

© Коллектив авторов, 2015
УДК 616.14-0056.08:599.323.4

*И.В.Майбородин¹, В.В.Морозов¹, Я.В.Новикова¹, В.А.Матвеева¹, Л.В.Артемьева¹,
А.Л.Матвеев¹, Р.В.Маслов², Н.В.Оноприенко³, Г.А.Частикин¹*

АНГИОГЕНЕЗ В ТКАНЯХ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ СТРОМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОМЗГОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ РЯДОМ С ТРОМБИРОВАННОЙ ВЕНОЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹ Центр новых медицинских технологий (зав. — проф. А.И.Шевела), Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск; ² кафедра пародонтологии стоматологического факультета (зав. — проф. О.О.Янушевич), Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова; ³ кафедра акушерства и гинекологии (зав. — проф. И.О.Маринкин), Новосибирский государственный медицинский университет

На взрослых крысах-самцах линии Wag (n=214) методами люминесцентной микроскопии изучали результаты введения аутологичных мультипотентных стромальных стволовых клеток костномозгового происхождения (АССККП) с геном зеленого флуоресцентного белка и дополнительно меченных красителем клеточных ядер DAPI рядом с тромбированной веной задней конечности. Контролем служили интактные крысы (n=12), животные с венозным тромбозом без использования АССККП (n=71) и с паравазальным применением АССККП, но без предварительного моделирования венозного тромбоза (n=72). Было обнаружено, что АССККП принимают участие в развитии грануляций в месте хирургического вмешательства, выполненного при моделировании тромбоза. Быстрое развитие грануляций на участке операционной травмы может способствовать более быстрому очищению раны от детрита, нежизнеспособных тканей и антигенных веществ, раннему началу репаративных процессов и скорому заживлению. Восстановление кровотока в тканевом регионе тромбированной вены начинается позже, чем при внутривенной инъекции АССККП.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, венозный тромбоз, реканализация тромба, ангиогенез, восстановление кровотока

В настоящее время наблюдается увеличение числа больных с сосудистыми тромбозами [3], при этом успех репаративных процессов во многом определяется развитием коллатерального кровотока и реканализацией самого тромба. Анализ причин неудачного лечения таких больных свидетельствует о том, что для их преодоления необходимо как усовершенствование технологии медикаментозного и хирургического лечения, так и создание оптимальных условий для восстановления кровотока.

Красный костный мозг содержит прогениторные клетки, способные к дифференцировке в эндотелиоциты и перicytes. Это позволяет широко применять такие клетки для ускорения ревазуляризации тканей с нарушенной микроциркуляцией [6, 7, 9, 11, 12, 17]. Ревазуляризация

тромба, быстрая реканализация вены и восстановление кровообращения в ишемизированных в результате тромбоза тканях были достигнуты в экспериментальных моделях с проангиогенными агентами [5, 7, 10, 13, 14, 17].

Методами люминесцентной микроскопии изучали результаты введения аутологичных мультипотентных стромальных (мезенхимальных) стволовых клеток костномозгового происхождения (АССККП) с геном зеленого флуоресцентного белка (GFP) в тромбированную вену задней конечности крыс. Было обнаружено, что восстановление кровотока в тромбированной магистральной вене всегда идет за счет тромболизиса. Признаков встраивания введенных АССККП в стенку тромбированного сосуда, реканализации тромба и формирования коллатералей обнаружено не было [1].

Сведения об авторах:

Майбородин Игорь Валентинович (e-mail: imai@mail.ru), *Морозов Виталий Валерьевич*, *Новикова Яна Владимировна*, *Матвеева Вера Александровна*, *Артемьева Людмила Владимировна*, *Матвеев Андрей Леонидович*, *Частикин Геннадий Анатольевич*, Центр новых медицинских технологий, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Акад. Лаврентьева, 8;

Маслов Роман Владимирович, кафедра пародонтологии стоматологического факультета, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова, 127473, Москва, ул. Делегатская, 20, стр.1;

Оноприенко Наталья Валентиновна, кафедра акушерства и гинекологии, Новосибирский государственный медицинский университет, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

При моделировании тромбоза в эксперименте введением тромбина и лигированием магистральной вены также происходит тромбирование ее мелких ветвей, где восстановление кровотока происходит или путем реканализации тромба или прорастания новых. АССККП участвуют в обоих этих процессах, что приводит к более быстрому восстановлению кровотока в тканевом микрорайоне пораженной вены [1].

Однако остается открытым вопрос, будет ли эффективным введение АССККП не в тромбированную вену, ток крови по которой нарушен, а в ткани рядом с такой веной. Не исключено, что паравазальная инъекция АССККП окажется более действенной в плане формирования новых сосудов и восстановления тока крови не в тромбированной вене, а именно в ее тканевом регионе.

В связи с изложенным целью настоящего исследования было изучение возможности паравазального применения АССККП для восстановления кровотока в тромбированной вене в эксперименте.

Материал и методы. Исследование проведено на самцах крыс линии Wag массой 180–200 г в возрасте 6 мес ($n=214$) с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», все манипуляции осуществляли под общим ингаляционным эфирным наркозом.

Получение АССККП, культивирование и трансфицирование ДНК плазмиды, содержащей ген GFP, были описаны ранее [1, 2, 8]. Кроме того, часть АССККП с геном GFP инкубировали согласно инструкции производителя (Sigma, США) с красителем ядер клеток DAPI в концентрации 1 мг/мл среды α -MEM с 10% эмбриональной сывороткой теленка, антибиотиком/антимикотиком (Gibco, США) в CO_2 -инкубаторе в атмосфере насыщенной влажности. Через 10 мин среду сливали, клетки промывали физиологическим раствором на основе фосфатно-солевого буфера Дальбекко (Биолот, Россия) и заливали культуральной средой.

Для моделирования венозного тромбоза использовали метод S. Wessler и соавт. [18], который применяется в настоящее время и подробно описан нами ранее [1]. Через 1 сут осуществляли повторный доступ к тромбированной вене и после удаления лигатуры в ткани справа и слева (не далее 5 мм) от тромбированной вены вводили по 50 мкл суспензии АССККП в культуральной среде (1×10^6 клеток в 1 мл). Животных умерщвляли передозировкой эфирного наркоза через 4 сут, 1, 2, 3, 4 и 5 нед после введения АССККП. В качестве контроля использовали intactных крыс ($n=12$), животных с венозным тромбозом без использования АССККП ($n=71$) и с паравазальным применением АССККП без предварительного моделирования венозного тромбоза ($n=72$). Половине животных последней группы через 4 сут и 2 нед вводили АССККП с геном GFP и меткой ядер DAPI.

Бедерную вену с окружающими тканями фиксировали в 4% растворе параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7,4) не менее 24 ч, обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заливали в парафин. Неокрашенные срезы толщиной 5–7 мкм изучали под световым микроскопом Axioimager M1 (Zeiss, Германия)

при увеличении до 1500 раз в режиме люминесценции с фильтрами Alexa 488 или DAPI.

Результаты исследования. При исследовании методом люминесцентной микроскопии у intactных животных и при тромбозе без последующего введения АССККП во все сроки наблюдения в стенке магистральных сосудов и в паравазальной ткани (рис. 1, а), а также в тканях вдали от сосудистого пучка и в сосудах, проходящих в мышце бедра, специфическое свечение отсутствовало.

Через 4 сут у контрольных животных, которым были введены АССККП, не только меченные GFP, но и с меткой клеточных ядер DAPI обнаружено, что в паравазальной ткани присутствовали единичные специфически светящиеся клетки. В некоторых случаях эти клетки были выстроены в короткие цепочки. В грануляционной ткани встречались небольшие группы мелких сосудов, стенки которых полностью состояли из светящихся клеток (рис. 2, а–в). Использование двойной метки введенных АССККП позволило доказать их участие в ангиогенезе: при использовании фильтра «Alexa 488» в клетках ярким зеленым цветом светилась цитоплазма и оставалось темным ядро, при применении фильтра «DAPI» ядро светилось синим цветом, что было хорошо видно после совмещения результатов исследования с разными фильтрами для ультрафиолетового света (см. рис. 2, а–в).

Через 4 сут после тромбирования вены и введения АССККП в ткани вокруг сосуда непосредственно в самой вене сохранялись только остатки тромба, большая часть просвета такого сосуда была свободна. Фрагменты тромба на значительном протяжении располагались у стенки сосуда (пристеночный тромбоз) и были фрагментированы на более мелкие остатки и содержали крупные клетки, скорее всего, макрофаги.

В тканях вокруг сосуда, в грануляциях на месте хирургического вмешательства было обнаружено множество отдельно расположенных клеток со специфическим свечением в цитоплазме, а иногда — группы мелких сосудов капиллярного типа, в стенке которых также присутствовали светящиеся клетки. В некоторых случаях можно было видеть специфическое свечение в цитоплазме клеток и более темное ядро (см. рис. 1, б).

Через 1 нед после инъекции АССККП рядом с нормальной веной в паравазальной ткани и остатках послеоперационных грануляций присутствовали единичные сосуды со специфически светящимися клетками в их стенках. В некоторых случаях были обнаружены группы мелких сосудов капиллярного типа со светящимися стенками

и в них отдельные светящиеся клетки с более темным ядром (см. рис. 1, в).

После тромбирования вены и введения АССККП в ткани вокруг сосуда тромб почти полностью лизирован и от него остались только мелкие пристеночные фрагменты. Ни у одного животного светящихся объектов в стенке тромбированной вены не обнаружено (см. рис. 1, г).

В тканях на месте операции были отмечены мелкие сосуды, стенка которых содержала светящиеся клетки. Такие сосуды были крупнее, и их стенка была толще, чем в предыдущий срок (рис. 1, д). В некоторых случаях можно было видеть клетки с ярким специфическим свечением в цитоплазме и с темным ядром (см. рис. 1, д).

Через 2 нед у животных после введения АССККП и мечения GFP и ядерным красителем DAPI возле интактной вены в большинстве наблюдений в паравазальной ткани и в послеоперационном рубце присутствовали единичные специфически светящиеся клетки. Также были обнаружены небольшие группы мелких сосудов, в стенке которых имелись светящиеся клетки. При использовании фильтра «Alexa 488» в них ярко светила зеленая цитоплазма и оставалось темное ядро, а при применении фильтра DAPI — отмечено специфическое синее свечение ядра (см. рис. 2, г–е).

Через 2 нед после введения АССККП рядом с тромбированной веной проходимость всех сосудов была практически восстановлена. Ни у одного животного светящихся объектов в стенке тромбированной вены не обнаружено.

Количество сосудов со светящимися клетками в ткани около сосудистого пучка уменьшилось, практически исчезли структуры, похожие на грануляции. Очень редко были обнаружены группы сосудов, в стенках которых имелись клетки, со специфическим свечением в цитоплазме (см. рис. 1, е).

В этот срок появилось специфическое свечение стенок отдельных сосудов венозного типа в мышечной ткани бедра. Практически всегда сосуды со специфическим свечением имели широкий просвет, в некоторых случаях в нем находились остатки тромба с макрофагами. Иногда такие сосуды с тромбом имели вид, характерный для процесса реканализации. Стенка сосуда была утолщена, в ней находились крупные клетки с темным ядром и светящейся цитоплазмой (см. рис. 1, ж). Просвет сосуда заполнен гетерогенными массами с большими отверстиями и перегородками между ними, скорее всего, остатками частично лизированного тромба (см. рис. 1, ж).

Через 3, 4 и 5 нед после введения АССККП около нормального сосуда как в стенке вены, так и в паравазальной ткани, а также в месте хирургического вмешательства не обнаружено специфически светящихся объектов.

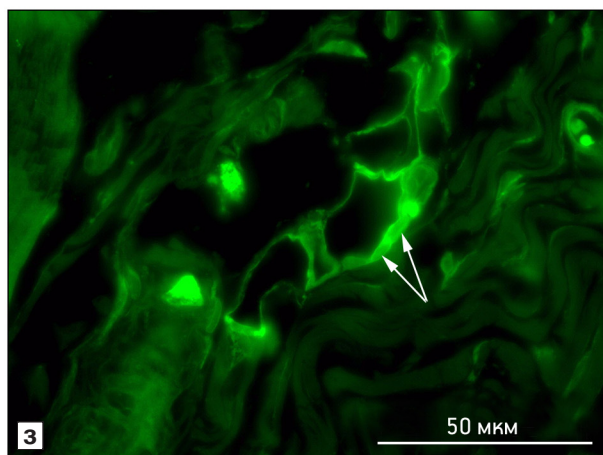
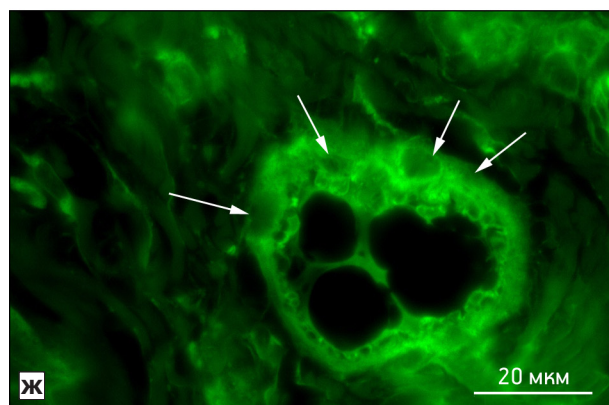
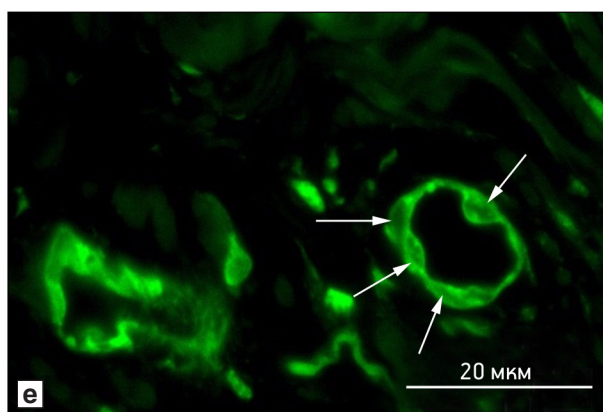
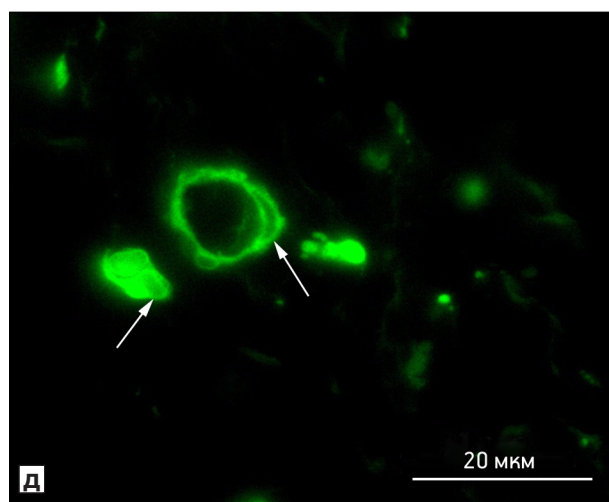
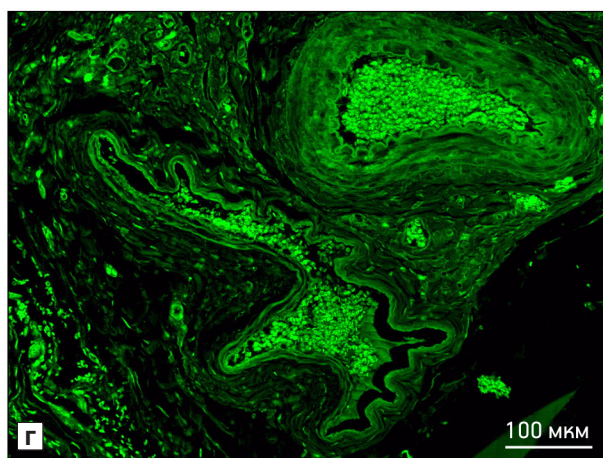
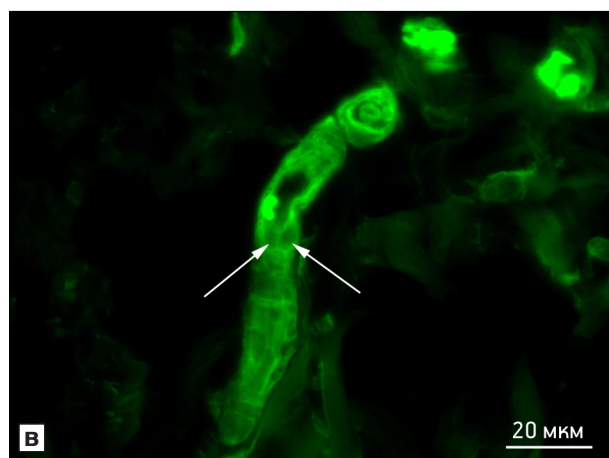
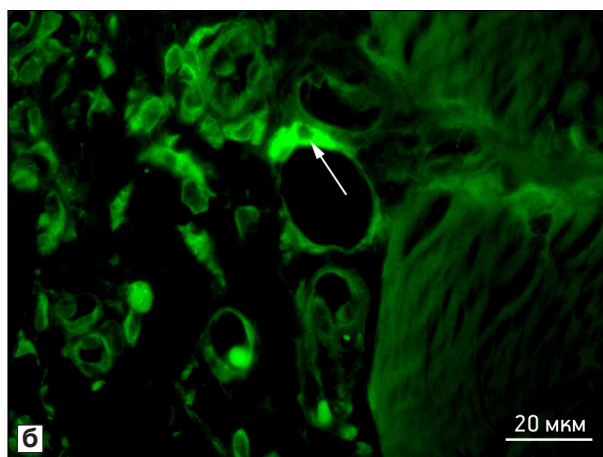
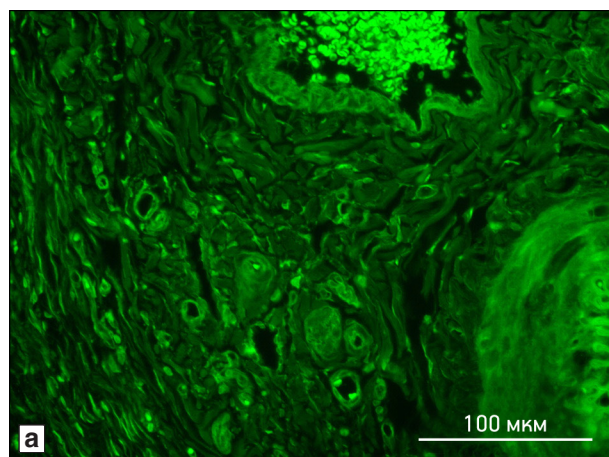
После операции по моделированию венозного тромбоза и введения АССККП рядом с тромбированной веной, как и в более ранние сроки, ни у одного животного светящихся объектов в стенке этой вены не обнаружено, так же как и фрагментов тромба в ее просвете.

Основное место как в паравазальной, так и в рубцовой ткани на месте хирургического вмешательства и в грануляциях занимали сосуды без специфического свечения в своих структурах. Значительно реже и только в срок 3 нед имелись группы сосудов со специфическим свечением в стенке, но они были небольшими (см. рис. 1, з). В стенке таких сосудов можно было видеть клетки с ярко светящейся цитоплазмой и ядром (см. рис. 1, з).

Обсуждение полученных данных. Несмотря на многочисленные данные литературы о положительных результатах применения клеточных технологий при лечении сосудистых тромбозов [6, 7, 9, 11, 12, 17], согласно нашим предыдущим [1] и настоящим результатам, вос-

Рис. 1. Ангиогенез после моделирования венозного тромбоза у крыс и введения аутологичных мультипотентных стромальных стволовых клеток костномозгового происхождения (АССККП) в ткани рядом с нетромбированной и тромбированной веной.

а — в стенках магистральных сосудов и сосудов паравазальной ткани у интактного животного специфическое свечение отсутствует; б — 4 сут после введения АССККП рядом с тромбированной веной; в стенке сосуда видна клетка со специфическим свечением в цитоплазме и темным ядром (стрелка); в — в грануляционной ткани и формирующемся рубце на месте операции спустя 1 нед после введения АССККП рядом с нормальной веной видны мелкие сосуды со специфически светящимися стенками и в них отдельные клетки с более темными ядрами (стрелки); г, д — 1 нед после введения АССККП рядом с тромбированной веной. г — светящихся объектов в тромбе и стенке вены нет; д — сосуды и клетки со специфическим свечением в цитоплазме, более темным ядром (стрелки); е, ж — 2 нед после введения АССККП рядом с тромбированной веной. е — в паравазальной ткани группа сосудов, в стенке которых клетки с ярко светящейся цитоплазмой и темными ядрами (стрелки); рядом со светящимися сосудами сосуды без свечения; ж — в мышцах бедра светящийся тромбированный сосуд в момент реканализации тромба: стенка сосуда утолщена, в ней расположены крупные клетки с темным ядром и ярко светящейся цитоплазмой (стрелки); з — 3 нед после введения АССККП рядом с тромбированной веной. В ткани послеоперационного рубца небольшие группы сосудов со специфически светящимися стенками; клетки со светящейся цитоплазмой и ядром (стрелки). Неокрашенные срезы в отраженном ультрафиолетовом свете с фильтром «Alexa 488»



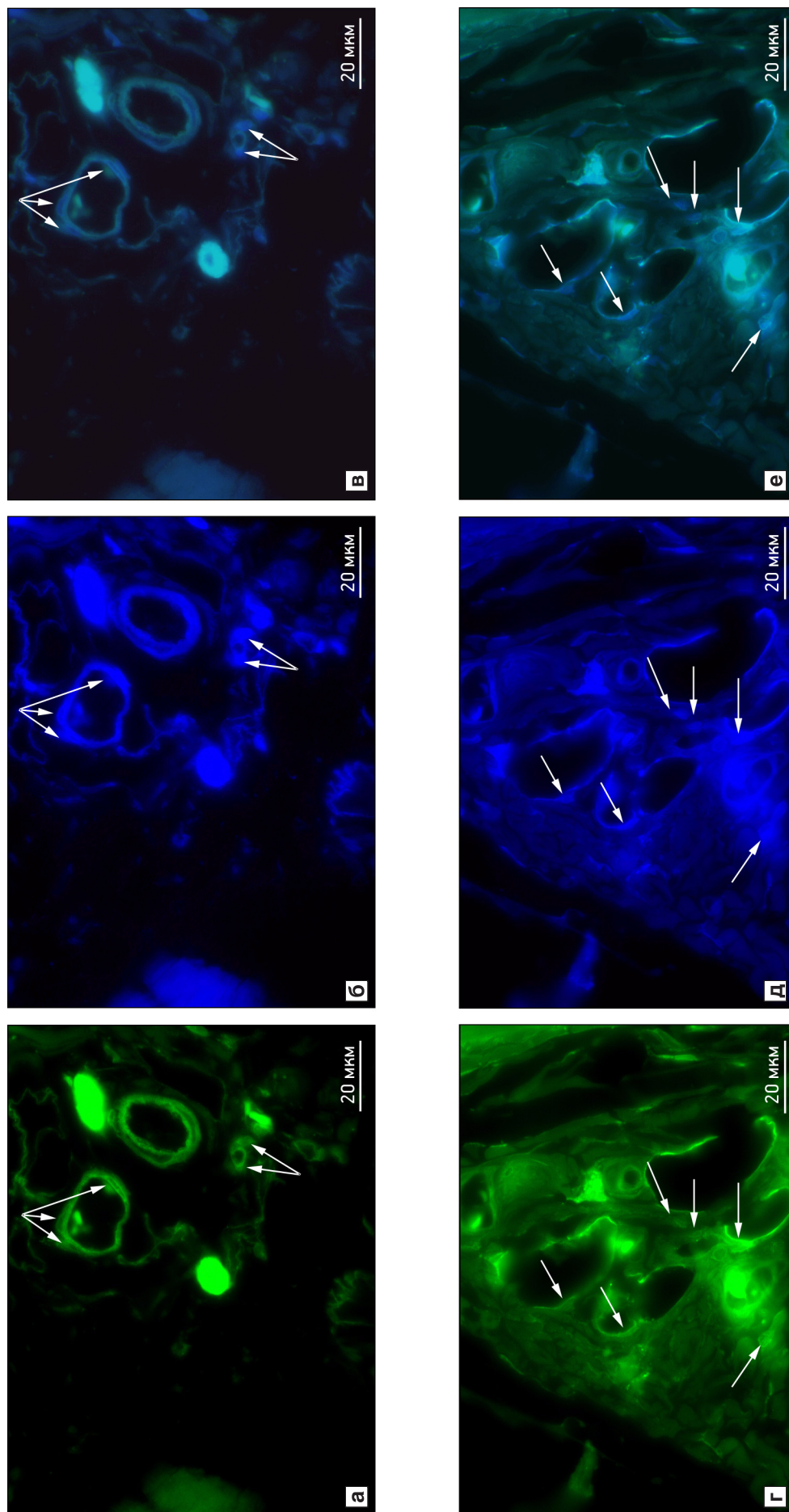


Рис. 2. Ангиогенез в послеоперационной грануляционной ткани после введения аутологичных мультипотентных стромальных стволовых клеток костномозгового происхождения (АССККП), меченных зеленым флуоресцентным белком GFP и ядерным красителем DAPI, рядом с нетромбированной веной.

а, б, в — 4 сут после введения АССККП в месте хирургического вмешательства присутствуют небольшие группы мелких сосудов, стенки которых состоят из светящихся клеток. Иногда на фоне светящейся зеленым цветом цитоплазмы видно более темное ядро, окрашенное при использовании фильтра «DAPI» в синий цвет (стрелки); г, д, е — 2 нед после инъекций АССККП в грануляционной ткани на месте операции видны группы мелких сосудов, в стенке которых содержатся единичные светящиеся клетки с более темными ядрами, окрашенными в синий цвет при применении фильтра «DAPI» (стрелки). а, г — неокрашенные срезы в отраженном ультрафиолетовом свете с фильтром «Alexa 488»; б, д — неокрашенные срезы в отраженном ультрафиолетовом свете с фильтром «DAPI»; в, е — результат компьютерного совмещения рис. а, б и г, д

становление кровотока в тромбированной магистральной вене в эксперименте на крысах всегда идет за счет тромболизиса, приводящего уже к 4-м суткам к рассасыванию значительной — большей части тромба в магистральной вене. Встраивания АССККП в стенку тромбированного сосуда не обнаружено ни в одном случае во все сроки эксперимента, как и признаков реканализации тромба и формирования коллатералей.

При паравазальном введении АССККП без предварительного тромбирования вены в месте хирургического вмешательства было отмечено появление групп мелких сосудов, в стенке которых имелись клетки с ярко светящейся зеленым цветом цитоплазмы при использовании фильтра «Alexa 488» и светящимся синим цветом ядром при применении фильтра DAPI, т.е. уже к 4-м суткам в грануляциях, развивающихся на месте хирургической травмы, содержались сосуды, сформированные из введенных АССККП. Рост сосудов происходит как в результате прорастания уже имеющихся в регионе сосудов, так и за счет неопластического с привлечением клеток-предшественников из костного мозга [4, 15, 16]. При введении АССККП они сразу начинают встраиваться в растущие сосуды и формировать новые в результате дифференцировки в эндотелио- и перicyты [2, 8]. Следует отметить, что при внутривенном введении АССККП было показано преимущественное формирование из них сосудов в тканях региона тромбированной вены [1].

Начиная с 1 нед после инъекции АССККП рядом с нормальной веной, количество светящихся клеток и сосудов, построенных из них, в месте хирургического вмешательства постепенно уменьшается, а с 3-й недели светящихся объектов практически нет. Наиболее вероятно, что это связано с заживлением раны и инволюцией грануляций.

После введения АССККП на фоне сосудистого тромбоза в исследованные сроки в послеоперационных грануляциях присутствовало множество отдельно расположенных клеток со специфическим свечением в цитоплазме или группы мелких сосудов капиллярного типа, стенки которых состояли из клеток со светящейся цитоплазмой и более темным ядром. Количество таких сосудов постепенно нарастало, и их стенки становились толще.

Доказательством того, что указанные группы сосудов были сформированы именно в результате введения АССККП и из них, является свечение цитоплазмы клеток. Ген GFP, введенный в ДНК АССККП, неизменным передается дочерним клеткам и клеткам следующих поколений.

Эти клетки и структуры, сформированные из них, точно также светятся в отраженном ультрафиолетовом свете. Таким образом экономится время на миграцию собственных плюрипотентных клеток к месту операции и ускоряются процессы развития грануляций.

С 2 нед от начала эксперимента количество сосудов со светящимися клетками в ткани возле сосудистого пучка начинает уменьшаться, постепенно исчезают структуры, похожие на грануляции. В основном там присутствуют сосуды без светящихся клеток в их стенке, и только в отдельных случаях в сосудистой стенке были обнаружены клетки со свечением.

В ранние сроки эксперимента не было отмечено, но через 2 нед появилось специфическое свечение стенки сосудов венозного типа, расположенных в мышечной ткани бедра. Практически всегда сосуды со специфическим свечением имели широкий просвет. Иногда в мышечной ткани бедра были найдены сосуды с широким просветом, в котором находились остатки тромба с макрофагами.

Патогенез тромбирования мелких сосудов, проходящих в мышечной ткани бедра, после введения тромбина, а также возможный механизм участия введенных АССККП в разрешении тромбоза были рассмотрены ранее [2] и останавливаться на этом еще раз не будем.

Следует особо отметить, что при внутривенном введении АССККП было показано преимущественное формирование из них сосудов в тканях региона пораженной вены уже к 4-м суткам после применения клеточных технологий [1], т.е. в этом случае ангиогенез в ранние сроки преимущественно усиливается в мышцах бедра, а при паравазальном введении АССККП — в области хирургической травмы.

Не исключено, что быстрое развитие грануляций в месте хирургического вмешательства после инъекции АССККП рядом с тромбированным сосудом может способствовать более быстрому очищению раны от детрита, нежизнеспособных тканей и антигенных веществ, раннему развитию репаративных процессов и быстрому ее заживлению.

К 3-й неделе завершается репарация тканей, и полностью формируется рубец на месте операции. Численность сосудов, в стенке которых имеются светящиеся объекты, начинает сокращаться. Также уменьшается интенсивность свечения клеток в сосудистой стенке.

Постепенное исчезновение свечения в стенке сосудов не всегда означает, что появились новые сосуды, построенные с участием собственных

стволовых клеток, а сосуды, сформированные с привлечением введенных АССККП, исчезли. По-видимому, сначала сосуды в паравазальной ткани и грануляциях образуются с участием привнесенных извне АССККП. Постепенно, с исчезновением грануляций, на таких участках исчезают и сосуды, сформированные из клеток с белком GFP.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Фундаментальных исследований президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине» (проект № 2012-22 «Применение клеточных технологий для коррекции венозного тромбоза в эксперименте»).

ЛИТЕРАТУРА

1. Майбородин И.В., Морозов В.В., Новикова Я.В. и др. Морфологические результаты введения стромальных стволовых клеток костномозгового происхождения в тромбированную вену в эксперименте // Морфология. 2012. Т. 142, вып. 4. С. 54–61.
2. Майбородин И.В., Якимова Н.В., Матвеева В.А. и др. Морфологический анализ результатов введения аутологичных стволовых стромальных клеток костномозгового происхождения в рубец матки крыс // Морфология. 2010. Т. 138, вып. 6. С. 47–55.
3. Шевченко Ю.Л., Стойко Ю.М., Лыткина М.И. Основы клинической флебологии. М.: Медицина, 2005.
4. Carmeliet P., Luttun A. The emerging role of the bone marrow-derived stem cells in (therapeutic) angiogenesis // Thromb. Haemost. 2001. Vol. 86, № 1. P. 289–297.
5. Chen Y.K., Jiang X.M., Gong J.P. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor enhanced the resolution of venous thrombi // J. Vasc. Surg. 2008. Vol. 47, № 5. P. 1058–1065.
6. Gu Y., Qi L., Zhang J. et al. Middle-term outcome of autologous bone marrow mononuclear cells transplantation for treatment of lower limb ischemia // Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. 2009. Vol. 23, № 3. P. 341–344.
7. Li X.Q., Meng Q.Y., Wu H.R. Effects of bone marrow-derived endothelial progenitor cell transplantation on vein microenvironment in a rat model of chronic thrombosis // Chin. Med. J. (Engl.). 2007. Vol. 120, № 24. P. 2245–2249.
8. Maiborodin I., Yakimova N., Matveeva V. et al. Angiogenesis in rat uterine scar after introduction after autologous mesenchymal stem cells of bone marrow origin // J. Biomed. Sci. Engineering. 2011. Vol. 4, № 3. P. 164–172.
9. Meng Q.Y., Li X.Q., Yu X.B. et al. Transplantation of VEGF165-gene-transfected endothelial progenitor cells in the treatment of chronic venous thrombosis in rats // Chin. Med. J. (Engl.). 2010. Vol. 123, № 4. P. 471–477.
10. Modarai B., Burnand K.G., Humphries J. et al. The role of neovascularisation in the resolution of venous thrombus // Thromb. Haemost. 2005. Vol. 5. P. 801–809.
11. Modarai B., Burnand K.G., Sawyer B., Smith A. Endothelial progenitor cells are recruited into resolving venous thrombi // Circulation. 2005. Vol. 111, № 20. P. 2645–2653.
12. Modarai B., Humphries J., Burnand K.G. et al. Adenovirus-mediated VEGF gene therapy enhances venous thrombus recanalization and resolution // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2008. Vol. 28, № 10. P. 1753–1759.
13. Moldovan N.I., Asahara T. Role of blood mononuclear cells in recanalization and vascularization of thrombi: past, present, and future // Trends Cardiovasc. Med. 2003. Vol. 13, № 7. P. 265–269.
14. Santo S.D., Tepper O.M., Ballmoos von M.W. et al. Cell-based therapy facilitates venous thrombus resolution // Thromb. Haemost. 2009. Vol. 101, № 3. P. 460–464.
15. Shi Q., Rafii S., Wu M.H. et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells // Blood. 1998. Vol. 92, № 2. P. 362–367.
16. Shi Q., Wu M.H., Hayashida N. et al. Proof of fallout endothelialization of impervious Dacron grafts in the aorta and inferior vena cava of the dog // J. Vasc. Surg. 1994. Vol. 20, № 4. P. 546–557.
17. Tong Z., Gu Y., Zhang J. et al. Changes of endothelial progenitor cells in rats after bone-marrow stimulation // Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. 2008. Vol. 22, № 10. P. 1218–1221.
18. Wessler S., Reimer S.M., Sheps M.C. Biological assay of a thrombosis inducing activity in human serum // J. Appl. Physiol. 1959. Vol. 14. P. 943–946.

Поступила в редакцию 02.09.2014

Получена после доработки 19.02.2015

ANGIOGENESIS IN THE TISSUES AFTER THE INJECTION OF STROMAL STEM CELLS OF BONE MARROW ORIGIN CLOSE TO THROMBOSED VEIN IN AN EXPERIMENT

*I.V.Maiborodin¹, V.V.Morozov¹, Ya.V.Novikova¹,
V.A.Matveyeva¹, L.V.Artemiyeva¹, A.L.Matveyev¹,
R.V.Maslov², N.V.Onopriyenko³, G.A.Chastikin¹*

The effects of the injection of autologous multipotent stromal stem cells of bone marrow origin (MSSCBM) (mesenchymal stem cells) with green fluorescent protein gene, additionally marked with DAPI nuclear stain, close to a thrombosed hindlimb vein, were studied by fluorescent microscopy in adult male Wag rats (n=214). The control groups consisted of intact rats (n=12), animals with venous thrombosis without the injection of MSSCBM (n=71) and rats that received paravasal injection of MSSCBM, but without preliminary modeling of venous thrombosis (n=72). It was found that MSSCBM participated in the development of granulation tissue at the site of surgical intervention performed during the modeling of thrombosis. The rapid development of granulation tissue at the site of surgical trauma may contribute to faster wound clearance from detritus, nonviable tissue and antigenic substances, early onset of tissue repair processes and rapid healing. Restoration of blood flow in the tissue region of a thrombosed vein began later than after the intravenous injection of MSSCBM.

Key words: *multipotent mesenchymal stem cells, venous thrombosis, thrombus recanalization, angiogenesis, blood flow restoration*

¹ Center of New Medical Technologies, RAS Siberian Branch Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk; ² Department of Parodontology, Stomatologic Faculty, A.I.Yevdokimov Moscow State Medico-Stomatologic University; ³ Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University