

Исследование регенерационной способности соединительной ткани парауретральной области при трансплантации тканеинженерных конструкций

Целью настоящего исследования является разработка инъекционной тканеинженерной конструкции (ТИК) для регенеративной терапии ряда гинекологических заболеваний, сопровождающихся несостоятельностью мышечных и соединительных тканей малого таза. Для этого предлагается использовать синтетические биорезорбируемые полимерные носители как в качестве объемобразующего агента, так и в качестве матричной конструкции, содержащей рекомбинантный FGFb и аллогенные МСК, являющихся активными индукторами ангиогенеза и репаративной регенерации. На данном этапе разработаны методы формирования плотных с гладкой поверхностью и пористых с развитой поверхностью биорезорбируемых микроносителей размером от 50 до 200 мкм из полимеров гомологического ряда алифатических полиэфиров.

В исследовании использовали половозрелых самок крыс CD массой 250-320 г. Животных делили на группы: 1 (получающие физраствор), 2 (получающие объемобразующий препарат уродекс), 3 (получающие объемобразующий препарат уродекс и МСК), 4 (получающие микрочастицы поликарполактона) и 5 (получающие ТИК с микрочастицами поликапролактона и МСК), .

Перед моделированием недержания у всех самок регистрировали базовый уровень следующих показателей: объем мочевого пузыря (BC – bladder capacity) и давление в мочевом пузыре, необходимое для истечения первой капли мочи из мочевого пузыря (LPP – leak point pressure).

На 7-й день после моделирования недержания после предварительной регистрации BC и LPP, вводили тканеинженерные конструкции или физраствор (в соответствии с групповой принадлежностью). Введение осуществляли в 3-4 точки в верхнюю треть уретры. Доступ к уретре получали путем вскрытия брюшины в области малого таза. После введения рану ушивали.

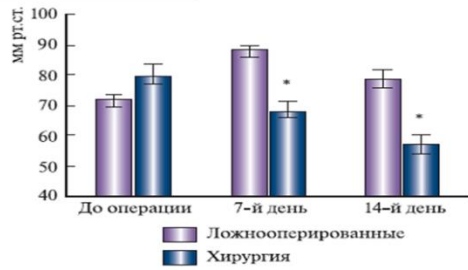
Часть животных подвергали эвтаназии на 14-й день после операции, а другую часть – на 30-й день после операции.

Кроме того, 6 животных подвергали эвтаназии на 7-й день после моделирования недержания с целью получения образцов уретры для оценки морфологических изменений денервированной уретры (слизистой и мышечной оболочек) с помощью рутинных гистологических и морфометрических методов исследования. При эвтаназии производили изъятие уретры для проведения гистологических исследований.

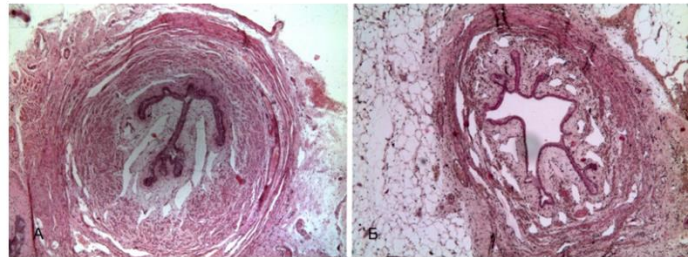
По результатам оценки LPP было показано, что после операции по моделированию СНМ давление резко снижается во всех группах наблюдения. На 14, 21 и 30 сутки в группах, где вводили или поликарполактон, или Уродекс, или ТИК на основе МСК давление повышается и на поздних сроках наблюдения возвращается к исходным данным, при этом в группе, где вводился только физиологический раствор давление сохранялось на уровне послеоперационного.

Иммуногистохимическое исследование проводилось антителами к alpha-SMA, Troponin I, Fap alpha и CD68. Наличие гладкомышечного актина и тропонина в трансплантированной клеточной культуре не выявлялось. То есть дифференцировки в гладкомышечные клетки не отмечено. Однако по наличию окраски на маркер фибробластов в меченых трансплантированных клетках, позволяет утверждать, что культура осталась в рамках своего соединительнотканного дифферона. Умеренное количество CD68+ макрофагов в области трансплантации говорит об умеренном иммунном ответе, при этом следует отметить, что в отличие от подкожной трансплантации, при парауретральном введении ТИК не образуется соединительнотканная капсула, ограничивающая место введения.

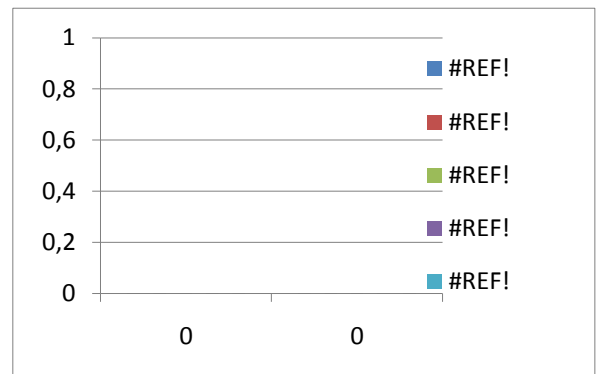
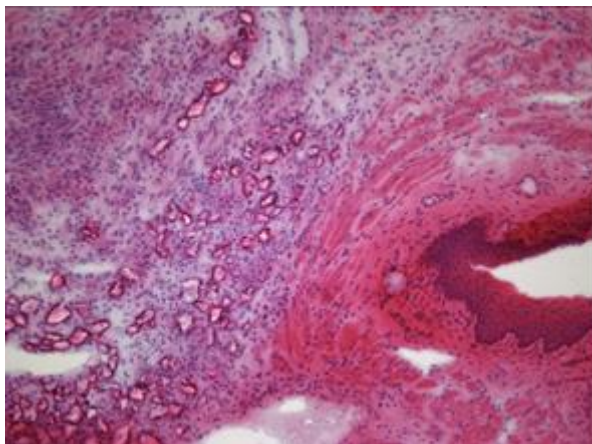
При морфологическом исследовании отмечалось нормальное строение уретры, в парауретральной области выявлялись участки с частицами поликапролактона. При проведении морфометрии по описанной выше методике и подсчету индекса просвета было отмечено его снижение на 14-е и 30-е сутки максимально в группе с введением ТИК с клеточной культурой. Что в совокупности с восстановлением уровня LPP позволяет говорить об эффективности разработанной конструкции для лечения стрессового недержания мочи.



Данные представлены в виде средних значений \pm стандартная ошибка среднего.
* — $p < 0,05$ по сравнению с группой ложнооперированных животных.



Поперечный срез уретры через 14 суток после ложной операции (А) и билатерального повреждения полового нерва (Б),



Динамика индекса просвета уретры при трансплантации ТИК на основе поликапролактона и МСК.