

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра физиологии человека и животных

**ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МАКРОФАГОВ И КЛЕТОК
ГЛИАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТА

Студента 4курса 421 группы

Направления 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Кондратьева Евгения Николаевича

Научный руководитель

Доцент кафедры физиологии человека

и животных, к.б.н.,

7.06.18  — Е. И. Саранцева

Зав. кафедрой физиологии человека

и животных, д.б.н., профессор

1.06.18  — О.В. Семячкина-Глушковская

Саратов 2018

ВВЕДЕНИЕ

Опухоли центральной нервной системы являются причиной смерти 2,3 % онкологических больных, занимая четвертое место среди причин смертности от онкологических заболеваний мужчин и женщин работоспособного возраста.

Лечение злокачественных опухолей головного мозга до сих пор является актуальной проблемой. Невзирая на значительные успехи в онкологии за последнее десятилетие, основной целью лечения нейроонкологических больных остается клиническая ремиссия, удлинение жизни больного, сохранение ее качества. Современная тактика лечения нейроонкологических больных базируется на комбинированном лечении, которое включает хирургическое вмешательство с последующим применением адъювантных методов — лучевой и химиотерапии. Однако срок жизни большинства больных не превышает 12 мес.

Неудовлетворительные результаты хирургического лечения больных со злокачественными опухолями головного мозга являются поводом для постановки вопроса о целесообразности изолированного применения оперативного вмешательства для лечения больных и делают актуальным поиск новых методов, способных улучшить результаты терапии.

На данный момент не существует оптимального способа доставки лекарственных препаратов до опухолей в головном мозге. Одним из перспективнейших методов является транспорт лекарственных препаратов с помощью макрофагов. Макрофаги мигрируют к глиоме из-за больших областей гипоксии вокруг опухоли, за счет этого увеличивается миграция макрофагов в области гипоксии. Так же макрофаги способны проникать через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) и выборочно накапливаться в местах нарушения ГЭБ.

В связи с этим была поставлена следующая цель — оценить функциональные возможности макрофагов как транспортеров лекарственных препаратов к глиальной опухоли.

Для решения поставленной цели нами были сформулированы следующие задачи:

1. Разработать методику забора макрофагов из перитонеальной полости;
2. Определить оптимальную молекулярную массу Dextr-TRiTC, при которой макрофаги сохраняют наибольшую метаболическую активность;
3. Подтвердить инфильтрацию макрофагов в области глиомы у крыс;
4. Оценить влияние ICI-118551 и изопротеренола на инфильтрацию макрофагов в области глиомы у крыс

Материалы исследования

Эксперименты проводились на взрослых белых беспородных крысах, обоих полов. На выборке крыс (n=3) впервые были разработаны алгоритмы забора макрофагов из перитонеальной полости, их последующее культивирование и вживление обратно в крыс с гипоксией в головном мозге. Во время эксперимента было проведено изучение метаболической активности макрофагов на двух препаратах Dextr-TRiTC (20 кДа и 70 кДа). Исследование проницаемости ГЭБ для флуоресцентных макрофагов начиненных Dextr-TRiTC 70 кДа проводилось в 3 группах: 1 группа - контрольные, интактные крысы с глиомой; 2 группа - крысы, получавших изопротеренол (25 мг / кг / день, перорально, Сигма, Сент-Луис, Миссури, США) 3 группа – крысы получавшие ICI-118551 (25 мг / кг / день, перорально, Сигма, Сент-Луис, Миссури, США).

Содержание и манипуляции над животными проводили в соответствии с международными правилами гуманного отношения с экспериментальным животным (NIH Publication, 2011).

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Первым этапом нашей работы изучалась метаболическая активность макрофагов при добавлении препарата Dextr–TRiTC (20 кДа и 70 кДа).

Таблица 2 – Метаболическая активность макрофагов в Dextr–TRiTC 20 кДа с С6 клетками глиомы крысы

Разведение	Клет. лин. С6, мкг/мл	20 kDa Dextr–TRiTC			Ср. знач.	Ст. откл.	Ср. зн. в %	Ст. откл. в%
		Пр.1	Пр.2	Пр.3				
12	0,24	0,105	0,096	0,094	0,098	0,006	102,5	5,9
11	0,49	0,101	0,091	0,073	0,088	0,014	92,0	14,5
10	0,98	0,096	0,086	0,077	0,086	0,009	89,9	9,7
9	1,95	0,094	0,089	0,059	0,081	0,019	84,0	19,6
8	3,91	0,094	0,076	0,075	0,082	0,011	85,2	10,9
7	7,81	0,095	0,084	0,078	0,085	0,009	89,0	9,1
6	15,63	0,085	0,084	0,087	0,085	0,002	88,9	2,0
5	31,25	0,095	0,079	0,067	0,080	0,014	83,4	14,4
4	62,5	0,102	0,087	0,067	0,085	0,017	88,9	18,0
3	125	0,120	0,102	0,089	0,103	0,015	107,7	16,1
2	250	0,104	0,111	0,101	0,105	0,005	109,6	5,3
1	500	0,123	0,121	0,142	0,129	0,011	133,9	11,9

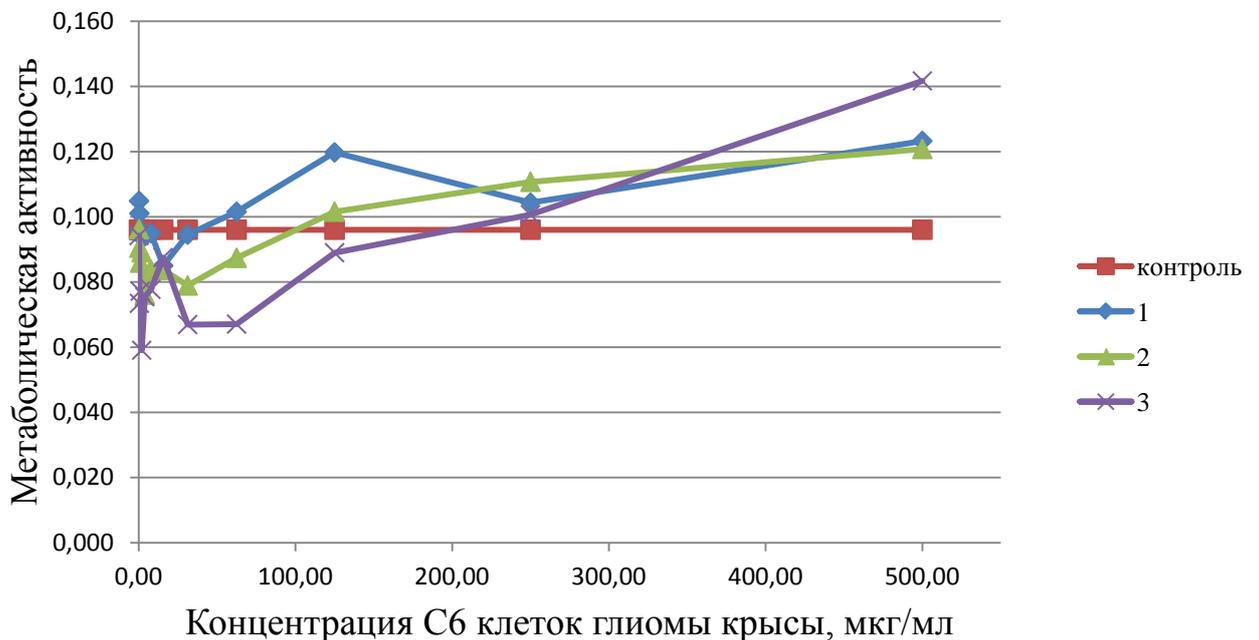


Рисунок 2 – График метаболической активности макрофагов в Dextr–TRiTC 20 кДа с С6 клетками глиомы крысы



Рисунок 3 – График средних значений (в %) метаболической активности макрофагов в Dextr–TRiTC 20 кДа с С6 клетками глиомы крысы

В ходе работы были получены данные говорящие о том что макрофаги обладают наибольшей метаболическую активностью при концентрации клеток глиомы крыс С6 равной 500 мкг/мл, среднее значение составило 133,9% Dextr–TRiTC 20 кДа.

Таблица 3 – Метаболическая активность макрофагов в Dextr–TRiTC 70 кДа с С6 клетками глиомы крысы

Разведение	Клет. лин. С6, мкг/мл	70 kDa Dextr–TRiTC			Ср. знач.	Ст. откл.	Ср. зн. в %	Ст. откл. в%
		Пр.1	Пр.2	Пр.3				
12	0,24	0,095	0,102	0,079	0,092	0,012	95,7	12,3
11	0,49	0,101	0,088	0,086	0,092	0,008	95,4	8,2
10	0,98	0,080	0,080	0,097	0,086	0,010	89,1	10,0
9	1,95	0,079	0,085	0,091	0,085	0,006	88,5	6,5
8	3,91	0,083	0,087	0,088	0,086	0,003	89,6	2,8
7	7,81	0,079	0,076	0,085	0,080	0,005	83,0	5,0
6	15,63	0,080	0,079	0,090	0,083	0,006	86,5	6,5
5	31,25	0,072	0,077	0,091	0,080	0,010	83,4	10,4
4	62,5	0,092	0,088	0,098	0,093	0,005	96,4	5,5
3	125	0,101	0,088	0,102	0,097	0,008	100,9	8,2
2	250	0,105	0,092	0,095	0,097	0,007	101,3	6,9
1	500	0,133	0,162	0,149	0,148	0,014	154,2	14,9

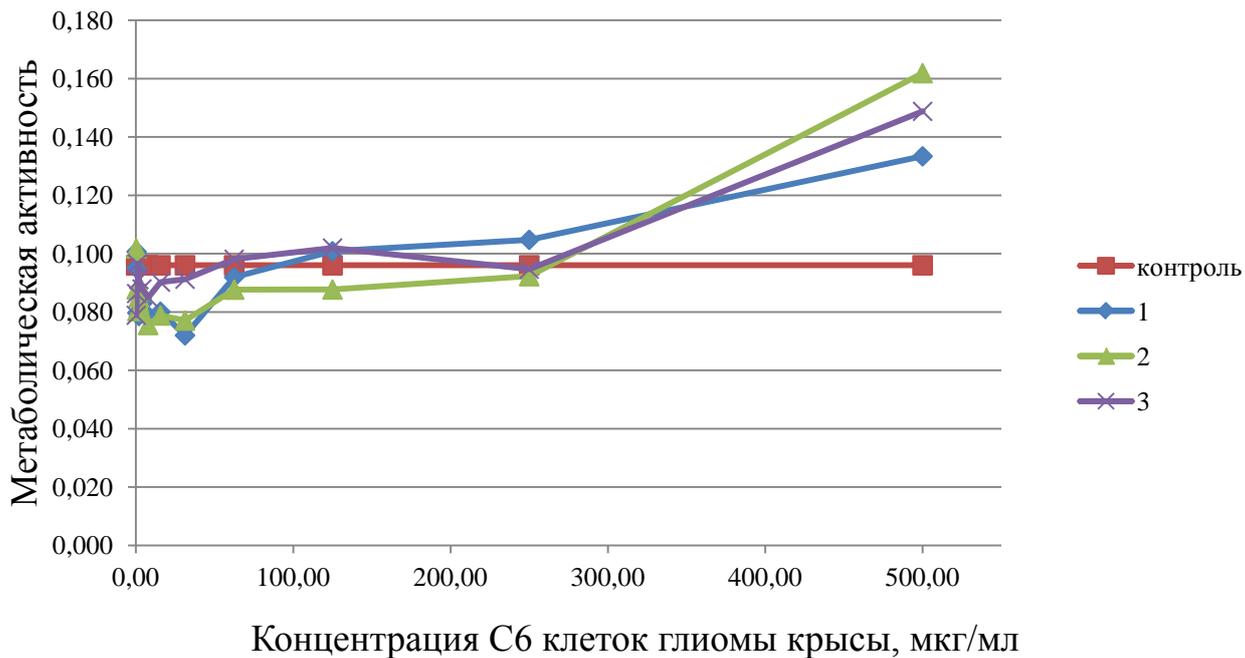


Рисунок 4 – График метаболической активности макрофагов в Dextr-TRiTC 70 кДа с С6 клетками глиомы крысы



Рисунок 5 – График средних значений (в %) метаболической активности макрофагов в Dextr-TRiTC 70 кДа с С6 клетками глиомы крысы

В ходе работы были получены данные говорящие о том что макрофаги обладают наибольшей метаболической активностью при концентрации клеток глиомы крыс С6 равной 500 мкг/мл, среднее значение составило 154,2 % Dextr-TRiTC 70 кДа.

Исследовав метаболическую активность макрофагов с использованием Dextr-TRiTC (20 кДа и 70 кДа) было установлено что макрофаги имеют большую метаболическую активность когда используется Dextr-TRiTC 70 кДа.

Следующим этапом в эксперименте, было определение наличия макрофагов вне кровеносных сосудов в головном мозге. Мы исследовали эффекты ICI-118551 на инфильтрацию макрофагов у крыс с поздней стадией глиомы (28 дней). С этой целью мы выбрали макрофаги из крови крыс, затем загрузили их флуоресцентным Dextr-TRiTC 70 кДа и вернули флуоресцентные макрофаги в кровообращение посредством внутривенной инъекции тем же животным. В результате мы не наблюдали макрофагов в мозге крыс из контрольной группы, а также крыс, которые были обработаны ICI-118551, несмотря на высокую проницаемость ГЭБ для Dextr-TRiTC 70 кДа.

Таким образом, наше исследование показало, что макрофаги проникают из кровеносных сосудов в головной мозг в местах повреждения ГЭБ в месте образования глиомы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день, не смотря на успехи в онкологии, лечение глиомы сопряжено с высокой вероятностью клинической ремиссии, из-за несовершенства методов лечения. Это приводит к тому, что большинство пациентов не могут вылечиться до конца и срок жизни после лечения не превышает, за частую, 12 месяцев.

Лечение глиомы усложняют многие факторы: развитие в процессе лечения резистентности опухоли к средствам традиционной терапии, косвенное неблагоприятное действие на здоровую ткань мозга противоопухолевых агентов, ограниченная способность ткани мозга к восстановлению. Негативно сказывается также проникновение опухолевых клеток в паренхиму мозга, наличие тех или других нарушений ГЭБ, повышенная проницаемость капилляров, которая приводит к возникновению перитуморального отека и повышению внутримозгового давления. Кроме того, при лечении бывает очень трудно выявить разницу между прогрессом опухолевого роста и осложнениями терапии (например, некрозом опухоли и изменениями целостности гематоэнцефалического барьера в условиях облучения или корректировки доз глюкокортикоидов).

Поэтому разработка методов точной доставки лекарственных препаратов, в настоящее время, является одним из перспективнейших направлений в борьбе с онкологическими заболеваниями. Эти методы позволят более точно уничтожать раковые опухоли, что может снизить вероятность ремиссии у пациентов.

1.06.18
Копир