЫХ ТЕХНОЛОГИЯХ ПРЕВЕНТИВНОЙ ГЕРИАТРИИ

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург;

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург;

Институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме. Одним из перспективных направлений в геропротекции является адресное клеточно-ориентированное воздействие. Была оценена клеточно-метаболическая составляющая геропротективного механизма действия олигопептидов лизил-глутамил-аспарагина (лиз-глу-асп) и глутамил-аспаригил-аргинин (глу-асп-арг) для коррекции биологического возраста у 59 пациентов с паспортным возрастом от 41 до 75 лет, имеющих полиморбидную патологию в стадии ремиссии. Олигопептиды векторно ориентированы на клетки сосудов центральной нервной системы (ЦНС) — лиз-глу-асп и нейроны — глу-асп-арг. Биохимическими, физиологическими, морфологическими методами под контролем исследования биологического возраста показано, что олигопептиды лиз-глу-асп и глу-асп-арг обладают некоторым гиперлипидемическим и гиперпротеинемическим метаболическими эффектами, улучшают деятельность ЦНС и других жизненно важных органов, что приводит к снижению биологического возраста, реализуя через цитопротекторные механизмы (судя по динамике CD34+). Наибольшую геропротективную эффективность выявило комплексное использование одновременно обоих олигопептидов. Они могут применяться как геропротективные средства нейро-вазо-протекторного типа. Механизм геропротективного действия олигопептидов сопровождается метаболическими адаптивными перестройками в организме белково-липидного анаболического и аэробно-катаболического характера. Воздействие олигопептидов и стволовых клеток на ЦНС, возможно, осуществлялось непосредственным или опосредованным через гематоэнцефалический барьер ангио-, нейро- клеточным механизмом.

Ключевые слова: олигопептиды, клетка, метаболизм, полиморбидность, биовозраст, превентивная гериатрия

Актуальность

Одним из перспективных направлений в геропротекции являются адресные клеточно-ориентированные воздействия. Они в большей степени нацелены на причину патологического процесса, состояния или заболевания, чем на коррекцию патогенеза или симптоматики, а потому — более эффективны. Среди потенциально возможных средств геропротекции обращают на себя внимание олигопептиды, векторно ориентированные на клетки сосудов центральной нервной системы (ЦНС) (лизил-глутамил-аспарагин: лиз-глу-асп) и нейроны — аргинил-глутамил-аспаригин (арг-глу-асп) [1,2,3]. Олигопептиды увеличивают экс-

прессию генома, способны присоединяться к ДНК клеток и оптимизировать их работу (рисунок 1).



Рисунок 1. Олигопептид взаимодействует с ДНК, изменяя работу генома клетки [4].

Это лежит в основе анаболического эффекта олигопептидов и может быть использовано с геропротективной целью, так как в организме при старении анаболизм снижается [2, 3]. Особенностью олигопептидов является адресная ориентированность в отношении отдельных видов клеток [3], механизм такой тропности, по-видимому, отчасти объясняется их высоким содержанием в соответствующих клетках. Однако, в литературе отсутствует информация о том, насколько глобальны изменения, происходящие при этом в хроматине клеток, могут ли они служить мерилем биологического возраста пациента.

Геропротекторная терапия особенно актуальна при патологии ЦНС, т.к. возрастные изменения нарушения функционирования головного мозга, связанные с конкретной патологией, приводят к ускоренному старению [1, 5]. Показана способность глу-асп-арг увеличивать устойчивость нейронов головного мозга животных к гипоксическому стрессу [6]. Адресно-клеточно-ориентированное геропротективное действие пептидов может быть в первую очередь опосредовано метаболическими или клеточными реакциями. Однако, объективные данные о состоянии биологического возраста пациентов под влиянием клеточно-ориентированных геропротективных средств отсутствуют. Недостаточно расшифрованы, помимо воздействия на геном клетки, другие возможные механизмы их действия как средств геропротектики. Эта важная для геронтологии, превентивной гериатрии и клиники тема остается недостаточно разработанной. В частности, отсутствуют такие важные сведения, как влияние на базовый метаболизм и динамику клеточных популяций организма, в частности — разных видов стволовых полипотентных клеток. Перорально используемые геропротективные средства у человека, лишены