

СЖКТ, возможно, откроет путь применения данного типа клеток для аутологических и аллогенных трансплантаций. АсОДН в настоящее время считаются перспективными и высокоточными агентами для подавления экспрессии конкретно выбранных белков. Однако данные об эффективности их проникновения в клетки как *in vivo* так и *in vitro*, полученные различными группами исследователей, существенно различаются. В нашей работе мы сравнивали способность АсОДН проникать в СЖКТ мыши в системе *in vitro*. В ходе выполнения работы нами было проведено исследование проникновения и распределения АсОДН в СЖКТ с применением методов лазерной сканирующей конфокальной микроскопии. Были подобраны АсОДН к мРНК eGFP, не образующие вторичной структуры, и образующие вторичную структуру «шпилька». На модели культивируемых СЖКТ eGFP+мышей линии C57BL/6-Tg(ACTB-EGFP)10sb/J) была изучена эффективность проникновения «неструктурированных» и «структурированных», флуоресцентно меченых АсОДН в клетки. «Неструктурированные» АсОДН почти не проникали в СЖКТ. «Структурированные» АсОДН, образующие вторичную структуру «шпилька», интенсивно проникали в клетки. После проникновения в СЖКТ АсОДН локализовались в цитоплазме, преимущественно в околоядерной зоне, не проникали в ядра. Специфичность действия «структурированных» АсОДН к мРНК eGFP была подтверждена в культуре СЖКТ методом иммуноблота: после 6-ти сут. инкубации клеток с этими олигонуклеотидами количество белка eGFP в них существенно снижалось.

Полученные нами данные о влиянии наличия вторичной структуры, «шпильки» на проникновение АсОДН сходной длины в СЖКТ, а также данные о перинуклеарной локализации АсОДН в клетках дают возможность предполагать существование рецепторопосредованного транспортного механизма проникновения АсОДН в СЖКТ. Результаты этого исследования могут быть использованы для разработки методов направленной дифференцировки СЖКТ и дадут возможность использовать АсОДН в клеточной терапии.

Литература

1. Тимченко М.А. и др. // Биохимия. 2006. Т. 71, С. 561–569.
2. Трапезев Д.О. и др. // Цитология. 2006. Т. 48, С. 83–94.
3. Cormack B. et al. // Gene. 1996. Vol. 173. P.33–38.
4. Geller B.L. (2005) Antibacterial antisense. *Curr Opin Mol Ther.*, Vol. 7, P.109–113.
5. Kausch I. et al., (2003) // *Cancer*, Vol.105, P.710–716.
6. Mukherjee S., Ghosh R.N., Maxfield F.R. (1997) // *Endocytosis. Physiol. Rev.*, Vol. 77, P.759–803.
7. Mullen P., McPhillips F., MacLeod K., et al., (2004) // *Clinical cancer research*. Vol. 10. P.2100–2108.
8. Nakagami H, Morishita R, Maeda K, et al., (2006) // *Atheroscler Thromb*; Vol. 13, P.77–81.
9. O'Rear L., Longobardi L., Torello M., et al., (2005) // *J of Molecular Endocrinology*, Vol. 34, P.723–737.
10. Zhang G., Gurtu V., Kain S.R. (1996) // *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 227, P.707–711.
11. Zuk, P., Zhu M., Mizuno H., et al., (2001) // *Tissue Eng*. Vol. 7, P.211–226.

Работа поддержана грантом компании Carl Zeiss Inc., Германия №2-13.

УДК 616.36-004+616.36-002

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОБ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЦИРРОЗЕ В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ФЕТАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

Э.М. ШЕНДЕР, А.Е. КОЛОСОВ*

Ключевые слова: функциональная проба печени

Циррозы занимают ведущее место среди хронических диффузных поражений печени [6,9,10]. Диагностика цирроза печени сопряжена с проведением комплекса биохимических проб, которые указывают на степень ее поражения. Анализируя ряд научных данных на эту тему, мы не увидели среди них результатов о закономерностях изменений биохимических показателей функциональных проб печени в случае экспериментального цирроза печени при введении фетальных тканей [1,2,8].

Цель исследования – изучение изменения функциональных биохимических показателей печени при циррозе, а так же установление их связей с регенераторными процессами в ней в условиях введения фетальных тканей.

Объект и метод. Объектом хронического эксперимента служили 340 беспородных половозрелых крыс средней массой 200 г. Во всех экспериментах соблюдены требования, предъявляемые при проведении экспериментальных работ на животных.

Подопытные крысы разделены на группы: 1 – контрольная; 2 – с экспериментальным ЦП; 3 – с экспериментальным ЦП, которым проводилась стимуляция регенерации печени с помощью трансплантации суспензии фетальных тканей печени, селезенки и тимуса 18-19-дневных плодов крыс; 4 – с экспериментальным ЦП, которым проводилась стимуляция регенерации печени с помощью трансплантации суспензии тканей печени, селезенки и тимуса 18-19-дневных плодов крыс после воздействия на эти ткани низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) [3,4].

В качестве излучателя использовался гелий-неоновый полупроводниковый аппарат с длиной волны 633 нм. Облучение осуществлялось двукратно по 1,8 мин с перерывом в 5 минут при плотности излучения 75 мВт/см² [5].

Модель ЦП у крыс воспроизводилась путем длительного введения гепатотропного яда – четыреххлористого углерода [7].

В течение 3 месяцев под кожу спины вводили 50% масляный раствор четыреххлористого углерода в дозе 0,4 мл на 100 гр. веса животного 4 раза в неделю. Трансплантат готовился из органов плодов самок крыс со сроком беременности 18-19 суток. Беременных самок выводили из эксперимента путем декапитации. Использован метод гомогенизации фрагментов фетальных тканей печени, селезенки и тимуса в равных количествах. При окраске трипановым синим гомогенат представлял суспензию жизнеспособных ядросодержащих клеток 3-5×10⁵.

Трансплантацию осуществляли посредством внутрибрюшинной инъекции. Во всех группах животных трансплантация фетальной взвеси осуществлялась сразу после создания модели ЭЦП (на 91 сутки эксперимента). Содержание общего билирубина измерялось по методу Йендрашика; тимоловая проба, АСТ, АЛТ, щелочная фосфатаза и γ -глутаматтрансфераза определялись с использованием соответствующих биохимических наборов фирмы «Лабист» и на биохимическом анализаторе ФП-901М (Финляндия). Животных 2-4 групп выводили из эксперимента через 75 суток путем декапитации. Активность репаративных процессов оценивали с учетом морфо-функционального состояния печени. Для микроскопического исследования срезы печени фиксировали в 10% растворе формалина, обезживали и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивались гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, ШИК-реакцией.

Морфометрическое исследование осуществлялось с помощью компьютерной системы анализа цветового изображения ДиаМорф-Сито (Россия). На условной единице площади в ткани печени подсчитывались диаметры клеток и их ядер, а так же митотический индекс гепатоцитов. Все результаты обрабатывали с помощью EXCEL-2007; вычислялся t-критерий Стьюдента.

У животных 2 экспериментальной группы (с экспериментальным ЦП) достоверно возрастали по сравнению с контролем уровни общего билирубина (рис.1), тимоловой пробы (рис.2) и активность γ -глутаматтрансферазы (рис.3), АСТ, АЛТ, а так же щелочной фосфатазы (рис.4), достигая максимальных значений. При этом морфологически регистрировались дистрофия и некроз гепатоцитов, их извращенная регенерация, диффузный фиброз, деформация органа. Через 75 суток после введения фетальных тканей (3-я группа) отмечалось достоверное снижение значений функциональных проб печени, не достигающих показателей контрольной группы (рис.1-4). При морфологическом исследовании печени определялось неравномерное восстановление структур органа, в частности, доли соединительной и паренхиматозной ткани по отношению к контрольной серии (рис.5; рис.6), изменения числа клеток Купфера (рис.7), а также колебания митотического индекса гепатоцитов (рис.8).

У животных 4 экспериментальной группы значения функциональных проб печени на 75 сутки достоверно не отличались от показателей контрольной группы (рис.1-4), а гистологически обнаруживалось восстановление гистоархитектоники печени, сходное с печенью животных контрольной группы (рис.6).

* 610027, г. Киров, ул. К. Маркса, 112, Кировская ГМА

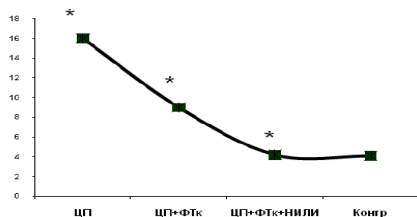


Рис.1. Динамика содержания общего билирубина в сыворотке крови (мкм/л). *P<0,05 по сравнению с контролем

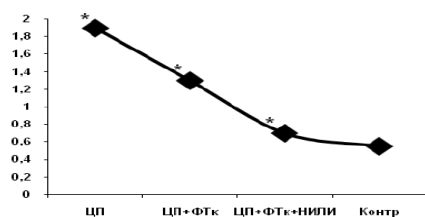


Рис.2. Динамика изменений тимоловой пробы (ед.). *P<0,05 по сравнению с контролем

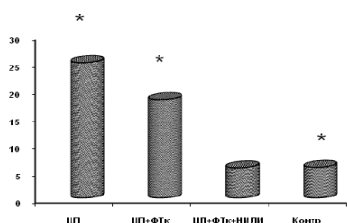


Рис.3. Динамика содержания γ-глутаматтрансферазы в сыворотке крови (ед./л). *P<0,05 по сравнению с контрольной группой

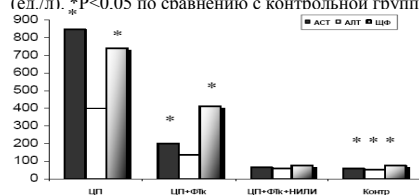


Рис.4. Динамика АСТ, АЛТ, ЩФ в сыворотке крови (ед./л). *P<0, 05 по сравнению с контрольной группой

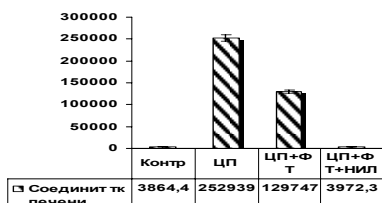


Рис.5. Площадь соединительной ткани в печени (мкм²), P<0,05

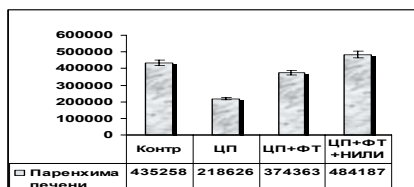


Рис.6. Площадь паренхиматозной ткани в печени (мкм²), P<0,05

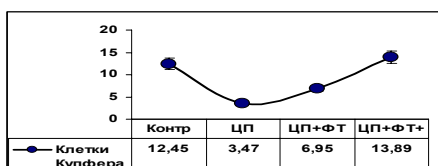


Рис.7. Количество клеток Купфера в печени, P<0, 05

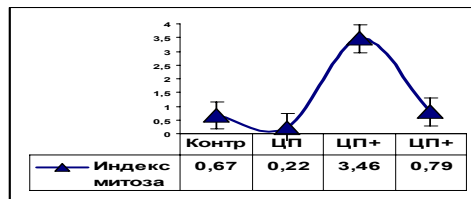


Рис.8. Митотический индекс гепатоцитов печени крыс(%), P<0, 05

Внутрибрюшинное введение крысам с экспериментальным ЦП комплекса фетальных тканей, облученного низкоинтенсивным лазером в сравнении с необлученным, приводило к более выраженной активации регенераторных процессов в печени, что сопровождалось нормализацией ее функциональных проб.

Литература

1. Грищенко И.В. и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины, 2001. Т.1., №10. С. 394–397.
2. Западнюк И.П. и др. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Вища школа, 1983. С. 24-280.
3. Курбатова Г.Р., Гиниатуллин Р.У., Козель А.И., Игнатъева Е.Н. Способ приготовления суспензии фетальных клеток, предназначенных для трансплантации при хронических заболеваниях печени (реферат изобретения к патенту РФ №2203072): Лазерные новости. 2004. №1-2. С.107.
4. Курбатова Г.Р., Гиниатуллин Р.У., Козель А.И., Игнатъева Е.Н. Способ патогенетического лечения хронических заболеваний печени в эксперименте (реферат изобретения к патенту РФ №2204399): Лазерные новости. 2004. №1-2. С.107.
5. Курбатова Г.Р., Гиниатуллин Р.У., Козель А.И., Игнатъева Е.Н. Способ патогенетической терапии хронических заболеваний печени (реферат изобретения к патенту РФ №2203675): Лазерные новости. 2004. №1-2. С.107.
6. Пауков В.С., Ерохин Ю.А. //Арх. Пат. 2004, №4, С.3–9.
7. Саркисов Д.С. // Эксперим. хир. 1960. Т.3, № 1. С. 3–8.
8. Ammori J.B. et al. // J. Surg. Res., 2007, 140(2):227–33.
9. Broelsch C.E., Malago M., Frilling A. //Chirurg. 2008.
10. Concejero A., Chen C.L., Liang C.D. et al. // Transplantation. 2007, Aug. 27;84(4):484–9.

УДК 615.47, 004.891, 519.23

СПОСОБ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРМОМЕТРИИ И МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ВЕРОЯТНОСТНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Т.В. ЗАМЕЧНИК*, С.И.ЛАРИН*, А.Г. ЛОСЕВ, Н.С.ОВЧАРЕНКО**.

Ключевые слова: термометрия, математическая модель

Заболевание вен нижних конечностей представляет собой серьезную медицинскую и социальную проблему. По данным ВОЗ, у 25% трудоспособного населения и более чем у 50% пенсионеров Европы выявляется хроническая венозная недостаточность (ХВН). В России страдают от 35 до 38 млн. граждан, 15% из которых имеют трофические нарушения кожи, открытые или многократно рецидивирующие трофические язвы. В большинстве случаев даже при начальных формах болезни утрачивается привычное ощущение «здорового благополучия».

Несмотря на широкий арсенал диагностических мероприятий, существующих на сегодняшний день в практической медицине, процент ошибок в диагностике ХВН остается высоким. Многие флебологи указывают на недостаточную информативность отдельно взятого метода обследования и отмечают повышение информативности комплекса диагностических мероприятий [5]. Изучение температурных изменений в тканях нижних конечностей могло бы дать новую информацию как для определения состояния мягких тканей при формировании ХВН, так и при наблюдении за больными в процессе лечения [9,11,13]. Изучение термограмм поверхностных и глубоких температур у пациентов с варикозной болезнью (ВБ), острым венозным тромбозом (ОВТ) и посттромботической болезнью (ПТБ) вен нижних конечностей и их сравнение с термограммами здоровых имеют весьма серьезное диагностическое значение.

* Волгоградский ГМУ, 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1, тел. 460261
 ** Волгоградский ГУ, г. Волгоград, пр-т Университетский, 100, тел. 460261