

# ВЕСЦІ

## НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК 2015 № 1

# ИЗВЕСТИЯ

## НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК 2015 № 1

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 2004 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

### ЗМЕСТ

#### КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Букач Д. В., Белецкий А. В., Эйсмонт О. Л., Мохаммади М. Т., Исайкина Я. И. Аутотрансплантация мезенхимальных стволовых клеток для регенеративного восстановления поврежденных суставного хряща (экспериментальное исследование) .....	5
Юшкевич П. Ф., Висмонт Ф. И., Мрочек А. Г. Участие холино- и адренореактивных систем в механизмах развития кардиопротекторных эффектов дистантного ишемического пре- и посткондиционирования у старых крыс .....	12
Галицкая С. С., Митьковская Н. П., Абельская И. С., Статкевич Т. В., Постоялко А. С., Гусина А. А., Сулимчик Е. А. Острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST: результаты ангиографического и генетического исследований .....	21
Папок В. Е., Маньковская С. В., Павлова Н. Ф., Толпеко А. А., Луцук И. Г., Залуцкий И. В. Показатели липидного обмена и инсулиноподобного фактора роста 1 у больных раком простаты .....	27
Гайшун Е. И., Гайшун И. В. Зависимость скорости распространения пульсовой волны в общей сонной артерии от частоты сердечных сокращений и пульсового давления у мужчин с артериальной гипертензией ...	32

<b>Захаревич В. И., Шабуня П. С., Фатыхова С. А., Курман П. В., Дмитриев В. В., Алейникова О. В.</b> Фармакокинетика колистина у детей с химиоиндуцированной нейтропенией .....	37
<b>Антоневич Н. Г., Гончаров А. Е., Чекан В. Л., Сидоренко И. В., Квачева З. Б.</b> Иммунофенотипическая характеристика мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки носовой полости человека .....	42
<b>Станкевич С. К., Смеянович А. Ф., Шанько Ю. Г., Журавлев В. А., Рубахов А. М.</b> Анализ результатов хирургического лечения базальных ликворей .....	50
<b>Костюнина В. С., Васина Е. В., Петёвка Н. В.</b> Стимулирование дифференцировки стволовых кроветворных клеток пуповинной крови <i>in vitro</i> мезенхимными стромальными клетками пуповинно-плацентарного происхождения .....	55
<b>Криштафович А. А., Вильчук К. У., Девялтовская М. Г., Леонович И. В.</b> Диагностика нарушений гемодинамики мозга и почек у новорожденных при гипоксической энцефалопатии .....	59
<b>Титовец Э. П., Смеянович А. Ф., Пархач Л. П., Босякова Е. В.</b> Исследование водного обмена головного мозга методами функциональной магнитно-резонансной визуализации .....	65
<b>Хотянович М. О.</b> Жизнеспособность фибробластов и опухолевых клеток после изменения вектора равнодействующей силы .....	73
<b>Волянский А. Ю., Давыдова Т. В., Романова Е. А., Мартынов А. В., Сидоренко Т. А., Игумнова Н. И., Юхименко В. И., Погорелая М. С., Овчаренко С. В.</b> Наноструктурная характеристика поверхности липосомальных гриппозных вакцин .....	78
<b>Истомин Ю. П., Виланская С. В., Чалов В. Н., Церковский Д. А.</b> Влияние соно-фотодинамического воздействия на реологические свойства крови и плазмы лабораторных животных-опухоленосителей .....	84

#### АГЛЯДЫ

<b>Митьковская Н. П., Третьяк С. И., Григоренко Е. А., Герасименко Д. С.</b> Кардиоваскулярный риск у пациентов с патологией гепатобилиарной системы .....	90
<b>Маньковская С. В., Павлова Н. Ф.</b> Современные возможности противоопухолевой терапии при глиобластомах .....	95
<b>Тропникова Г. К.</b> Роль холинергической системы ствола мозга в развитии постуральных и автономных нарушений при болезни Паркинсона .....	103
<b>Криштафович А. А.</b> Допплерографические исследования мозгового и почечного кровотока у новорожденных с гипоксическим поражением головного мозга .....	110
<b>Захарко А. Ю., Митьковская Н. П., Кулага О. К., Статкевич Т. В., Патёюк И. В.</b> Метаболический синдром и беременность.....	118

---

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2015 № 1

Серия медицинских наук

*На русском, белорусском и английском языках*

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,  
свидетельство о регистрации № 393 от 18.05.2009

---

Компьютерная верстка *В. Л. Смольской*

Здадзена ў набор 02.02.2015. Падпісана да друку 12.02.2015. Выхад у свет 25.02.2015. Фармат 60×84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Папера афсетная.

Друк лічбавы. Ум. друк. арк. 14,88. Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 66 экз. Заказ 20.

Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 70 150 руб.; ведамасная падпіска – 169 991 руб.

Выдавец і паліграфічнае выкананне:

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецкі дом «Беларуская навука». Пасведчанне аб дзяржаўнай рэгістрацыі выдаўца, вытворцы, распаўсюджвальніка друкаваных выданняў № 1/18 ад 02.08.2013.

ЛП 02330/455 ад 30.12.2013. Вул. Ф. Скарыны, 40, 220141, г. Мінск.

© Выдавецкі дом «Беларуская навука».

Весці НАН Беларусі. Серыя медыцынскіх навук, 2015

УДК 606:61+576.32/36:57.083.3

Н. Г. АНТОНЕВИЧ<sup>1</sup>, А. Е. ГОНЧАРОВ<sup>1</sup>, В. Л. ЧЕКАН<sup>2</sup>, И. В. СИДОРЕНКО<sup>2</sup>, З. Б. КВАЧЕВА<sup>3</sup>

**ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ  
НОСОВОЙ ПОЛОСТИ ЧЕЛОВЕКА**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь,  
e-mail: antonevich.n@gmail.com

<sup>2</sup>Белорусская государственная медицинская академия последипломного образования, Минск,  
<sup>3</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск

(Поступила в редакцию 19.01.2015)

**Введение.** В настоящее время во всем мире активно изучают биологические свойства тканеспецифичных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для применения их как в исследовательских, так и в лечебных целях.

МСК обладают целым рядом уникальных свойств, благодаря чему рассматриваются в качестве потенциальных индукторов и регуляторов репаративных процессов. Полагают, что одним из факторов терапевтической эффективности является способность МСК к репопуляции утраченных клеточных компонентов соединительной ткани с последующим возобновлением экстрацеллюлярного матрикса [1, 2]. В восстановлении целостности органов важную роль играет также продукция трансплантированными МСК ростовых факторов, цитокинов, их иммуномодулирующая и проапоптотическая активность, способность к прямым межклеточным взаимодействиям [3–5].

Установлено, что МСК обладают иммуносупрессивными свойствами, предотвращают отторжение трансплантата, способствуют снижению интенсивности иммунного воспаления. В настоящее время МСК активно используют в трансплантологии, имеются также результаты клинических испытаний, указывающие на эффективность применения МСК в терапии аутоиммунных заболеваний (рассеянный склероз, сахарный диабет и др.) [6].

Таким образом, эффективность клеточной терапии определяется биологической активностью МСК, за которую отвечает преимущественно рецепторный аппарат клетки. Несмотря на то что сравнительный анализ МСК различного тканевого происхождения свидетельствует о значительном сходстве их иммунофенотипа, имеются специфические отличия МСК в зависимости от их локализации [7, 8].

Обонятельная область слизистой носовых ходов (обонятельная выстилка – ОВ) благодаря своей относительной доступности является перспективным источником стволовых клеток. Показано, что в соединительнотканной компоненте слизистой присутствуют популяции региональных МСК [9, 10]. В настоящий момент подобраны условия культивирования данного типа клеток [10], показана их генетическая стабильность [11]. Результаты доклинических испытаний свидетельствуют об эффективности клеточной терапии с применением биопрепаратов МСК ОВ при коррекции повреждений ЦНС, нервов периферического зрительного и слухового анализатора, сердечной ткани, стенозов трахеи и др. [12–15].

Экспрессия поверхностных и внутриклеточных молекул различных функциональных групп в МСК ОВ описана пока недостаточно. Всестороннее изучение антигенного спектра МСК ОВ позволит более полно охарактеризовать эту малоизученную популяцию стволовых клеток. Кроме того, оценка уровня экспрессии различных групп молекул даст возможность впоследствии расшифровать механизмы влияния МСК ОВ на другие типы клеток посредством межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий. Новые данные позволят расширить область применения МСК ОВ и разработать альтернативные стратегии клеточной терапии.

Цель работы – изучение иммунофенотипа культивируемых мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки носовой полости человека.

**Объекты и методы исследований. Получение культур МСК ОБ.** Образцы ткани ОБ среднего носового хода взяты из материала, направляемого на гистологическое исследование, после проведения плановых хирургических вмешательств пациентам с заболеваниями носовой полости и околоносовых пазух (Белорусская медицинская академия последипломного образования, РНПЦ оториноларингологии). Культуры МСК ОБ получали по ранее разработанной технологии [10]. Всего изучено 16 культур МСК ОБ человека.

**Определение иммунофенотипа.** Фенотипирование клеток методом проточной цитометрии проводили по стандартной методике с использованием антител к молекулам CD10 (PE-Cy7), CD11b (APC), CD11c (APC), CD14 (FITC), CD15 (PE), CD31 (FITC), CD33 (PerCP-Cy5.5), CD34 (PE), CD40 (PE), CD45 (PE-Cy7), CD54 (FITC), CD62L (PE), CD71 (FITC), CD73 (PE), CD80 (FITC), CD86 (PE), CD90 (PE), CD105 (PE), CD106 (PE), CD117 (PE-Cy7), CD123 (PE), CD133/2 (PE), CD141 (PE), CD209 (APC), CD273 (PE), CD274 (FITC), CD279 (PE-Cy7), Tim-3 (APC), HLA-ABC (FITC), HLA-DR (FITC, APC), нестин (FITC), виментин (PE),  $\beta$ -3-тубулин (PerCP, FITC), p75<sup>NTR</sup> (FITC), GFAP (FITC), MAP-2 (PE), O4 (PE). Пробы анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (BD Biosciences, США). Учитывали как содержание позитивных по исследуемому маркеру клеток (процент экспрессии), так и относительную интенсивность флуоресценции, которая отражает число молекул (в усл. ед.) на клетку. Для анализа данных использовали программу Weasel версии 3.0.2 (WENI, Австралия).

**Методы статистической обработки данных.** Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха между 25-й и 75-й процентилями. Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica версии 10.

**Результаты и их обсуждение.** В перечень молекул, экспрессию которых исследовали у МСК ОБ, были включены 37 маркеров, специфичных для клеток различного происхождения и степени дифференцировки. Выбор маркеров обусловлен ранее полученными данными о иммуносупрессивных свойствах МСК ОБ [16, 17] и терапевтической эффективности клеточных биопрепаратов [12–15].

В таблице представлены сведения о принадлежности исследуемых антигенов к различным функциональным группам и о типах клеток, для которых они специфичны.

**Перечень исследованных маркеров мезенхимальных стволовых клеток (МСК) обонятельной выстилки носовой полости человека**

Маркер	Клетки, для которых характерна экспрессия	Функция
<i>Молекулы межклеточных взаимодействий, рецепторы, ферменты</i>		
CD10	Предшественники В-клеток, МСК и др.	Металлопротеаза (модуляция клеточного ответа на действие биологически активных пептидов)
CD11b (интегрин $\alpha$ M)	Клетки миелоидного ряда, субпопуляции В- и Т-лимфоцитов	Рецептор для фрагмента iC3b 3-го компонента комплемента, фибриногена, фактора X и ICAM-1
CD11c	Моноциты, макрофаги, ДК, гранулоциты, субпопуляции В- и Т-лимфоцитов	Адгезивная молекула, связанная с CD18
CD14	Миелоидные клетки	Корецептор к липополисахариду
CD15	Клетки миелоидного ряда	Маркер миелоидных клеток, молекула адгезии
CD31	Эндотелиальные клетки	Один из основных маркеров эндотелиальных клеток
CD33	Моноциты, макрофаги, ДК, гранулоциты	Семейство белков Siglec группы лектинов
CD34	ГСК, эндотелиальные клетки	Молекула межклеточной адгезии, играющая роль на ранних этапах кроветворения
CD45	Все гемопоэтические клетки	Регуляция и дифференцировка клеточного роста
CD54 (ICAM-1)	Клетки миелоидного ряда, эндотелиальные клетки, субпопуляции Т- и В-клеток	Молекула клеточной адгезии
CD62L	Т- и В-лимфоциты, АПК	Молекула клеточной адгезии
CD71	Клетки эритроидного ряда, ГСК	Рецептор трансферрина 1

Маркер	Клетки, для которых характерна экспрессия	Функция
CD73	Клетки соединительных тканей и других тканей мезодермального происхождения	Мембранный фермент 5'-нуклеотидаза (пуриnergическая передача сигналов, участие в иммуносупрессии)
CD90	МСК, тимоциты, НСК	Маркер клеток-предшественников (участие в процессах роста и регенерации нейронов, адгезии, апоптоза Т-клеток)
CD105 (эндоглин)	Макрофаги, гладкомышечные клетки сосудов, МСК	Гликопротеин (входит в состав TGF- $\beta$ рецепторного комплекса, играет важную роль в ангиогенезе)
CD106 (VCAM-1)	Лейкоциты, эндотелиальные клетки	Молекула клеточной адгезии (участвует в адгезии лейкоцитов и эндотелиальных клеток, передаче сигналов)
CD117 (c-kit)	ГСК, тучные клетки	Цитокиновая рецепторная тирозинкиназа III типа, рецептор для фактора роста стволовых клеток
CD123	ГСК, плазмацитоидные ДК, базофилы	Рецептор к интерлейкину-3
CD133/2	ГСК, предшественники эндотелия, стволовые раковые клетки	Гликопротеин (организация топографии плазматической мембраны, канцерогенез)
CD141	Эндотелиальные клетки	Рецептор тромбина
CD209 (DC-SIGN)	Преимущественно АПК (макрофаги, ДК)	Паттерн-распознающий рецептор
<i>Молекулы, обладающие стимулирующими и ингибирующими свойствами по отношению к активности иммунокомпетентных клеток</i>		
CD40	Все АПК	Костимулирующая молекула, рецептор к CD154
CD80 (B7-1)	АПК: ДК, активированные В-лимфоциты, моноциты, макрофаги	Костимулирующая молекула, рецептор для молекул CD28 и CD152 (CTLA-4)
CD86 (B7-2)		
CD273(B7-DC)	Макрофаги, ДК, МСК	Коингибиторная молекула, рецептор для PD-1 (снижают пролиферативную активность Т-лимфоцитов)
CD274 (B7-H1)		
CD279 (PD-1)	Макрофаги, ДК, Т- и В-лимфоциты	Регуляция иммунного ответа
Tim-3	Т-лимфоциты	Негативный регулятор Т-клеточного ответа
<i>Молекулы главного комплекса гистосовместимости</i>		
HLA-ABC (MHC-I)	Все ядродержащие клетки	Антигенпредставляющая молекула для цитозольных эндогенных пептидов
HLA-DR (MHC-II)	Все АПК: макрофаги, ДК, В-клетки и др.	Антигенпредставляющая молекула для эндосомальных экзогенных пептидов
<i>Маркеры клеточных популяций нервной ткани</i>		
Нестин	Недифференцированные стволовые и прогениторные НСК	Белки цитоскелета
Виментин	Клетки тканей мезодермального происхождения, НСК	
$\beta$ -III-тубулин	Незрелые нейроны	
GFAP	Клетки глии, НСК	
MAP-2	Зрелые нейроны	
p75 <sup>NTR</sup>	Нейроны различной степени дифференцировки, глиальные клетки, НСК	Тирозиновая киназа, низкоаффинный рецептор нейротрофинов, пролиферация, миграция, дифференцировка нейральных СПК
O4	Предшественники олигодендроцитов	Галактоцеребозид (участие в формировании миелиновых оболочек)

Примечание. ДК – дендритные клетки, ГСК – гемопоэтические стволовые клетки, АПК – антигенпредставляющие клетки, НСК – нейральные стволовые клетки.

Результаты проведенного анализа показали, что клетки культур ОВ, выделенные и накопленные *ex vivo* по ранее оптимизированной методике, обладают рядом общих фенотипических маркеров и функциональных свойств, позволяющих классифицировать их, согласно критериям Международного общества по клеточной терапии (International Society for Cellular Therapy), как

МСК [7]. Так, МСК ОБ характеризовались: 1) фибробластоподобной морфологией; 2) адгезией к подложке при росте в условиях культуры; 3) экспрессией адгезивных молекул CD90, CD105 и CD73 всеми клетками популяции, отсутствием экспрессии маркера эндотелия CD31 и пан-лейкоцитарного маркера CD45; 4) дифференцировочным потенциалом [18]. Также показано, что при отсутствии молекул главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) II типа (HLA-DR) МСК ОБ экспрессируют молекулы ГКГ I типа (HLA-ABC).

Уникальной особенностью МСК ОБ по сравнению с другими хорошо изученными типами МСК является их локализация в нейрогенной области – периферическом отделе обонятельного анализатора. В связи с этим фенотипические свойства МСК ОБ могут иметь свои особенности по сравнению с другими типами хорошо изученных МСК, например с МСК костного мозга, жировой ткани.

На первом этапе исследования была изучена экспрессия МСК ОБ наиболее типичных маркеров гемопоэтических стволовых клеток (ГСК): CD34, CD117 и CD133 (рис. 1). По характеру экспрессии указанных молекул выделяют поздние, средние и ранние популяции ГСК [19]. В целом, данные литературы свидетельствуют, что в большинстве случаев для МСК не свойственна экспрессия данных маркеров [8]. Помимо этого, оценивали наличие на поверхности МСК ОБ других молекул: CD123 ( $\alpha$ -субъединица рецептора к интерлейкину-3), CD71 (рецептор к трансферрину), которые не являются специфичными для ГСК, но часто определяются на их мембране.

Нами показано, что молекулы CD71, CD117, CD123 и CD133 отсутствовали на поверхности МСК ОБ. В то же время в 11 из 15 образцов клеток отмечено наличие молекулы CD34 (до 30 % клеток в культуре) с невысокой интенсивностью экспрессии, составляющей 1,84 [1,40–1,88] усл. ед. Следует отметить, что динамика экспрессии CD34 не была стабильной в процессе культивирования МСК ОБ. Возможно, наличие CD34 зависит от пассажного уровня культуры и фазы ее роста. Данное предположение требует проведения дополнительных исследований.

Среди молекул, опосредующих межклеточные взаимодействия, адгезию к внеклеточному матриксу, на мембране МСК ОБ выявлены молекулы CD11b, CD54 и CD106. Известно, что молекулы клеточной адгезии ICAM-1 (CD54) и VCAM-1 (CD106) характерны также для лейкоцитов и клеток эндотелия. Согласно результатам экспериментальных исследований других авторов, данные молекулы играют важную роль на начальных стадиях реализации механизмов иммуносупрессии с участием МСК. Будучи активированными сигналами воспалительного микроокружения, МСК начинают секрецию хемокинов для привлечения Т-лимфоцитов, одновременно в МСК индуцируется синтез ICAM-1 и VCAM-1. Белки адгезии в свою очередь обеспечивают установление непосредственных межклеточных контактов между Т-лимфоцитами и МСК. В результате на небольшом межклеточном расстоянии становится возможным ингибирование функциональной активности лимфоцитов по принципу паракринного механизма. Имеются данные, что у МСК с нокаутированными генами белков ICAM-1 и VCAM-1 значительно снижается способность к иммуносупрессии [20].

Заслуживает также внимания тот факт, что на МСК ОБ зарегистрирована слабая экспрессия маркера CD11b – интегрин  $\alpha$ M (1,65 [1,53–2,52] усл. ед.), который участвует в адгезии и миграции лейкоцитов при воспалении. Помимо этого известно, что CD11b наряду с молекулой CD18 входит в состав рецепторного комплекса Mac-1 (CR3), который распознает компоненты системы комплемента C3b и C4b. Функция CD11b в МСК ОБ в настоящее время не ясна. Возможно, наличие данного интегрин связано с иммуномодулирующей активностью клеток. В то же время экспрессии молекулы CD11c (интегрин  $\alpha$ X) на поверхности МСК ОБ не наблюдалось.

Изучение других исследуемых маркеров показало наличие экспрессии МСК ОБ мембранной металло-эндопептидазы – молекулы CD10, которая выявляется во множестве тканей, особенно в почках. CD10 инактивирует множество ростовых факторов, цитокинов, сигнальных белков.

Экспрессия тромбомодулина (CD141, BDCA-3) – одного из белков, типичных для клеток эндотелия, моноцитов/макрофагов и субпопуляций ДК, на исследованных МСК ОБ отсутствовала. Другие анализируемые молекулы, свойственные рецепторному аппарату клеток миелоидного ряда – CD15, CD33 и CD62L, также не определялись на поверхности МСК ОБ.

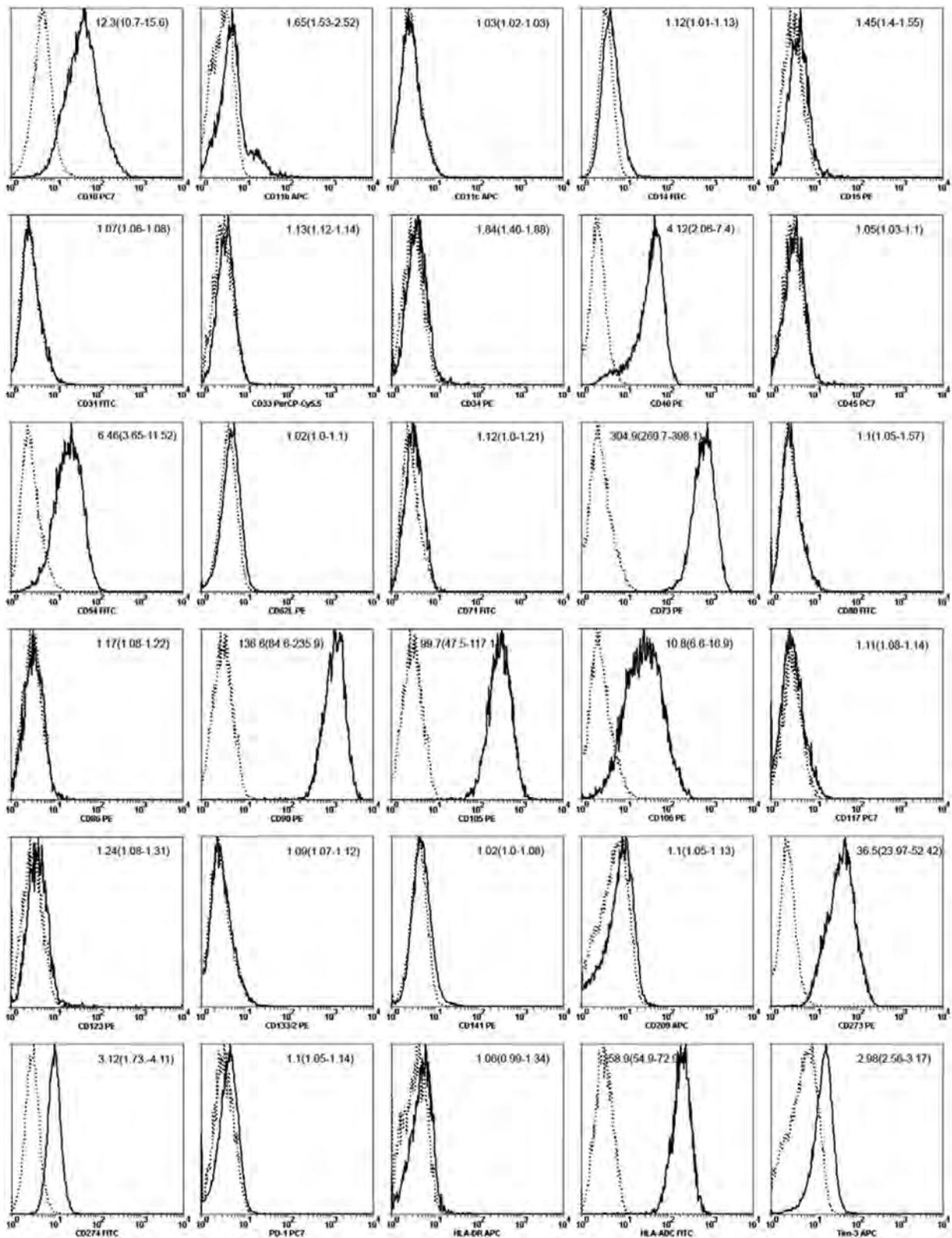


Рис. 1. Типичные гистограммы флуоресценции, иллюстрирующие экспрессию разных молекул на поверхности МСК ОВ. Представлены значения относительной интенсивности флуоресценции

Среди ранее выявленных биологических активностей МСК ОВ особо стоит отметить их иммуномодулирующие свойства по отношению к клеткам иммунной системы [16, 17]. Так как механизм иммуносупрессии в организме реализуется в ходе сложных межклеточных взаимо-

действий, следующим этапом работы стало выявление на поверхности МСК ОБ молекул, способных принимать участие в процессах прямой и опосредованной активации, костимуляции и коингибирования иммуннокомпетентных клеток.

К антигенам данной группы в первую очередь относят молекулы семейства В7, которые обладают костимуляторными свойствами и опосредуют коингибирование межклеточных взаимодействий. К костимуляторным молекулам относят такие маркеры, как В7-1 (CD80) и В7-2 (CD86), а к коингибиторным – В7-DC (CD273, PD-L2), В7-H1 (CD274, PD-L1), В7-H2 (CD275, ICOS-L), В7-H3 (CD276) [21]. Лигандами CD80 и CD86 являются молекулы Т-клеток – CD28 и CD152 (CLTA-4), а коингибиторных молекул CD273, CD274, CD275 и CD276 – молекулы PD-1/2 и ICOS (CD278). В организме человека указанные маркеры выявлены в основном на антигенпрезентирующих клетках (АПК), хотя иногда они могут экспрессироваться фиброцитами и эндотелиальными клетками, также способными к презентации антигенов [22, 23].

Экспрессия еще одной костимуляторной молекулы – CD40 не ограничена АПК, данный маркер экспрессируется субпопуляциями Т-клеток, эпителиальными и эндотелиальными клетками, ГСК и клетками-предшественниками, тучными клетками, гладкомышечными клетками и др. При взаимодействии CD40 со своим лигандом – молекулой CD154 (CD40L) отмечаются активация CD40<sup>+</sup> клетки, усиление экспрессии рецепторов к фактору некроза опухолей, продукция оксида азота и активных форм кислорода и др. [24].

Следует отметить, что в ряде исследований установлено наличие способности МСК к антигенпредставлению [25, 26]. Нами была исследована экспрессия МСК ОБ ряда костимуляторных молекул, а также молекул главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA-DR). Установлено, что из костимуляторных молекул на поверхности МСК ОБ присутствует лишь антиген CD40 (4,12 [2,06–17,4] усл. ед.), а экспрессии CD80 и CD86 не выявлено ни в одной из исследованных культур клеток.

Отсутствие молекул HLA-DR и CD80/CD86 на мембране МСК ОБ, очевидно, указывает на невозможность функционирования МСК ОБ в качестве антигенпредставляющей клетки. В то же время наличие молекулы CD40 на МСК ОБ, указывает, скорее всего, на готовность клеток к активации при контакте с CD154<sup>+</sup> Т-лимфоцитами либо под действием sCD40L, продуцируемого тромбоцитами.

Среди всех коингибирующих молекул важнейшая роль принадлежит белку PD-1 (programmed cell death 1). Это протеин изначально был обнаружен на линиях Т-клеток тимуса, в которых выявлено усиление экспрессии этого белка в ответ на стимуляцию проапоптотическими факторами [27].

PD-1 (CD279) принадлежит к CD28-семейству иммунорецепторов и экспрессируется преимущественно активированными Т- и В-клетками, хотя наличие белка установлено также в моноцитах, макрофагах и даже в ДК [28].

При взаимодействии PD-1 со своими лигандами – коингибиторными молекулами PD-L1 (CD274, В7-H1) или PD-L2 (CD273, В7-DC) отмечается подавление ответа Т- и В-клеток на антигенную стимуляцию, преимущественно за счет активации тирозин фосфатазы SHP-2, а кроме того, происходит индукция апоптоза [28].

Что касается иммуносупрессивных свойств МСК ОБ, нами показано, что все клетки в культуре экспрессировали молекулу CD273 при относительной интенсивности экспрессии, равной 36,5 [23,97–52,42] усл. ед., а относительное число CD274<sup>+</sup> клеток всегда было выше 90 %, хотя интенсивность экспрессии была слабее. Таким образом, наличие молекул CD273 и CD274 на МСК ОБ может объяснять их иммуномодулирующие свойства [16, 17, 29, 30]. Вместе с тем отсутствие молекулы PD-1 на поверхности МСК ОБ указывает на резистентность исследованных мезенхимальных клеток к апоптозу под влиянием PD-1L<sup>+</sup> клеток.

Следует также отметить наличие на МСК ОБ молекулы Tim-3 (3,0 [2,6–3,2] усл. ед.). Эта молекула, связываясь с галектином-9 на поверхности клеток, вызывает апоптоз последних и может опосредовать иммуносупрессивное действие МСК ОБ [31].

В ряде публикаций приводятся данные о том, что МСК ОБ характеризуются повышенной экспрессией нейроспецифичных генов [18]. Кроме того, ранее отмечалось, что еще одной особенностью,

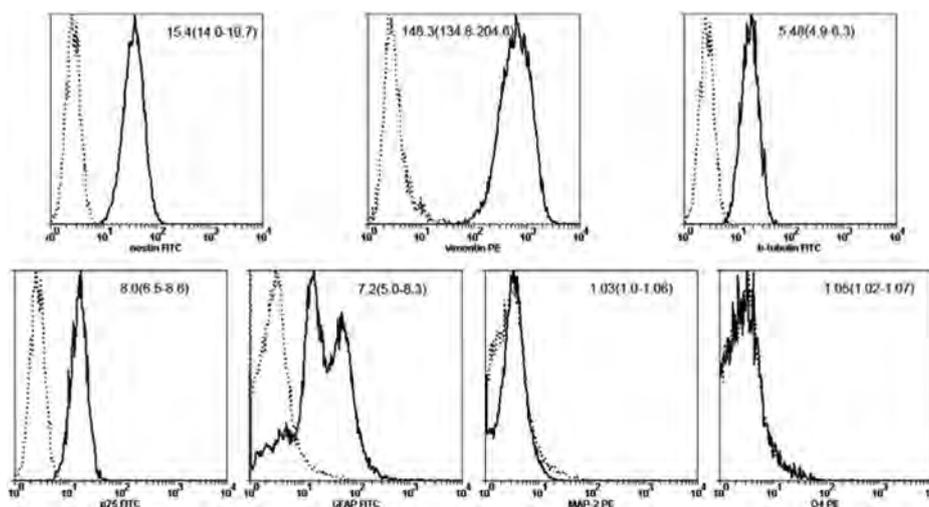


Рис. 2. Типичные гистограммы флуоресценции, иллюстрирующие экспрессию маркеров клеточных популяций нервной ткани на поверхности МСК ОВ. Представлены значения относительной интенсивности флуоресценции

сближающей МСК ОВ и нейральные стволовые клетки (НСК), является способность к образованию цитосфер при росте в культуре [10, 18].

Проведенный нами фенотипический анализ показал, что для МСК ОВ свойственны фенотипические признаки НСК [32, 33]. Так, в цитоскелете МСК ОВ было выявлено совместное присутствие белков цитоскелета – нестина и виментина. Из перечня белков, отличающих более дифференцированные популяции клеток нервной ткани, в МСК ОВ зарегистрирован маркер незрелых нейронов –  $\beta$ -3-тубулин и низкоафинный рецептор нейротрофинов –  $p75^{NTR}$  (рис. 2), а кроме того, выявлены молекулы глиального кислого фибриллярного белка (GFAP) – маркера глии и прогениторных нейральных клеток. В то же время показано отсутствие белка зрелых нейронов – MAP-2 и маркера олигодендроцитов – O4 [34].

Полученные данные свидетельствуют о том, что стволовые клетки соединительнотканной подложки ОВ имеют двойственную природу, поскольку сочетают в себе признаки не только МСК, но и НСК. Вероятно, это свойство МСК ОВ позволило данному типу клеток положительно зарекомендовать себя в ходе экспериментальных исследований, посвященных терапии заболеваний, связанных с повреждениями нервной ткани [12–15].

## Выводы

1. Показано, что в обонятельной области слизистой оболочки носа присутствует популяция тканеспецифичных стволовых клеток, которую по совокупным признакам фенотипа можно отнести к МСК. Причем МСК ОВ сочетают в себе фенотипические признаки как мезенхимальных, так и нейральных стволовых и прогениторных клеток.

2. Среди белков, принимающих участие в модуляции функциональной активности клеток иммунитета, в МСК ОВ выявлены высокая экспрессия коингибиторных молекул CD273 и CD274 и отсутствие молекулы PD-1. Это указывает на наличие у МСК ОВ высокого иммуносупрессивного потенциала при резистентности самих исследованных мезенхимальных клеток к апоптозу.

3. МСК ОВ не экспрессируют костимуляторные молекулы CD80 и CD86, что наряду с отсутствием на поверхности исследованных клеток молекул HLA-DR свидетельствует о невозможности антигенпредставления.

4. Установлено, что МСК ОВ присуща экспрессия белков клеточной адгезии CD11b, ICAM-1 и VCAM-1, которые, обеспечивая межклеточное взаимодействие, участвуют в регуляции функций различных клеток иммунной системы.

Таким образом, спектр выявленных в МСК ОВ молекул свидетельствует, что биопрепараты на основе данного типа стволовых клеток в перспективе могут применяться в клеточной терапии повреждений нервной ткани и в лечении аутоиммунных заболеваний.

## Литература

1. Aizman I. et al. // J. Neurosci. Res. 2009. Vol. 87. P. 3198–3206.
2. Harvey A. et al. // PLoS One [Electronic resource]. 2013. Vol. 11, N 8. – Mode of access: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0079283>. – Date of access: 15.01.2014.
3. Ghannam S. et al. // Stem Cell Res. Ther. 2010. Vol. 1, N 1. P. 2–17.
4. Han Z. et al. // Cell Biosci. [Electronic resource]. 2012. Vol. 2, N 8. – Mode of access: <http://www.celandbioscience.com/content/2/1/8>. – Date of access: 15.01.2014.
5. Patel D. M. et al. // Stem Cells International [Electronic resource]. 2013. Vol. 2013. – Mode of access: <http://www.hindawi.com/journals/sci/2013/496218>. – Date of access: 15.01.2014.
6. Figueroa F. E. et al. // Biol. Res. 2012. Vol. 45. P. 269–277.
7. Dominici M. et al. // Cytotherapy. 2006. Vol. 8, N 4. P. 315–317.
8. Mafi P. et al. // Open Orthopaed. J. 2011. Vol. 5. Suppl. M2–M4. P. 253–260.
9. Tome M. et al. // Stem Cells. 2009. Vol. 27, N 9. P. 2196–2208.
10. Антоневиц Н. Г. и др. // Клет. культуры. Информ. бюл. 2012. Вып. 28. С. 27–36.
11. Антоневиц Н. Г. и др. // Новости мед.-биол. наук. 2014. Т. 10, № 3. С. 102–106.
12. Nivet N. et al. // J. Clin. Invest. 2011. Vol. 121, N 7. P. 2808–2820.
13. Pandit S. et al. // Stem Cells. 2011. Vol. 6. P. 670–677.
14. Пак Н. В. и др. // Вестн. офтальмологии. 2004. Т. 120, № 6. С. 21–24.
15. Lima C. et al. // J. Spin. Cord Med. 2006. Vol. 29. P. 191–203.
16. Trapani M. et al. // Stem Cells Dev. 2013. Vol. 22, N 22. P. 2990–3002.
17. Антоневиц Н. Г., Гончаров А. Е., Чекан В. Л. // Здравоохранение. 2014. № 10. С. 14–19.
18. Weizig A., Mackay-Sim A., Murrell W. // Cell Transpl. 2011. Vol. 20. P. 1673–1691.
19. Маслова Е. В. и др. // Клет. технол. биол. мед. 2013. № 4. С. 238–243.
20. Ren G. et al. // J. Immunol. 2010. Vol. 184. P. 2321–2328.
21. Freeman G. J., Sharpe A. H. // Nat. Immunol. 2012. Vol. 13, N 2. P. 113–115.
22. Rothmel A. et al. // BMC Immunol. [Electronic resource]. 2004. Vol. 5, N 5. – Mode of access: <http://www.biomed-central.com/1471-2172/5/5>. – Date of access: 15.01.2014.
23. Chesney J. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94, N 12. P. 6307–6312.
24. Ni C. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97, N 19. P. 10395–10399.
25. Chan. J. et al. // Blood. 2006. Vol. 107, N 12. P. 4817–4824.
26. Desai M. et al. // Clin. Translational Immunol. [Electronic resource]. 2013. Vol. 2. – Mode of access: <http://www.nature.com/cti/journal/v2/n10/full/cti20139a.html>. – Date of access: 15.01.2014.
27. Okazaki T., Honjo T. // Cell. 2006. Vol. 124, N 3. P. 459–461.
28. Park S. et al. // J. Leukoc. Biol. 2014. Vol. 95, N 4. P. 621–629.
29. Ni X. et al. // Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. 2009. Vol. 17, N 4. P. 990–993.
30. Sheng H. et al. // Cell Res. 2008. Vol. 18, N 8. P. 846–857.
31. Hattiangady B., Shetty A. K. // Neurobiol. Aging. 2008. Vol. 29, N 1. P. 129–147.
32. Sakuishi K. et al. // Trends Immunol. 2011. Vol. 32, N 8. P. 345–349.
33. Vogel W. et al. // Haematologica. 2003. Vol. 88. P. 126–133.
34. Redwine J. M., Evans C. F. // Curr. Top Microbiol. Immunol. 2002. Vol. 265. P. 119–140.

N. H. ANTONEVICH, A. Y. HANCHAROU, V. L. CHEKAN, I. V. SIDORENKO, Z. B. KVACHEVA

### IMMUNOPHENOTYPE OF HUMAN OLFACTORY MUCOSA-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS

#### Summary

The data obtained indicate that hOM-MSCs belong to the MSC-superfamily according to the pattern of antigen expression (CD90<sup>+</sup>CD105<sup>+</sup>CD73<sup>+</sup>CD31<sup>-</sup>CD45<sup>-</sup>HLA-DR<sup>-</sup>). Some neuronal stem/progenitor markers (nestin, β3-tubulin, vimentin, p75, GFAP) were observed in the analyzed cells, suggesting that hOM-MSCs may represent a distinct tissue-specific population of stem cells. The presence of co-inhibitory molecules may explain the immunosuppressive effect of MSC on human T-cells.

стерина и триглицеридов могут иметь особое прогностическое значение, а у здоровых мужчин расцениваться как фактор риска.

Табл. 4. Библиогр. – 31 назв.

УДК 616-13-008.21

**Гайшун Е. И., Гайшун И. В. Зависимость скорости распространения пульсовой волны в общей сонной артерии от частоты сердечных сокращений и пульсового давления у мужчин с артериальной гипертензией // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2015. № 1. С. 32–36.**

Разработана простая формула, позволяющая оценить скорость распространения пульсовой волны в общей сонной артерии пациентов с эссенциальной гипертензией I степени, используя минимум показателей – уровень артериального давления, частоту пульса и возраст. Отличительная черта полученной формулы – возможность учитывать частоту сердечных сокращений, которая существенно влияет на артериальную жесткость, а следовательно, и на скорость распространения пульсовой волны.

Табл. 3. Библиогр. – 13 назв.

УДК 616.94+616.94-001.36]-08:616-006.446-085.277.3-06.-053.2

**Захаревич В. И., Шабуня П. С., Фатыхова С. А., Курман П. В., Дмитриев В. В., Алейникова О. В. Фармакокинетика колистина у детей с химиоиндуцированной нейтропенией // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2015. № 1. С. 37–41.**

Распространение госпитальных штаммов *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью к подавляющему большинству антибиотиков, вновь вызвало повышенный интерес к колистину. В то же время данные о фармакокинетике колистина, необходимые для оптимизации его дозирования, в литературе представлены недостаточно.

Изучена фармакокинетика колистина и колистиметата натрия (КСМ) у детей с химиоиндуцированной нейтропенией. Для количественного определения колистина в сыворотке крови был применен метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с масс-спектрометрией. Определена концентрация колистина после внутривенного введения КСМ у 21 ребенка (13 пациентов с сепсисом, 8 детей контрольной группы) с химиоиндуцированной нейтропенией. Выявлена существенная вариабельность фармакокинетических параметров колистина как у пациентов с сепсисом, так и у лиц контрольной группы.

Метод ВЭЖХ с масс-спектрометрией можно использовать для терапевтического лекарственного мониторинга и оптимизации режима дозирования.

Табл. 1. Библиогр. – 15 назв.

УДК 606:61+576.32/36:57.083.3

**Антоневич Н. Г., Гончаров А. Е., Чекан В. Л., Сидоренко И. В., Квачева З. Б. Иммунофенотипическая характеристика мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки носовой полости человека // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2015. № 1. С. 42–49.**

Исследован иммунофенотип мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки (МСК ОВ) средних носовых ходов человека. Проанализирована экспрессия в культурах МСК ОВ ( $n = 16$ ) 37 поверхностных и внутриклеточных маркеров, специфичных как для стволовых клеток, так и для клеточных популяций различного уровня дифференцировки. Установлено, что исследованные культуры клеток ОВ по совокупным признакам фенотипа относятся к МСК ( $CD90^+CD105^+CD73^+/CD31^-CD45^-HLA-DR^-$ ). Показано, что МСК ОВ экспрессируют ряд молекул, типичных для нейральных (нестин и виментин) и гемопоэтических стволовых клеток ( $CD34$ ), незрелых нейронов ( $\beta$ -3-тубулин,  $p75^{NTR}$ ), миелоидных ( $CD11b$ ), антигенпредставляющих ( $CD40$ ,  $CD273$ ,  $CD274$ ), глиальных (GFAP) и эндотелиальных клеток (ICAM-1 и VCAM-1). Таким образом, МСК ОВ являются популяцией тканеспецифичных стволовых клеток. Спектр выявленных в клетках ферментов, коингибиторных и адгезивных молекул свидетельствует, что биопрепараты МСК ОВ в перспективе могут применяться в клеточной терапии повреждений нервной ткани и в лечении аутоиммунных заболеваний.

Табл. 1. Ил. 2. Библиогр. – 34 назв.

УДК [616.211:616.321.2]:616-072.7-08

**Станкевич С. К., Смянович А. Ф., Шанько Ю. Г., Журавлев В. А., Рубахов А. М. Анализ результатов хирургического лечения базальных ликворей // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2015. № 1. С. 50–54.**

Ежегодное увеличение количества пациентов с назальными ликвореями приводит к росту хирургических вмешательств при пластике ликворных фистул. В современной литературе отсутствует единство во взглядах