

СЕКЦИЯ «ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА»

Иммобилизированные магнитосорбенты на основе гуаниндезаминазы: новые возможности лабораторной диагностики системной красной волчанки

Алехина Ирина Юрьевна, Махачев Магомед Абидович, Мнацаканян Сусанна Григорьевна, Александров Андрей Вячеславович

аспирант; аспирант; аспирант; сотрудник, к.м.н.

ГУ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН, Волгоград, Россия

E-mail: imlab@vlink.ru

Введение: в сыворотке крови больных ревматическими заболеваниями часто обнаруживаются аутоантитела к различным аутоантигенам, в том числе и ферментам, но клиническое значение подобных аутоантител зачастую не определено.

Цель: исследование особенностей антителогенеза к основному ферменту гуаниновой ветви пуринового катаболизма – гуаниндезаминазе (ГДА) – в сыворотке крови больных системной красной волчанкой (СКВ) с помощью иммобилизованных магнитосорбентов (ИМС).

Материалы и методы: в исследование было включено 46 пациентов с СКВ (возраст от 28 до 64 лет) с различной степенью активности патологического процесса (I степень активности – у 18 человек, II-ая – у 28) и клиническими проявлениями, поступивших на стационарное лечение в ревматологическое отделение ГKB №25 г. Волгограда. Регистрировались клинические и лабораторные характеристики пациентов. Контрольную группу составили 30 доноров станции переливания крови (контрольная группа). Антитела к ГДА (анти-ГДА) определялись в сыворотках больных в разработанной модификации ELISA-теста с использованием ИМС на основе ГДА в качестве антигенной матрицы. Результаты учитывались на спектрофотометре при 492 нм и считались положительными при превышении в дублированных образцах средних показателей оптической плотности (ОП) средних значений нормальных сывороток контрольной группы не менее чем на 2 стандартных отклонения.

Результаты: анти-ГДА выявлены у 19 (41,3%) больных СКВ. При наличии анти-ГДА обнаруживалась более низкая активность ГДА в сыворотке крови ($p < 0,01$, по сравнению с контрольной группой), в то время как при отсутствии данных антител энзиматическая активность ГДА по отношению к контролю оставалась практически неизменной ($p > 0,05$).

При анализе подгрупп больных с продолжительностью страдания менее 1 года анти-ГДА были обнаружены у 2/5 (40%) больных СКВ. Уровни анти-ГДА (по значениям ОП) положительно коррелировали с активностью СКВ ($r = 0,387$, $p < 0,01$). В многомерном анализе клинических проявлений анти-ГДА продемонстрировали связь с поражением кожи, нервной системы ($p < 0,01$) и органов гепатобилиарной системы ($p < 0,05$). При проведении процедуры ингибирования (предварительное инкубирование нативной ГДА с образцами сывороток больных СКВ с высоким уровнем анти-ГДА) не удалось обнаружить значительного снижения связывающих свойств антител, что позволяет сделать предположение о направленности образования анти-ГДА к скрытым, недоступным в нативном состоянии, эпитомам молекулы данного фермента. Проведение иммобилизации антигена (ГДА) для последующего ELISA-теста с использованием ИМС, возможно, модифицирует пространственную конфигурацию белковой молекулы и делает антигенные центры фермента доступными к распознаванию специфическими антителами.

Выводы: у больных СКВ в сыворотке крови выявляются анти-ГДА, которые способны регулировать ферментативную активность энзима. Подобный механизм эндогенной регуляции активности ГДА в сыворотке крови может являться патогенетическим механизмом, обуславливающим повреждающее действие подобных АТ при ревматических заболеваниях.

**Отдаленные результаты хирургического лечения
билиопанкреатодуоденального рака**

Болдырев Евгений Сергеевич

студент

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: 1bes@newmail.ru

Проблемы диагностики и лечения рака органов билиопанкреатодуоденальной зоны представляют в настоящее время большой интерес. Термин «рак органов билиопанкреатодуоденальной зоны» собирательный и включает в себя злокачественные новообразования внепеченочных желчных протоков, большого дуоденального сосочка и головки поджелудочной железы. Анатомическая и физиологическая общность, сходная клиническая картина, а зачастую и одинаковая тактика лечения этих опухолей позволили объединить их данным понятием. В структуре онкологических заболеваний рак органов билиопанкреатодуоденальной зоны среди злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта находится на 3-м месте после рака желудка и толстой кишки [1,2].

Целью работы явилось улучшение отдаленных результатов хирургического лечения рака органов билиопанкреатодуоденальной зоны.

Исследование основано на ретроспективном анализе хирургического лечения 21 больного билиопанкреатодуоденальным раком в возрасте от 44 до 87 лет. В 6 случаях была выполнена радикальная операция – панкреатодуоденальная резекция. Из них 3 больным проведено предварительное внутреннее дренирование. В остальных 15 случаях были выполнены паллиативные вмешательства – операции внутреннего желчеотведения, различные способы формирования билиодигестивных анастомозов. Сроки наблюдения составили до 5 лет. Анализ выживаемости производился с использованием метода множительных оценок Каплана-Майера.

Исследование показало, что при локализации рака в головке поджелудочной железы, не зависимо от стадии онкологического процесса, радикальная операция существенного влияния на продолжительность жизни не оказывает, однако панкреатодуоденальная резекция дает хорошие отдаленные результаты при локализации опухоли в большом дуоденальном сосочке и дистальном отделе общего желчного протока. Показано значение дооперационной декомпрессии желчных путей при лечении рака органов билиопанкреатодуоденальной зоны.

Литература:

1. Малярчук В.И., Климов А.Е, Пауткин Ю.Ф. Билиопанкреатодуоденальный рак: Монография. – М.: Издательство РУДН, 2006. – 444 с.

2. Малярчук В.И., Климов А.Е., Зокоев А.К., Габоян А.С. Отдаленные результаты радикальных и паллиативных операций при хирургическом лечении опухолей органов билиопанкреатодуоденальной зоны // Материалы Российско-Германского симпозиума «Хирургия поджелудочной железы на рубеже веков», Москва, 24-25 мая 2000 г. С. 97.

**Метод биологической обратной связи в комплексном лечении больных
идиопатическим анкилозирующим спондилоартритом.**

Бондаренко Екатерина Александровна

аспирант

ГУ НИИ клинической и экспериментальной ревматологии РАМН, Волгоград, Россия

E-mail: rinna79@mail.ru

Актуальность рассматриваемой проблемы определяется медико-социальной и экономической значимостью вопроса. В основном болеют мужчины социально-активного возраста от 15 до 40 лет. Современный терапевтический подход к лечению

идиопатического анкилозирующего спондилоартра (ИАС) основывается на симптоматических методах лечения заболевания и направлен, главным образом, на купирование воспалительного и болевого процессов. Между тем, своеобразие и тяжесть клинических проявлений ИАС, необходимость пожизненного приема лекарственных препаратов, ранняя инвалидизация превращают жизнь пациентов в цепь кризовых состояний, способствуют развитию внутренних конфликтов различного плана и тяжелой невротизации, которые влияют на течение заболевания, результаты фармакотерапии и эффективность реабилитационных мероприятий.

С целью повышения эффективности лечения и реабилитации больных с ИАС разработаны научно обоснованные лечебно-реабилитационные программы, включающие применение процедур функционального биоуправления с биологической обратной связью.

Обследовано 67 больных с верифицированным диагнозом ИАС. Средний возраст – 31,6 лет. Средняя продолжительность заболевания – 9,5 лет. Больные были рандомизированно разделены на две группы. В основной группе (37 человек) пациенты получали ежедневные сеансы БОС на аппарате «Реакор» на фоне медикаментозной терапии. Курс – 10 сеансов. Контрольная группа (30 человек) получала аналогичное медикаментозное лечение. Оценивалась клиническая эффективность (до начала курса лечения и после его окончания) по показателям: BASDAI, BASFI, боль по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), боль в позвоночнике по ВАШ, число воспаленных суставов, СОЭ. Психодиагностическое обследование проводилось с помощью методик: определение уровня реактивной тревожности (методика Спилбергера-Ханина), депрессии (методика Бека), оценки качества жизни (методика SF36). Анализ эффективности БОС терапии в комплексном лечении больных ИАС проводился с использованием суммарной оценки эффективности лечения.

Полученные данные по совокупности оцениваемых параметров свидетельствуют о том, что результаты лечения были существенно лучшими в основной группе больных ИАС ($\chi^2 = 6,39$; $p < 0,01$), где наблюдалась достоверная положительная динамика: уменьшение боли в позвоночнике по ВАШ, воспалительного индекса, суставного счета, времени утренней скованности в позвоночнике, снижение СОЭ, С-реактивного протеина. У пациентов обеих групп достоверно изменялся BASDAI ($p < 0,05$), однако в основной группе эти изменения были более выражены. Показатели индекса BASFI в основной группе были достоверно выше, чем в контрольной ($p < 0,01$). Более того, в основной группе количество пациентов, у которых состояние не изменилось в результате проведенного лечения, было достоверно меньше, чем в контрольной. ($\chi^2 = 8,165$, $p = 0,004$). Кроме того, у больных основной группы наблюдалась достоверная положительная динамика тревожно-депрессивных реакций.

Таким образом, применение БОС терапии в лечении больных ИАС позволяет повысить эффективность комплексного лечения и реабилитации, улучшить «качество жизни» пациентов с данной патологией. Способствует снижению уровня депрессии и тревоги у больных с ИАС.

Выявление ранних маркеров поражения почек у больных ожирением и сахарным диабетом 2 типа

Галлямов Марат Гаптелхакович¹, Сагинова Е.А.²
молодой ученый

¹ - Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, ² - Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова

E-mail: mgalliamov@mail.ru

Длительное ожирение и развитие сахарного диабета 2 типа ухудшают функцию почек путем постепенного снижения почечного функционального резерва (ПФР), что

проявляется снижением скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Оптимизация методов своевременного распознавания ранних маркеров поражения почек стало целью настоящей работы. Задачи исследования включали разработку метода оценки состояния внутривисочечной гемодинамики и выявление наиболее соответствующего метода расчета СКФ.

Материалы и методы. 34 пациентам (с ожирением, $n=24$; с ожирением и СД 2 типа, $n=10$) для выявления нарушений внутривисочечной гемодинамики и оценки состояния ПФР проводилась динамическая нефросцинтиграфия (ДНСГ) с ^{99m}Tc -МАГЗ в сочетании с острой каптоприловой пробой. По сравнению с ожидаемым результатом до и после приема каптоприла (50 мг внутрь) рассчитывался индекс почечного резерва (ИПР). СКФ оценивалась в пробе Реберга-Тареева (РТ), по формулам Кокрофта-Голта (КГ) и MDRD. Всем больным проводилось клинико-лабораторное обследование. Статистическая обработка проводилась с использованием критериев Вилкоксона, Манна-Уитни и метода Блэнда-Алтмана. Статистическая значимость констатировалась при $p<0.05$.

Результаты. Применение сцинтиграфии почек с ^{99m}Tc -МАГЗ с острой каптоприловой пробой позволило выявить 3 состояния ПФР: 1-сохраненного ($\uparrow\text{ИПР}_{\text{после}}>0$), 2-сниженного ($\uparrow\text{ИПР}_{\text{после}}<0$) и 3-истощенного ($\downarrow\text{ИПР}_{\text{после}}$) ($n_1=12$; $n_2=13$ и $n_3=9$ соответственно). Отражением истощения ПФР являлись наименьшие значения СКФ, рассчитанные всеми методами, но статистически значимые различия между группами сохраненного, сниженного и истощенного ПФР выявлены только для расчетной формулы MDRD: 86 (77;95), 83 (78;98) и 71 (68;81) мл/мин/1,73 м² соответственно. В группе с истощенным ПФР наблюдался более высокий уровень глюкозы, ЛОИП и мочевой кислоты, превышающие нормальные значения: 114 (109;119) мг/дл, 56,6 (48,2-71,8) мг/дл и 8,2 (7,2-8,3) мг/дл соответственно.

Выводы.

1. Использование ДНСГ с острой каптоприловой пробой у больных с ожирением и СД 2 типа позволяет выявить ранние признаки нарушения внутривисочечной гемодинамики, проявляющиеся снижением и истощением ПФР.

2. Истощение почечного функционального резерва наиболее точно отражается снижением показателя СКФ при использовании расчетной формулы MDRD.

Экспрессия BDNF в коре мозга у крыс при моделировании фокального инсульта

Гайдук Евгения Александровна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: evg16@mail.ru

Развитие ишемии мозга сопровождается биосинтезом эндогенных регуляторов, выполняющих защитную функцию. Наиболее важными и интенсивно изучаемыми являются ростовые и нейротрофические факторы - NGF, GDNF, BDNF. В зависимости от локализации они модулируют активность определенных групп нейронов, стимулируют или тормозят выброс гормонов, регулируют тканевой метаболизм. Во взрослом организме защита нервной системы при повреждении является основной функцией этих факторов. Во время ишемического инсульта из-за развития воспалительной реакции в поврежденном полушарии и перераспределения кровотока в мозге страдает и контралатеральное полушарие. Задачей этого исследования была оценка экспрессии BDNF в перифокальной зоне очага ишемии и в зеркально отраженном участке коры головного мозга интактного полушария через 1, 3 и 7 часов после моделирования инсульта.

Исследование проводили на самцах белых беспородных крыс массой 250-300 гр. Для получения фокального инсульта необратимо коагулировали дистальный конец левой среднемозговой артерии и лобную вену. Для стабилизации очага некроза перевязывали

общую сонную артерию с той же стороны. В этом случае инфаркт формировался в лобно-теменной части коры головного мозга, не затрагивая подкорковые структуры.

Декапитировали глубоко наркотизированных хлоралгидратом животных, отбирали пробы коры переднего мозга из перифокальной зоны ишемии левого полушария и симметричного участка правого полушария. Тотальную РНК выделяли с помощью фенол-хлороформной экстракции, РНК осаждали изопропанолом и дважды промывали 75% этанолом, приготовленным на деионизированной H₂O, обработанной диэтилпирикарбонатом. Пробы растворяли в соответствии с содержанием РНК, после чего проводили ДНК-азную обработку. Целостность РНК определяли с помощью электрофореза в 1,7% агарозном геле. Оценку уровня экспрессии мРНК для BDNF проводили с использованием полуколичественного метода ОТ-ПЦР, результаты ПЦР детектировали с помощью электрофореза. Праймеры подбирали самостоятельно к пятому, кодирующему, экзону гена BDNF. Данные для BDNF нормировали по результатам ПЦР для β-актина.

Через 1 час после моделирования фокального инсульта в коре головного мозга неоперированного полушария обнаружили мРНК BDNF, но уровень экспрессии нейротрофического фактора был ниже, чем в ишемизированном полушарии примерно в 30 раз. Увеличение мРНК белков генов раннего реагирования в проблемной зоне через такой короткий срок от начала ишемии закономерно. Интересно, что через 3 часа после операции в оперированном полушарии количество BDNF сильно снизилось и оставалось низким через 7 часов ишемии, этот факт угасания экспрессии BDNF пока малообъясним. В неоперированном полушарии в те же временные точки, 3 и 7 часов, количество BDNF увеличилось в 20 и 100 раз, соответственно, по сравнению с 1-часовой ишемией в этом же полушарии. Поскольку 3 и 7 часов от начала ишемии – слишком короткий срок для развития генерализованного воспаления и гибели клеток, увеличение количества нейротрофического фактора не связано с воспалением, а вызвано нарушением и перераспределением кровотока в мозге при выпадении целого сосудистого региона из кровоснабжения при развитии фокального инсульта. Грант РФФИ 07-04-12281-офи.

Выделение c-kit позитивных стволовых клеток сердца из ткани аневризмы левого желудочка человека

Дергилев Константин Владимирович, Гмызина Анна Игоревна***

аспирант, студентка***

ФГУ «РКНПК Росмедтехнологий» Москва, Россия; Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: anna_gmz@mail.ru

Ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда являются причиной высокой смертности населения в современном мире. В настоящее время в стадии разработки находятся методы клеточной терапии этих заболеваний. В клинических испытаниях показано увеличение фракции выброса и улучшение перфузии миокарда при введении аутологичных моноклеарных клеток костного мозга (M.J. Lipinski et al., 2007).

До недавнего времени считалось, что пул кардиомиоцитов взрослого человека не обновляется на протяжении жизни. Однако появились работы, в которых было показано присутствие резидентных стволовых клеток в ткани сердца человека (Beltrami et al., 2001), а также их способность мигрировать в зону инфаркта, участвовать в регенерации миокарда и улучшать функцию сердца у экспериментальных животных (Messina et al., 2004; Smith et al., 2007). Это дает основания полагать, что стволовые клетки сердца (СКС) могли бы быть перспективным материалом для клеточной терапии заболеваний сердца. Однако изучение СКС затруднено, т.к. ткань сердца человека как источник этих клеток труднодоступна.

В нашей работе мы использовали ткань хронической постинфарктной аневризмы левого желудочка сердца, полученную в ходе ее оперативного иссечения. Ткань аневризмы имеет слоистую структуру и состоит из мышечной, жировой и соединительнотканной частей. Нашей задачей было ответить на вопрос, присутствуют ли СКС в ткани аневризмы, определить их локализацию в слоистой структуре аневризмы и выделить первичную культуру СКС.

Для обнаружения СКС, определения их локализации и экспрессии маркеров стволовых клеток применялся метод иммуногистохимической окраски замороженных срезов. В качестве маркера стволовых клеток использовали c-kit (CD 117) – рецептор фактора стволовых клеток (SCF). Сосуды визуализировали с помощью CD31 (PECAM-1) - маркера эндотелия сосудов. Для выделения клеток использовался метод механического измельчения и ферментной обработки ткани аневризмы. В дальнейшем выделенные клетки подвергались иммуномагнитному сортированию с применением магнитных бусин, конъюгированных с антителами к антигену c-kit.

C-kit позитивные клетки были обнаружены во всех частях аневризмы, но преимущественно они располагались в мышечной части, причем одиночные клетки или группы клеток локализовались вблизи крупных сосудов, что характерно для резидентных стволовых клеток всех тканей (L. da Silva Meirelles et al., 2006).

Нам удалось выделить первичную культуру клеток из аневризмы левого желудочка и охарактеризовать их. Выделяемые клетки экспрессировали маркеры c-kit, CD 105 (маркер клеток-предшественников эндотелия), CXCR-4 (рецептор фактора стромальных клеток SDF), Nkx-2.5 (кардиогенный ядерный транскрипционный фактор). Содержание c-kit позитивных клеток в общем пуле клеток в культуре было менее 1%. Используя иммуномагнитный сортирование, нам удалось увеличить количество c-kit позитивных клеток в культуре до 20%.

Таким образом, мы показали, что ткань аневризмы левого желудочка содержит стволовые клетки сердца и клетки-предшественники и может быть перспективным источником для изучения СКС.

Кардиопротекторный эффект пептида Семакс в условиях экспериментального ишемического и реперфузионного повреждения миокарда

Голубева А. В.¹, Гаврилова С.А.², Липина Т.В.³, Фоминых Е.С.⁴

младший научный сотрудник¹, к.б.н., доцент², к.б.н., доцент³, аспирант⁴

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: avgolubeva@gmail.com

Восстановление кровотока в ишемизированной области миокарда (реперфузия) является приоритетной составляющей в лечении острого инфаркта миокарда, поскольку максимально эффективно снижает объем поражения сердечной мышцы и острую смертность. Однако реперфузионная терапия не всегда бывает успешной или может быть противопоказана; кроме того, реперфузия сама по себе оказывает повреждающий эффект на миокард, основными медиаторами которого являются окислительный стресс и воспаление. Следовательно, изучение механизмов ишемического и реперфузионного повреждения миокарда, а также поиск новых эффективных способов их коррекции представляет собой чрезвычайно актуальную проблему. В связи с этим, настоящее исследование было посвящено изучению влияния пептидного препарата Семакс (АКТГ(4-7)-Pro-Gly-Pro) на течение инфаркта миокарда, вызванного как необратимой ишемией, так и ишемией с последующей реперфузией, у крыс в условиях *in vivo*. Несмотря на то, что Семакс давно и успешно применяют в клинической практике в терапии ишемических состояний мозга, оценка кардиопротекторных возможностей пептида в условиях инфаркта миокарда была проведена впервые.

Применение Семакса в суммарной дозе 300 мкг/кг в/бр отставило во времени появление ультраструктурных нарушений митохондриального и ядерного аппаратов в ишемизированных кардиомиоцитах через 2,5 часа после моделирования необратимой ишемии миокарда. Сохранность митохондрий как энергопродуцирующей и ключевой для запуска «внутреннего» пути апоптоза клеточной органеллы важна для сохранения жизнеспособности ишемизированного миокарда. Следовательно, полученный эффект пептида может быть рассмотрен как возможность увеличения терапевтического окна для проведения реперфузии у пациентов с острым инфарктом миокарда и расширения спектра применения пептида как препарата скорой помощи при острых ишемических состояниях миокарда. Важно, что использованная в исследовании экспериментальная модель – ишемия миокарда с закрытой грудной клеткой без искусственной вентиляции легких в условиях *in vivo* – максимально приближена к реальным клиническим условиям. Через 72 часа после начала реперфузии, следующей за 2,5-часовой ишемией миокарда, применение Семакса не повлияло на объем некроза, однако увеличило на 20% сократительный потенциал постинфарктного сердца, а также препятствовало развитию гипертрофии миокарда левого желудочка в отставленный постинфарктный период. Защитный эффект пептида в отношении условно-интактного миокарда сочетался с модуляторным влиянием, оказанным Семаксом в отношении работы сердца: снижение величин сократительной активности и частоты сердечных сокращений в покое на 12-18%, - и с нормализацией α_1 -опосредованного гипертензивного ответа на фоне применения пептида. Полученные результаты позволили предположить, что кардиопротекторное действие Семакса в условиях острого инфаркта миокарда могло реализовываться через сдерживание гиперактивации симпатической нервной системы после инфаркта, оказывающей токсическое действие на сердце и сосуды. Особый интерес представляет способность Семакса моделировать длительную брадикардию у животных после инфаркта миокарда, поскольку урежение сердечного ритма снижает потребность миокарда в кислороде и восстанавливает адаптивные способности сердца после инфаркта.

Изучение эффективности трансфекции клеток печени на примере экспериментальной модели фиброза печени.

Джояшвили Нина Александровна

студентка

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: ninadzhoashvili@mail.ru

Введение: Фиброз печени – это чрезмерное накопление внеклеточных матриксных протеинов, включая коллаген, что встречается при большинстве типов хронических заболеваний печени. Результатом выраженного фиброза печени является цирроз, печеночная недостаточность и портальная гипертензия. В настоящее время одним из перспективных направлений в фундаментальной медицине является исследование эффективности и безопасности генной терапии в лечении этого тяжелого заболевания.

Цель работы: Отработать модель фиброза печени на мышах и провести сравнительную оценку эффективности трансфекции клеток печени на данной модели в зависимости от способа введения плазмидной ДНК.

Методы: В работе использовались следующие методы: полимеразная цепная реакция в реальном времени, гистологическое исследование печеночной ткани, биохимическое исследование печеночных ферментов как показателей цитолиза. Фиброз печени индуцировался внутрибрюшинным введением четыреххлористого углерода. Для анализа эффективности трансфекции клеток печени использовался ген β -галактозидазы в составе плазмидной ДНК *pc-DNA3- β -Gal*, которую вводили непосредственно в паренхиму печени, воротную вену и хвостовую вену. Эффективность трансфекции клеток печени оценивалась по количеству экспрессирующих β -галактозидазу клеток.

Результаты и выводы: Максимальное значение активности печеночных ферментов приходится на четвертую неделю эксперимента и снижается к шестой неделе. Начало формирования фиброза печени наблюдали между 2 и 4 неделями эксперимента, а к 6 неделе происходило формирование цирроза. При оценке активности экспрессии генов коллагена 1 альфа 1, TGF- β 1, α SMA, MMP-13 и Timp-1 было показано статистически значимое отличие между контрольной группой и животными, получавшими CCL4. Пик активности экспрессии генов соответствует четвертой неделе эксперимента для коллагена 1 альфа1, TGF- β 1, α SMA, Timp-1 и второй и четвертой неделе для MMP-13. Снижение данного показателя наблюдается к шестой неделе эксперимента. При введении раствора ps-DNA3- β -Gal наибольшая эффективность трансфекции клеток печени, оцениваемая по количеству экспрессирующих β –галактозидазу клеток, наблюдалась при гидродинамическом введении в хвостовую вену. Полученные результаты можно использовать для разработки методов генной терапии фиброза и цирроза печени.

Регенерация аксонов в периферической нервной системе при использовании L-аргинина в составе гелевого матрикса.

*Драгунова Елена Евгеньевна¹, Масгутова Галина Андреевна²,
Масгутов Руслан Фаридович², Рагинов Иван Сергеевич²
студентка*

¹ Казанский государственный университет, Казань, Россия

² Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

E-mail: dragunova-elena@yandex.ru

Эксперименты проведены на белых беспородных крысах-самцах весом 150–200 г (n=30). Животных содержали в пластмассовых клетках при температуре 18–20°C со свободным доступом к воде и пище в стандартных условиях вивария.

У животных под уретановым наркозом (600 мг/кг, внутривентриально) в левом седалищном нерве на уровне середины бедра формировали диастаз длиной 5 мм. Центральный и периферический концы нерва соединяли силиконовой трубкой длиной 7 мм и внутренним диаметром 2,2 мм. Трубку на каждом конце фиксировали при помощи четырех эпинеуральных швов мононитью 8.0 с атравматической иглой (Целита, Россия). Предварительно в трубку вводили гидрогелевый матрикс на основе, в первом случае, 8% натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (контрольная группа 1, n=10), во втором случае в состав этого геля вводили 6% L-аргинин (опытная группа, n=10). Вторым контролем служили животные без трансплантации геля в трубку (пустая трубка, n=10). Матрикс заполнял внутренний объем трубки, формируя столбик гелевой массы длиной 5 мм, замещающий диастаз нерва. Результаты оценивали по восстановлению двигательной функции задних конечностей, количеству выживающих нейронов в спинальном ганглии L5, а также количеству миелиновых волокон в периферическом отрезке нерва.

На всех сроках наблюдений наибольшие значения функционального теста зарегистрированы в случае воздействия на нерв гелевого матрикса содержащего L-аргинин. Нами установлено, что введение L-аргинина в гидрогелевый матрикс кондуита нерва оказывает наиболее выраженное стимулирующее влияние на восстановление двигательной и чувствительной функции нерва, эффективно поддерживает выживание чувствительных нейронов, а также рост регенерирующих миелиновых волокон из центрального в периферический отрезок нерва. Сочетание L-аргинина с гидрогелевым матриксом на основе карбоксиметилцеллюлозы оказалось эффективным, тогда как сама депонирующая среда не несет функционального значения для регенерации волокон нервной ткани, что согласуется с данными, полученными ранее Masgutov et al., 2006.

Литература:

1. Masgutov R., Raginov I., Fomina G., Kozlova M., Chelyshev Yu. (2006) Stimulation of the rat's sciatic nerve regeneration by local treatment with Xymedon® // J. Cellular and Molecular Neurobiology, 26(7-8), p. 1413-21.

Ультрасонографическая диагностика мягкотканых новообразований кисти и предплечья

Евграфова Ольга Андреевна

студентка 5 курса

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: fundmed@rambler.ru

Мягкотканые новообразования (МТН), по данным литературы, составляют 5,3% всех заболеваний кисти и предплечья, и эта цифра неуклонно возрастает. Огромное клиническое и гистологическое разнообразие бластоматозных процессов определяет актуальность проблемы диагностики данной патологии. На сегодняшний день в ортопедии конечностей, наряду с такими зарекомендовавшими себя современными методами диагностики, как компьютерная томография и магнитно-резонансная томография, всё большее применение находит высокоразрешающая ультрасонография (УСГ) в режиме реального времени, отличающаяся доступностью, быстротой обследования, относительно невысокой стоимостью, отсутствием неблагоприятно воздействующего ионизирующего излучения, отсутствием кумулятивного эффекта, неинвазивностью, высокой степенью пространственного разрешения, возможностью оценивать динамические характеристики движущихся структур, исследовать сегменты конечности на протяжении.

Цель нашей работы — определить возможности УСГ в диагностике МТН кисти и предплечья. Работа основана на результатах лечения 142 больных с МТН кисти и предплечья, обратившихся за медицинской помощью в клинику хирургии кисти кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ РГМУ с 1997 по 2007 год. Исследования проводили на ультразвуковых сканерах LOGIQ – 9 («General Electric») и HDI - 3500 («Philips»). МТН были представлены опухолевидными образованиями и опухолями, исходящими из синовиальных структур, соединительной, жировой, сосудистой, нервной тканей.

УСГ выполнялась по разработанной в нашей клинике схеме исследования кисти и предплечья. В мягких тканях визуализировалось дополнительное патологическое образование, определялось его месторасположение, отдалённость от поверхности кожи, устанавливался размер. На сонограмме новообразование оценивалось по следующим параметрам: форма (округлая, овальная, неправильная), многокамерность, четкость контура, внутренняя эхогенность (повышенная или пониженная, однородная или неодородная), градиент сжатия, смещаемость. С помощью специальных методик, производилась идентификация и исследование близлежащих структур (мышц, фасций, сухожилий, нервов, сосудов), что позволяло произвести точную топическую диагностику МТН, а также выявить вторичные патологические изменения в окружающих мягких тканях или оценить вероятность их появления при прогрессировании патологического процесса. Васкуляризация опухоли, её топическое расположение по отношению к крупным сосудам исследовались посредством цветного доплеровского картирования.

Чувствительность УСГ составила 97,4%, специфичность — 99,1%, диагностическая эффективность — 0,96.

Полученная на УСГ информация вместе с данными клинического обследования использовалась для диагностики МТН, выбора оптимального метода лечения, предоперационного планирования, наблюдения в послеоперационном периоде. Результаты исследования доказали целесообразность использования УСГ в повседневной клинической практике при оказании помощи больным с МТН кисти и предплечья.

Изучение влияния препарата из кермека Гмелина на функцию и структуру почек крыс, интоксцированных сульфатом кадмия

Ибрагимова Наиля Ахтамовна

научный сотрудник, кандидат биологических наук,

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, ДГП НИИ проблем экологии

E-mail: Nailya.73@mail.ru

Почки, как главный экскреторный орган, является мишенью эндогенных и экзогенных токсинов, в том числе и соединений кадмия [1,2]. Особенности морфофункционального состояния органа способствуют длительности контакта тканевых элементов почки с ионами металла. В связи с этим, возникает необходимость поиска, изучения и разработки лекарственных препаратов, сохраняющих структуру и функцию почек при токсических воздействиях. Одним из таких препаратов может служить субстанция, выделенная из корней кермека Гмелина (*Limonium Gmelinii*), содержащая в своем составе широкий спектр флавоноидов, аминокислот и витаминов [3].

В опытах было использовано 35 половозрелых белых беспородных крыс-самцов с массой тела 220-250 г. Животные были разделены на контрольные и опытные группы (по 5 крыс в каждой): 1 - интактные животные, забой которых осуществлялся через 1 месяц от начала эксперимента. Животные опытных групп (2-7) получали перорально: 2 – водный раствор препарата из корней кермека Гмелина (фитопрепарат) в дозе 10мг/кг ежедневно в течение 1 месяца; 3 – водный раствор ксидифона (препарат сравнения) в дозе 10мг/кг в тех же условиях; 4 – водный раствор сульфата кадмия ($CdSO_4$) в дозе 15 мг/кг (ПДК=0,05 мг/кг и LD/50=88 мг/кг) ежедневно в течение того же времени; 5 – $CdSO_4$ и фитопрепарат; 6 – $CdSO_4$ и ксидифон; 7 – $CdSO_4$, ксидифон и фитопрепарат в тех же дозах и условиях. Функциональные и гистологические исследования проводили по общепринятым методикам.

У животных, получавших $CdSO_4$, отмечалось достоверное увеличение креатинина в крови и моче, минутного диуреза, скорости клубочковой фильтрации, белка в моче и недостоверное понижение удельного веса мочи. У интоксцированных крыс через 1 месяц после воздействия $CdSO_4$ наблюдались дистрофические изменения преимущественно эпителиоцитов проксимальных канальцев. Итак, возможно, повышение скорости клубочковой фильтрации при кадмиевой интоксикации связано компенсаторный механизм адаптации почки к снижению активности транспортных систем канальцевого отдела нефрона, что подтверждается увеличением экскреции белка и повреждением проксимального отдела.

Препарат из кермека Гмелина в значительной степени предотвращал токсическое действие кадмия, снижая уровень структурных и функциональных изменений в почках леченных животных. Например, фитопрепарат способствовал достоверному снижению креатинина в крови и моче и скорости клубочковой фильтрации у интоксцированных животных. Нефропротективный эффект фитопрепарата усиливался при совместном его воздействии с ксидифоном. У интоксцированных животных, леченных фитопрепаратом или (и) ксидифоном, каких-либо существенных структурных изменений в структуре нефрона не обнаруживалось.

На основании результатов биохимического и гистологического исследований установлено, что препарат из кермека Гмелина обладает нефропротекторным действием при кадмиевой интоксикации.

Литература:

1. Нефрология / под ред. И.Е. Тареевой. - М.: Медицина, 2004. – 688 с.
2. Kishimoto N., Oguri T., Ohno M. Effect of cadmium ($CdCl_2$) on cell proliferation and production of TDRF (endothelium-derived relaxing factor) by cultured human umbilical arterial endothelial cells // Arch. Toxicology. - 1994. - Vol.68, № 9. - P. 555-559.

3. Жусупова Г.Е. Фитохимическое исследование корней кермека солончакового (Гмелина) // Тезисы 4 международной конференции по медицинской ботанике. - Киев, 1997. - С. 393.

Изменение пероксидазной активности цитохрома С в присутствии детергентов.

Киреев Антон Владимирович

Студент

Российский государственный медицинский университет

E-mail: kireevant@gmail.com

Апоптоз – это один из самых важных процессов в жизни многих организмов. Нарушения механизмов апоптоза могут приводить к таким патологиям, как онкологические заболевания, сердечные заболевания и патологии развития. Таким образом, изучение механизмов развития апоптоза, и его регуляция является одной из важнейших проблем медицины. Известно, что развитию апоптоза предшествует выход цитохрома С из митохондрий вследствие появления у него высокой пероксидазной активности. Целью данной работы было изучение пероксидазной активности и изменения структуры активного центра цитохрома С методами люминолзависимой хемилюминесценции, флуоресценции Trp-59 и спектрофотометрии. В наших исследованиях показано, что в присутствии додецил-сульфата натрия (Ds-Na) резко возрастает интенсивность как хемилюминесценции, так и флуоресценции цитохрома С. В тоже время добавление Ds-Na приводит к резкому снижению и исчезновению полосы 695 нм, что свидетельствует о деформации или разрыве связи Fe-Met-80. Представленные результаты говорят о изменениях пространственной структуры в активном центре цитохрома С. Дальнейшие исследования показали, что пероксидазная активность цитохрома С, активированная с помощью Ds-Na, значительно подавляется в присутствии оксида азота, так как приводит к формированию его нитрозильных комплексов. С другой стороны, действие лазерного излучения (He-Cd лазер, 441нм) приводило к фотолизу нитрозильных комплексов цитохрома С и частичному восстановлению его пероксидазной активности. Таким образом, в наших экспериментах продемонстрирована возможность увеличения пероксидазной активности цитохрома С, а также её модуляция при действии оксида азота и лазерного излучения. Можно предполагать, что подобным образом можно регулировать и процесс апоптоза.

Оценка активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы у крыс с экспериментальной опухолью на фоне применения озона и доксорубина

Клинова Елена Сергеевна, Щербатюк Татьяна Григорьевна

ассистент, к.б.н.; заведующий кафедрой биологии, д.б.н.

Государственное общеобразовательное учреждение высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия», Нижний

Новгород, Россия

E-mail: klies@list.ru

Введение

Печень имеет важное значение в процессе адаптации организма к воздействию стрессирующих факторов как экзогенного, так и эндогенного характера. Реакции промежуточного обмена в печени в процессе адаптации к системному и токсическому воздействию опухоли обеспечивают как барьерную функцию, направленную на защиту внутренней среды от неблагоприятного действия токсических веществ, так и функцию обеспечения всего организма пластическим материалом. Целью исследования явилась оценка активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы у крыс с

гепатомой Зайделя на фоне введения озонированного физиологического раствора (ОФР) и доксорубина (ДР).

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 60 белых нелинейных крысах, самцах, массой 200±25 г. Модель неоплазии создавали путем перевивки гепатомы Зайделя (ГЗ), приобретенной в НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН (г.Москва). ОФР вводили внутривенно с концентрацией озона в озонкислородной смеси 0,2 мг/л и скоростью газотока 0,5 л/мин ежедневно, начиная с 7 суток роста опухоли, в течение 5 дней. Озонкислородную смесь получали из медицинского сверхчистого кислорода на озонаторе (АОТ-НСК-01-«С (А-16)», РФЯЦ-ВНИИЭФ, г.Саров). ДР (1,4-гидроксидауномицин) (ООО «ЛЭНС-ФАРМ» ЗАО «Верофарм» (г. Москва)) в ампулах по 10 мг лиофилизированного порошка) вводили в дозе 60 мг/м² внутривенно однократно на 12 сутки роста гепатомы. Активность ферментов аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) в плазме крови животных определяли колориметрическим методом с помощью стандартных наборов Vital Diagnostics (Санкт-Петербург). Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты

Сбой адаптационных возможностей организма вследствие роста Г-27 и ГЗ усугубляет тяжесть поражения гепатоцитов. Установлено, что ферменты АлАТ и АсАТ органоспецифичны, поэтому увеличение их активности в плазме крови может свидетельствовать о повреждении или разрушении клеток печени. При исследовании активности ферментов в плазме крови животных контрольной группы было отмечено повышение активности ферментов АсАТ и АлАТ на 110% и 90% соответственно ($p \leq 0,05$) по сравнению с плазмой крови интактных крыс. На фоне моно-воздействия активность ферментов в плазме крови крыс снизилась незначительно: АлАТ на 12% и АсАТ на 10% ($p \leq 0,05$). Комбинированное введение озона и ДР животным с опухолью сопровождалось большей нормализацией параметров активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы по сравнению с моно-терапевтическим воздействием: активность АлАТ снизилась на 29%, АсАТ на 28% ($p \leq 0,05$).

Таким образом, совместное введение озонированного физиологического раствора и химиопрепарата животным с гепатомой Зайделя оказывает корректирующий эффект на активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в плазме крови крыс на фоне роста гепатомы Зайделя.

Роль митохондриального генома в развитии мультифакторных заболеваний

Конюхова Евгения Владимировна, Кравцова Ольга Александровна

аспирант; ассистент, к.б.н.

Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина,

Казань, Россия

E-mail: evgeniakon@rambler.ru

Исследования, проведенные в области расшифровки генома, показывают, что большинство распространенных заболеваний человека, имеющих медицинскую значимость, являются результатом действия многих генетических факторов в сочетании с воздействиями окружающей среды, то есть имеют мультифакторную природу. К категории мультифакторных признаков относятся все основные причины заболеваемости и смертности в современных популяциях человека, в числе которых атеросклероз, артериальная гипертония и многие другие патологии сердечно-сосудистой системы.

До недавнего времени при изучении мультифакторных патологий пристальное внимание уделялось только генам ядерного генома, участвующим в метаболизме липидов и углеводов, тогда как митохондриальная ДНК (мтДНК) использовалась, главным

образом, в качестве маркера для популяционных исследований. Однако гены, кодируемые мтДНК, являются основными регуляторами процессов синтеза АТФ и программируемой клеточной гибели. Таким образом, они могут принимать непосредственное участие в поддержание липидного и углеводного гомеостазов клетки.

В связи с вышесказанным, представляется актуальным изучение роли митохондриальной ДНК в развитии мультифакторных заболеваний.

Генотипирование по полиморфным локусам мтДНК было проведено у 401 человека. Материалом для генотипирования служили образцы ДНК, полученные из цельной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Анализ генетических полиморфизмов исследуемых генов осуществляли методом ПЦР с дальнейшим проведением рестрикционного анализа.

Проведён сравнительный анализ распределение частот 13 митотипов полиморфных локусов мтДНК в двух популяциях (татар и русских), в группах больных атеросклерозом, артериальной гипертонией и в контрольной группе сравнения. Сравнительный анализ распределения частот митотипов в группах больных и группе контроля не показал наличие статистически значимых различий. При этом в группах больных сердечно-сосудистыми заболеваниями наблюдается тенденция к увеличению частоты встречаемости митотипов H, U, I и D, а также гаплогруппы J в группе гипертоников.

Для оценки роли ассоциации митотипов с показателями углеводного и липидного обменов был проведён сравнительный анализ во всех исследуемых группах. При этом была выявлена ассоциация митотипов U и D с повышенными показателями глюкозы в крови, а также митотипов H, U и I с увеличением концентрации холестерина и β -липопротеинов у лиц, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Таким образом, в результате данного исследования было показано, что гаплогруппы H, U, I, J и D мтДНК, характеризующиеся однонуклеотидными заменами в генах, кодирующих субъединицы дыхательной цепи, с высокой частотой встречаются у лиц, страдающих заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Нужно отметить, что подобные работы ранее не проводились не только для населения Республики Татарстан, но и в целом для популяций России.

Полученный экспериментальный материал представляет значительный интерес для медицинской генетики и может использоваться для донозологической диагностики и профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы у населения Республики Татарстан.

Оценка влияния бивентрикулярной стимуляции на гемодинамику сердца у больных хронической сердечной недостаточностью с использованием собранной современной системы обработки и хранения информации

Краев Алексей Александрович

аспирант

Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

E-mail: alkraev@yahoo.com

На сегодняшний день сердечная недостаточность служит одной из основных причин потери трудоспособности среди лиц зрелого и пожилого возраста. Большое значение при лечении таких пациентов имеют точная информация о состоянии здоровья и применение новых методов лечения. В связи с этим одним из наиболее перспективных направлений в развитии медицины является создание высокотехнологических систем обработки и хранения информации.

В настоящее время среди перспективных направлений в лечении СН является применение бивентрикулярных электрокардиостимуляторов и модернизации способов обработки информации специализированных кардиологических отделений клиник,

создание многофункциональных, высокотехнологичных баз данных, объединение всех средств ультразвуковой диагностики в единую систему.

Целью нашей работы был качественный переход в системе обработки, хранения и передачи информации в отделении ультразвуковой диагностики Тюменского кардиологического центра и анализ гемодинамики сердца, при воздействии бивентрикулярного электрокардиостимулятора у больных хронической сердечной недостаточностью.

В ходе работы нами была собрана система обработки и хранения информации отделения ультразвуковой диагностики Тюменского кардиологического центра, объединяющая в единую сеть все аппараты ультразвуковой диагностики. Центральным звеном системы является перенастроенная, с учетом потребностей отделения платформа обработки и хранения информации ультразвуковой диагностики Echo PAC PC. На основе данной платформы собрана база данных пациентов отделения включающая на данный момент 1500 обследований. С использованием системы произведено изучение эхокардиограмм 24 регулярно наблюдаемых больных ХСН с установленным бивентрикулярным кардиостимулятором, произведено изучение основных гемодинамических показателей сердца у данных пациентов. Нами оценивались следующие показатели: фракция выброса, митральная регургитация, трикуспидальная регургитация, градиент аорты, ускорение на аорте, время выброса из аорты, градиент легочной артерии, ускорение на легочной артерии, время диастолического потока, в качестве критерия диастолической дисфункции ЛЖ использовали величину соотношения Е/А (отношение скорости раннего диастолического наполнения к скорости наполнения в систолу предсердий). Данные обследования проводились по следующему графику: до установки бивентрикулярного электрокардиостимулятора, после установки, через месяц, через два месяца, через шесть месяцев, через год после установки. В процессе прохождения обследования результаты фиксировались в базе данных УЗИ и Echo PAC PC. После чего фрагменты эхокардиограммы с интересующими нас параметрами были отобраны и изучены.

У всех пациентов отмечены положительные сдвиги в гемодинамике, на определенных стадиях лечения: достоверное увеличение фракции выброса уже при втором исследовании, достоверное снижение митральной регургитации к 6 месяцу, достоверное увеличение скоростных показателей на аорте, достоверное повышение и нормализация времени диастолического потока,

отмечен псевдонормальный тип трансмитрального спектра, с тенденцией к снижению (снижение на 10% к 1-ому году.), отмечена тенденция к снижению скорости трикуспидальной регургитации отсутствие достоверных изменений в гемодинамике на легочной артерии.

Оценка гемагглютинирующей активности экстрактов барвинка, душицы и лапчатки кустарниковой по отношению к эритроцитам различного происхождения
*Курицкая Александра Александровна¹, Вишневская Юлия Андреевна²,
 Романовская Татьяна Ренольдовна³*

*¹-студентка 4-ого курса, ²-старший преподаватель кафедры иммунологии, ³-к.м.н.,
 доцент кафедры иммунологии*

*Международный государственный экологический университет имени А.Д. Сахарова,
 Минск, Беларусь*

E-mail: stk71016@yandex.ru

Введение

Лектины и полисахариды, являясь биологически активными веществами растений, обладают способностью связываться со специфическими рецепторами иммунокомпетентных клеток и приводить к их активации. Эти свойства могут быть

использованы как для разработки иммуномодулирующих препаратов, так и иммунодиагностикомов для оценки пролиферативной активности лимфоцитов и экспрессии ими специфических рецепторов. Однако исследование химической природы биологически активных веществ растительных экстрактов и их специфичности представляет собой достаточно сложную задачу. Целью данной работы являлось исследование особенностей гемагглютинирующей активности ряда растительных препаратов в отношении эритроцитов различных видов.

Методы

Были исследованы водные экстракты барвинка, душицы и лапчатки кустарниковой в диапазоне концентраций 0,001 – 0,2%. Определение гемагглютинирующей активности проводили в тесте микроагглютинации эритроцитов (с 1 % суспензией эритроцитов животных различных видов и человека, приготовленной на изотоническом растворе хлорида натрия). Всего проделано по 10 серий опытов. В эксперименте были использованы эритроциты мыши, крысы, кролика, морской свинки, собаки, барана, свиньи, а также эритроциты человека различных групп крови АВО.

Результаты

Было установлено, что экстракт барвинка в концентрациях 0,05 – 0,2% вызывает агглютинацию только эритроцитов мыши, и не взаимодействует с эритроцитами других видов. Экстракт душицы вызывает агглютинацию эритроцитов всех лабораторных животных, но не взаимодействует с эритроцитами человека. При этом минимально действующие концентрации экстракта душицы, вызывающие гемагглютинацию для разных видов могут отличаться в 100 раз. Экстракт лапчатки кустарниковой вызывал агглютинацию у всех исследованных видов. При этом значения минимально действующих концентраций для этого экстракта изменялись от 0,0015% до 0,025%. Протекание реакции агглютинации в отсутствии признаков лизиса эритроцитов позволяет предположить лектиновую природу взаимодействия экстрактов с клетками, а наблюдаемые различия связаны с особенностями организации поверхностного рецепторного аппарата эритроцитов различного происхождения. Таким образом, реакция гемагглютинации с эритроцитами различного происхождения может быть использована в качестве скрининговой для установления специфической лектиновой активности растительных экстрактов.

Литература:

1. Lukyanov P.A., Belogortseva N.I., Bulgakov A.A., Kurika A.V., Novikova O.D. (1996) Lectins and glycosidases from marine macro- and microorganisms of Japan and Okhotsk Seas. PICES Scientific Report, N6, p.348-352.

Эффективность трансплантации клеток обонятельной выстилки человека при их внутривенной инъекции и локальном введении в область травмы

Масгутова Галина Андреевна¹, Драгунова Елена Евгеньевна²,

Масгутов Руслан Фаридович¹, Рагинов Иван Сергеевич¹,

Чельшев Юрий Александрович¹

аспирант

¹ *Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия*

² *Казанский государственный университет, Казань, Россия*

E-mail: galina2526@gmail.com

Проведенные экспериментальные исследования последнего десятилетия выявили новый альтернативный источник клеток для трансплантации при повреждении спинного мозга - столовые и глиальные клетки обонятельной выстилки. Интерес к глиальным клеткам обонятельной выстилки подкреплён лёгкой доступностью и малой инвазивностью процедуры забора материала и возможностью получения аутологичных клеток. Однако процедура инъекции трансплантируемых клеток в область травмы спинного мозга также

достаточно инвазивна. Поэтому поиск других менее травматичных способов введения клеток представляется актуальным. В настоящей работе на модели латеральной гемисекции спинного мозга крысы проведена сравнительная оценка эффективности трансплантации клеток обонятельной выстилки человека при их внутривенной инъекции и локальном введении в область травматического повреждения.

У крыс-самок весом 200–250 г под уретановым наркозом (600 мг/кг, внутривенно) на уровне Т8 после ламинэктомии производили латеральную гемисекцию спинного мозга справа. Животным первой группы сразу после гемисекции вводили 200 тыс. клеток в 5 мкл раствора Рингера в две точки, находящиеся на расстоянии 1 мм роstralнее и каудальнее линии разреза и 0,5 мм латеральнее срединной линии. В контроле по той же схеме животным вводили раствор Рингера.

Животным второй группы через 14 суток после операции однократно через хвостовую вену вводили 400 тыс. клеток в 5 мкл раствора Рингера. Животным контрольной группы в хвостовую вену вводили раствор Рингера в том же объеме.

В течение пяти дней после операции животным всех групп вводили 1% раствор цефазолина (6 мг/кг) для предотвращения послеоперационных осложнений и ежедневно принудительно опорожняли мочевой пузырь.

Состояние локомоторной функции экспериментальных и контрольных крыс на 2, 7, 11, 14, 18, 21, 25 и 28 сутки после операции оценивали по поведению в открытом поле (тест «BBB») [Basso et al., 1995]. Этот тест применяется при оценке нарушений моторных функции крыс после контузии и латеральной гемисекции спинного мозга. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы SPSS 15.0 методом ANOVA с тестированием *post hoc* по Tukey, а также с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Через 28 суток после гемисекции и введения клеток в область травмы спинного мозга среднее значение показателя тестирования в открытом поле составило $13,6 \pm 1,27$, а в контрольной группе - $11,4 \pm 2,3$. Через 42 дня после гемисекции спинного мозга и 28 суток после введения клеток в хвостовую вену среднее значение показателя тестирования в открытом поле составило $11,8 \pm 1,48$, а в контрольной группе - $10,8 \pm 0,96$.

Полученные данные дают основание предполагать, что в данном случае прицельная доставка клеток обонятельной выстилки к месту травмы оказывает стимулирующее влияние на восстановление двигательной функции после гемисекции спинного мозга.

Литература:

1. Basso D., Beattie M. and Bresnahan J., (1995) A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats // *Journal of Neurotrauma*, 12, p. 1-21.

Разработка тест-системы для диагностики атипичных и бессимптомных форм коклюша методом ПЦР.

Медкова Алиса Юрьевна, Каратаев Геннадий Иванович

Студентка, к.б.н.

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи РАМН, г. Москва, Россия

E-mail: alissa-84@mail.ru

Коклюш – респираторное инфекционное антропонозное заболевание с высокой летальностью детей раннего возраста, вызываемое патогенными бактериями *Bordetella pertussis*. Ежегодно, несмотря на внедрение эффективных программ вакцинации, регистрируется более 48,5 миллиона заболеваний коклюшем. Предполагается, что вспышки коклюша у восприимчивых к возбудителю новорожденных обусловлены персистенцией (носителем) микроорганизма *B.pertussis* у подростков и взрослых, перенесших заболевание в атипичной или бессимптомной форме (с симптомом

«длительный кашель», предположительным диагнозом ОРВИ). Основные методы лабораторной диагностики возбудителя коклюша, бактериологический и серологический, при стертых формах заболевания не дают результатов.

Целью работы является разработка тест-системы ПЦР для идентификации возбудителя коклюша у длительно кашляющих пациентов и у контактирующих с ними людей.

Для быстрой и достоверной диагностики коклюша методом ПЦР тест-система должна содержать внутренний стандарт (ВС) и быть пригодной для транспортировки при комнатной температуре. Таким требованиям удовлетворяют высушенные в «ПЦР пробирке» компоненты реакционной смеси, обеспечивающие технологию «горячего старта» ПЦР. В разработанной нами тест-системе «горячий старт» достигается в результате временной инактивации Taq-полимеразы за счёт её взаимодействия с моноклональными антителами (МАТ). Тест-система состоит из сухих компонентов, включающих праймеры K10f - K10r, комплекс Taq-полимеразы и МАТ, смеси трифосфатов и ДНК ВС, помещенных в реакционную пробирку объемом 0,6 мл. ПЦР проводится в пробирке после добавления в нее ПЦР-буфера и исследуемой ДНК. Комплекс Taq-полимеразы с МАТ денатурируется в результате прогрева пробирки при 95⁰С в течение 5 минут. Разработан внутренний стандарт ПЦР (ВС) для предотвращения ложноотрицательных результатов. ВС – плазмидная ДНК, состоящая из вектора рGEM и клонированного продукта ПЦР-ДНК *B.pertussis* вирулентного штамма Tohama I, содержащего последовательности праймеров K10f-K10r и вставку ДНК бактериофага λ размером около 200 н.п. Использование ВС позволяет не только контролировать качество реакции, но и оценить количество ДНК мишени в образце. Для детектирования продуктов реакции может быть использован гельэлектрофорез или один из вариантов гибридизационного анализа. Для выделения ДНК из смывов с назофарингеальных тампонов использована обработка клинического материала раствором гуанидинтиоционата с последующей сорбцией ДНК на магнитном сорбенте фирмы Promega США.

С помощью разработанного нами метода было обследовано 106 детей разных возрастных групп с симптомом «длительный кашель» и 82 «практически здоровых» ребенка. ДНК возбудителя коклюша было выделено у 31% длительно кашляющих детей и у 7,3% «практически здоровых» детей. Полученные данные показывают, что коклюш может протекать в форме бессимптомного носительства, а также в атипичных формах под маской других респираторных заболеваний (ОРВИ).

Значение коэффициента податливости артериальной стенки у лиц с артериальной гипертонией в условиях города Якутска¹.

Морозов С.Н., Ефимов А. Ф., Морозова Е.А.²

Аспирант, студент, соискатель

Медицинский институт ЯГУ, Якутск.

E-mail: dea2003@rambler.ru

Прогнозирование сердечно-сосудистых осложнений (ССО) является актуальной проблемой в кардиологии. Основная причина ССО и смертности при артериальной гипертонии (АГ) заключается в структурных и функциональных изменениях миокарда и сосудистого русла.

Целью исследования явилось изучение зависимости развития ассоциированной с АГ кардиологической патологии с изменениями коэффициента податливости артериального русла (КП) у жителей г.Якутска.

Материалы и методы: В связи с поставленной задачей было обследовано 67 мужчин(средний возраст 38,9±1,3 лет) больных АГ II степени с отсутствием кардиального болевого синдрома. В ЯГКБ больным осуществлялась комплексная оценка

жалоб, анамнеза заболевания и жизни, результатов клинических, лабораторных, функциональных и инструментальных методов исследований.

Результаты и обсуждение: У мужчин наблюдались следующие гемодинамические показатели, ЧСС баз $72,0 \pm 3,1$ в мин., САД баз $169 \pm 1,8$ мм.рт.ст., ДАД баз $89 \pm 8,3$ мм.рт.ст., ПД $81 \pm 6,7$ мм.рт.ст., АД ср.гемод. $145 \pm 10,2$ мм.рт.ст., ударный объем (УО) $112 \pm 2,4$, причем КП имел диапазон от $1,1 \pm 0,23$ до $1,6 \pm 0,36$ (среднее значение $1,37 \pm 2,7$). На основании чего нами было выделено 2 группы с КП менее 1,4, группа м1 (n=36) и с КП более 1,4 группа м2 (n=31). Распределение типов суточного профиля АД выявило достоверно большее количество non-dipper у м1 по сравнению с м2 (55,3% и 43,1% по САД, и 50,3% и 38,2% по ДАД соответственно, $p < 0,01$). Безболевого ишемия миокарда (БИМ) выявлена при ХМ-ЭКГ у м2-8,3%, а у м1-16,6% ($p < 0,05$). Суммарная продолжительность всех эпизодов ишемии миокарда за сутки у м1- $36,7 \pm 1,3$ мин, а у м2 - $23,1 \pm 1,8$ мин ($p < 0,05$). Гипертрофия миокарда левого желудочка по ЭХО-КГ у 19,4% м2 и у 26,6% м1 ($p < 0,05$). Больным индивидуально подобрана схема гипотензивной терапии.

При повторном обследовании через 12 месяцев найдено: % выявления БИМ увеличился в группе м1 на 6,7% ($p < 0,05$), стенокардия напряжения 1-2ФК развилась у 10% м1 и у 5,5% м2 ($p < 0,05$), острый коронарный синдром у 3,1% м1 ($p < 0,01$). Летальных исходов связанных с сердечно-сосудистой патологией не было.

Вывод: В нашем исследовании определяется снижение КП относительно возрастной нормы у лиц проживающих на Севере. Прослеживается обратная взаимосвязь КП с наличием БИМ, уменьшением амплитуд суточных ритмов АД за счет САД и ДАД при первичном обследовании, и отрицательной динамикой развития ССО при повторном обследовании. Исследование КП у больных с АГ может быть использовано для стратификации риска, подбора гипотензивной терапии.

Литература:

1. Попова Е.К., Иванов К.И., Аронов Д.М. // Профилактика неинфекционных заболеваний как один из приоритетов сохранения здоровья. Якутск, 2000. С. 32-33.

Использование монотерапии статинами при хронической сердечной недостаточности в эксперименте.

Морозов Иван Ильич

студент

Ярославская государственная медицинская академия, Ярославль, Россия

E-mail: Ivmoro@mail.ru

Основными причинами возникновения хронической сердечной недостаточности (ХСН) является ишемическая болезнь сердца (ИБС), артериальная гипертензия и их сочетание. При этом ХСН сопровождается изменениями липидного состава плазмы крови, которые лежат в основе процесса дислипидемия – атеросклероз коронарных артерий – ИБС – ХСН, а именно: увеличение концентрации общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеидов низкой (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП), триацилглицеридов (ТАГ), а так же снижением липопротеидов высокой (ЛПВП).

Доказано, что в условиях экспериментальной ХСН не ишемического генеза у крыс, возникают нарушения липидного обмена атерогенного характера, таким образом, не исключается возможность их коррекции гиполипидемическими средствами с целью терапии ХСН.

Цель исследования: оценить показатели липидного спектра плазмы крови в условиях экспериментальной ХСН неишемического генеза на фоне монотерапии статинами (аторвастатин, симвастатин, флувастатин), а так же их влияние на продолжительность жизни крыс.

Исследование проводилось на 5 группах крыс-самцов по 10 животных в каждой: интактной (здоровые), контрольной (ХСН без лечения) и 3 опытных с ХСН, которым

ежедневно внутривенно вводились аторвастатин, симвастатин, флувастатин в дозе 1,5 мг/кг веса крысы каждый. Для модели использовалось силиконовое масло в дозе 1,5 мл на 100 г веса в каждую плевральную полость, с повторным введением в дозе 1 мл на 100 г веса через 1 месяц. Концентрация ОХС, ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП, ТАГ в плазме крови определялась ферментативным колориметрическим методом, рассчитывался коэффициент атерогенности по Климову, 6-месячная выживаемость крыс.

На фоне ХСН у крыс имело место увеличение концентрации ОХС в 2 раза, ЛПНП, ЛПОНП и ТАГ в 2,4 раза по сравнению со здоровыми животными ($p < 0,05$), концентрация ЛПВП снизилась на 24% ($p < 0,05$), что привело к увеличению коэффициента атерогенности (Ка) плазмы крови крыс при ХСН в 3 раза.

При коррекции дислипидемии статинами было установлено: симвастатин снизил концентрацию ОХС на 37%, ТАГ на 63%, ЛПНП на 34%, (Ка) в 2,3 раза, уровень ЛПВП вырос на 32%; аторвастатин уменьшил ОХС на 59%, ЛПНП на 92%, (Ка) в 3,3 раза; флувастатин уменьшил ОХС на 39%, ЛПНП на 86%, (Ка) в 1,4 раза по сравнению с больными животными ($p < 0,05$).

Выживаемость крыс, больных ХСН, за 6-месяцев была на 70% меньше, чем у здоровых животных. Аторвастатин и симвастатин при 6-месячном курсовом введении имели примерно равнозначный эффект и повышали выживаемость крыс на 40% по сравнению с контрольной группой без лечения ($p < 0,05$).

Таким образом, применение исследуемых статинов при экспериментальной ХСН не ишемического генеза способствует улучшению показателей липидного спектра плазмы крови и повышению полугодовой выживаемости животных.

Литература:

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / В.П. Фисенко - М.: Бионт, 2000. - 400 с.
2. www.cardiosite.ru

Анализ воспалительной реакции в ответ на внутрикоронарное вмешательство

Нестеров Денис Валерьевич

студент

Белгородский государственный университет, Белгород, Россия

E-mail: nesterovd@hotmail.com

Одной из ключевых проблем современной интервенционной кардиологии является рестеноз после коронарной ангиопластики. Очевидно наличие индивидуальных факторов предрасполагающих к развитию рестеноза, что диктует необходимость определения маркеров рестеноза у лиц с успешно проведенным стентированием коронарных артерий [1].

В связи с вышеизложенным целью нашей работы стала оценка воспалительной реакции в ответ на коронарную интервенцию.

Исследование проведено в кардиологическом отделении Областной клинической больницы г. Белгорода. Степень атеросклеротического поражения коронарных сосудов определялась коронарографически. В исследование были включены 93 больных ИБС с одно- и многососудистыми поражениями без какой-либо сопутствующей патологии на момент проведения стентирования. Им были имплантированы стенты с лекарственным покрытием (TAXUS, CYPHER) и без лекарственного покрытия (Coroflex Blue, Calix, Vx Sonic). Оценивалась концентрация в крови С-реактивного белка (СРБ), интерлейкина 6 (ИЛ6), фактора некроза опухоли (ФНО) и фибриногена. Статистическая обработка данных проводилась в программном комплексе Statistica 6.0, с использованием критериев Манн-Уитни и Вилкоксона. Данные представлены в виде медианы; 25-го и 75-го процентилей.

Проведенное исследование показало, что после проведения стентирования статистически значимо ($p < 0,05$) повышается только уровень СРБ с (3,7; 2,8; 8,9) мг/л до (4,6; 3,0; 12,9) мг/л и ИЛ6 с (21,6; 17,6; 41,1) пг/мл до (29,0; 20,2; 46,2) пг/мл. Показатели α -ФНО не претерпевали существенных изменений после стентирования. Повышение СРБ и ИЛ6 регистрировалось вне зависимости от типа имплантируемого стента ($p < 0,05$). Однако, у больных которым имплантировались стенты с лекарственным покрытием уровень СРБ и ИЛ6 были значимо ниже ($p < 0,05$). В группе больных со стентами без лекарственного покрытия концентрация СРБ в среднем увеличивалась на 4,3 мг/л, в то время как в группе больных со стентами с лекарственным покрытием на 2,6 г/мл. При имплантации стентов с лекарственным покрытием также повышается уровень фибриногена с (2,8; 2,5; 3,7) г/л до (3,9; 2,7; 4,3) г/л ($p < 0,05$).

В группе пациентов с концентрацией СРБ больше 10,0 мг/л до вмешательства, концентрация воспалительных маркеров не изменялась.

Проведенный анализ выявил четкую связь интенсивности воспалительного процесса с числом пораженных коронарных сосудов. Уровень СРБ и ИЛ6 был статистически значимо ($p < 0,05$) выше у больных ИБС с многососудистым поражением.

Выводы:

Имплантация стента является мощным провоспалительным фактором вне зависимости от наличия или отсутствия лекарственного покрытия.

Стенты с лекарственным покрытием вызывают меньший воспалительный ответ, если уровень СРБ до стентирования составляет менее 10,0 мг/л.

Имплантация стентов с лекарственным покрытием связана с увеличением уровня фибриногена, что может быть связано с повышенным риском возникновения тромбозов при их использовании.

Литература:

1.Kozievski M, Sukiennik A et al. Restenosis after coronary angioplasty: pathomechanism and potential targets for therapeutic intervention. Focus on inflammation. // Postepy Hig Med Dosw. 2007;61:58-73.

Перспективный фотохимический метод определения иммуноглобулинов в сыворотке крови человека при миеломной болезни

Никитенко Екатерина Александровна, Фомина Татьяна Владимировна

аспиранты

Волгоградский государственный медицинский университет, Кафедра теоретической биохимии с курсом клинической биохимии, Волгоград, Россия

E-mail: nikitenko_katja@mail.ru

В настоящее время при мониторинге состояния и эффективности лечения пациентов с миеломной болезнью актуальным представляется поиск простых колориметрических методов, позволяющих быстро, доступно и достаточно часто проводить количественное определение фракции иммуноглобулинов сыворотки крови. В данной работе мы исследовали принципиальную возможность использования для данных целей нового фотохимического метода с п-диметиламинобензальдегидом (ПДАБА-метод) (Suzuki Y., 2000).

Методы

Ранее мы показали, что ПДАБА преимущественно взаимодействует с фракцией иммуноглобулинов сыворотки крови, ввиду обогащенности белков данной группы остатками триптофана (Никитенко Е.А. с соавт., 2007). Целью работы было сравнение нового подхода с определением иммуноглобулинов методом электрофореза (ЭФ) в агарозном геле и косвенным способом, основанным на расчете разности между содержанием общего белка и альбумина (биурет-БКЗ-метод). В качестве объектов исследования использовали модельные белковые смеси альбумина (35-50 г/л) и

иммуноглобулина человеческого нормального (5-50 г/л), контрольную сыворотку Bio-Rad (Level 1 и 2) и образцы сыворотки крови пациентов с миеломной болезнью (N=11). Для сравнения методов рассчитывали правильность, воспроизводимость, диагностическую чувствительность и специфичность.

Результаты

Относительное отклонение от истинного содержания иммуноглобулинов в пробе при анализе модельных смесей с использованием ПДАБА-метода не превышало 15 %, что сравнимо с данными ЭФ (до 20 %) и существенно меньше, чем у биурет-БКЗ-метода (до 60 %). Вариабельность всех методов не превышала 20%. Сходная картина была получена при исследовании образцов контрольных сывороток. При анализе образцов сыворотки крови от пациентов с миеломной болезнью с использованием ПДАБА-метода диагностическая чувствительность составила 73 %, диагностическая специфичность 100 %. Для биурет-БКЗ-метода эти показатели составили 82 % и 71 %, а для ЭФ 64 % и 100 % соответственно. При этом прогностическая значимость положительного результата для ПДАБА-метода и ЭФ составила 100 %, а для биурет-БКЗ-метода не превышала 50 %.

Выводы

Мы показали, что ПДАБА-метод может оказаться перспективным для использования при мониторинге за состоянием больных с парапротеинемическими гемобластозами, как более простой, технологичный, доступный, экономически выгодный, чем общепринятые методы, и в то же время достаточно чувствительный и воспроизводимый.

Литература:

1. Susuki Y. (2000) Color Reaction of Aromatic Aldehyde with Serum Protein and Its Application to the Determination of Serum Total Globulin Concentration. // Anal. Sci., V.16., p. 145-149.
2. Никитенко Е.А., Зайцев В.Г., Островский О.В. (2007) Влияние содержания триптофана в белках на возможность их определения фотохимическим методом с п-диметиламинобензальдегидом. // Биомедицинская химия. Т.53, №2, стр. 216-220.

Исследование механизма анальгетического действия производных N-4-(1-адамантил)бензоиламинокислоты

Никитченко Елена Анатольевна
аспирант

Ярославская государственная медицинская академия, Ярославль, Россия
E-mail: NikitchenkoEA@yandex.ru

Цель исследования – изучение возможного нейромедиаторного механизма анальгетического действия пяти производных N-4-(1-адамантил)бензоиламинокислоты (вводились внутривенно в дозе 20 мг/кг) с помощью веществ-анализаторов: налоксона – антагониста μ -опиатных рецепторов в дозе 1 мг/кг, циклодола – блокатора M- и H-холинорецепторов в дозе 0,15 мг/кг и димедрола – антагониста H₁ гистаминовых рецепторов в дозе 1,7 мг/кг при их внутривенном введении на модели корчей у мышей, вызванных введением уксусной кислоты.

Проведенные ранее эксперименты свидетельствуют о том, что данные субстанции обладают выраженной противоболевой (на модели химического болевого раздражения у мышей) и противовоспалительной активностью (на моделях перитонита у мышей и формалинового отека у крыс), сопоставимой или превосходящей препараты сравнения диклофенак и целебрекс. При этом у них практически отсутствует ulcerogenicное действие, характерное для неселективных нестероидных противовоспалительных препаратов, что позволяет сделать предположение об их слабом влиянии на конституционную циклооксигеназу-1.

Большое количество исследований, посвященных изучению болевой чувствительности, указывают на развитие анальгезии при раздражении опиоидных рецепторов, поэтому участие этого механизма действия у производных N-4-(1-адамантил)бензоиламинокислоты изучалось в первую очередь. Результаты проведенных опытов показали, что на фоне введения налоксона выраженность противоболевого действия практически не менялась, что свидетельствует об отсутствии влияния опытных субстанций на опиоидные рецепторы. Влияния производных N-4-(1-адамантил)бензоиламинокислоты на холинергические и гистаминовые рецепторы также установлено не было.

Таким образом, анальгетический эффект всех исследуемых веществ не связан с активацией опиоидной, холинергической и гистаминовой медиаторных систем, что предполагает их иной механизм действия.

Литература:

1. Брагин Е.О. Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности: Монография. – М.: Изд-во УВН, 1991.
2. Женило В.М., Женило М.В. Нейромедиаторные механизмы анальгетического действия некоторых анестетиков // Материалы III съезда фармакологов России «Фармакология - практическому здравоохранению» - Санкт-Петербург, 2007 - С. 1-1692 - 1-1693
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / В.П. Фисенко, Е.В. Арзамасцев, Э.А. Бабаян и др. - М.: Бионт, 2000. - 400 с.
4. Korzeniewska-Rubika I., Plaznik A. Antidepressant drugs exert antinociceptive activity via δ -opioid receptor // Pol. J. Pharmacol. – 1999. – 51(3). – P. 280-281.

Особенности показателей окислительного стресса при наружном генитальном эндометриозе

Поддубная Ольга Николаевна
аспирант

Российский государственный медико-стоматологический университет, Москва, Россия
E-mail: Poddubnaya@yandex.ru

В структуре гинекологической заболеваемости у женщин репродуктивного возраста удельный вес наружного эндометриоза составляет от 5 до 35%. Большинство авторов отмечают недостаточность комплексных клиничко-диагностических исследований для расширенной оценки тяжести этого заболевания, прогнозирования его течения, выбора рациональной тактики ведения и лечения больных [1,2]. В связи с этим несомненную актуальность и информативность приобретают методы, позволяющие интегрально оценить состояние клеточных и метаболических процессов в сыворотке крови [2].

Целью нашего исследования явилось изучение у больных наружным эндометриозом показателей антиоксидантной защиты - отношение концентраций активных форм ферментов церулоплазмينا (ЦП) и трансферрина(ТФ) и NO-связывающей способности SH- групп белков крови.

Материалы и методы. Нами было обследовано 60 пациенток: из них 30 женщин с гистологически верифицированным диагнозом наружного эндометриоза, 20 женщин – родственницы I степени родства больных наружным эндометриозом и 10 практически здоровых женщин (контрольная группа). Показатели антиоксидантной защиты: соотношение церулоплазмينا к трансферрину, отношение концентраций активных форм - NO-связывающая способность крови – определялись методом ЭПР-спектроскопии плазмы крови в относительных единицах. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Statistica-6.

Сравнение выборок проводилось по U-критерию Манна-Уитни и T-критерию Вилкоксона.

Результаты и обсуждение.

Самый высокий показатель соотношения железосвязывающих белков ЦП и ТФ выявлен в группе больных эндометриозом (2,58), самый низкий (1,1) - в контрольной группе. В группе родственниц показатель соотношения железосвязывающих белков ЦП и ТФ приближен к норме и составляет 1,26. Различия между группами статистически значимы ($p < 0,001$). Средний показатель NO-связывающей способности крови у больных наружным эндометриозом составил 17,5, в контрольной группе он составил 29,21. Различия являются статистически достоверными ($U=0$, $Z=3,67$ для $p < 0,001$). При сравнении данного показателя по группе больных эндометриозом и группе родственниц также выявлены статистически значимые различия. Средний показатель NO-связывающей способности крови у родственниц составил 28,37, что значительно выше, чем в группе больных - 17,50 ($T=0$, $Z=2,80$ для $p < 0,01$). Отношение концентраций ЦП и ТФ и NO-связывающая способность крови являются показателями антиоксидантной системы защиты организма. Их изменения у пациенток, страдающих наружным эндометриозом, свидетельствует о нарушении баланса в системе оксидант\антиоксидант в сторону преобладания оксидантов, и, соответственно, о развитии окислительного стресса у данной группы больных.

Литература:

1. Адамян Л.В., Кулаков И.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы: Руководство для врачей. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2006. – 416с.: ил.

2. Баранов А.Н. Акушерство и гинекология. 1992; 2: 64-67.

Окислительная модификация липопротеинов низкой плотности у мужчин с верифицированным коронаросклерозом в Якутии¹

Романова Анна Николаевна²

заведующая лабораторией клинико-популяционных исследований, к.м.н.

*Якутский научный центр Сибирского отделения Российской академии медицинских наук,
Якутск, Россия*

E-mail: ranik@mail.ru

Одно из лидирующих мест в патогенезе атеросклероза занимает теория ключевой роли окисленных липопротеинов низкой плотности. Окислительная модификация липопротеинов низкой плотности способствует усилению их поглощения через скэвинджер-рецепторы макрофагов и трансформации последних в пенные клетки. Одним из показателей предрасположенности липопротеинов низкой плотности к окислительной модификации является их резистентность к окислению, снижение которой является, по данным некоторых авторов, дополнительным фактором риска атеросклероза.

Нами изучена особенность резистентности липопротеинов низкой плотности к окислению у мужчин с верифицированным коронаросклерозом и в контрольной группе, представителей коренной и некоренной национальности Якутии.

По результатам исследования выявлены значительные различия в состоянии прооксидантного потенциала липопротеинов низкой плотности. У больных с верифицированным коронаросклерозом выявлено значительное снижение резистентности липопротеинов низкой плотности к окислению в сравнении с лицами без ишемической болезни сердца. Эти различия отражают значительную предрасположенность липопротеинов низкой плотности к окислению при коронарном атеросклерозе, их способность подвергаться окислительной модификации в субэндотелии сосудов и, тем самым, приобретать атерогенный потенциал. По некоторым данным, липопротеины

низкой плотности, выделенные из крови больных с коронарным атеросклерозом, часто более чувствительны к окислению, чем липопротеины низкой плотности практически здоровых людей.

Литература:

1. Воевода М.И., Рагино Ю.И., Семаева Е.В. и соавт. (2003) Липидный спектр крови и резистентность к окислению липопротеинов сыворотки крови у больных коронарным атеросклерозом в Западной Сибири // Бюллетень СО РАМН, № 2, с. 46-51.
 2. Воевода М.И., Семаева Е.В., Рагино Ю.И. и соавт. (2005) Липидные и липопротеиновые нарушения при коронарном атеросклерозе. Сравнение с популяционными данными // Российский кардиологический журнал, № 4, с. 58-62.
 3. Никитин Ю.П. (1998) Резистентность к окислению субфракций липопротеинов низкой плотности у больных ишемической болезнью сердца // Кардиология, № 10, с. 48-52.
 4. Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H. et al. (1992) The role lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL // Free Radic. Biol. Med, 1992. Vol. 13, p. 341-390.
 5. Regnstrom J., Nilsson J., Tornvall P. et al. (1992) Susceptibility low - density lipoprotein to oxidation and coronary atherosclerosis in man // Lancet, Vol. 339, p. 1183-1186.
- Steinberg, D. (2002) Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime // Nat. Med., Vol. 8., p. 1211-1218.

Связь перекисного окисления липидов с микробицидной активностью нейтрофилов.

Рябцева Татьяна Владимировна

аспирант

Международный Государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова Минск, Беларусь

E-mail: ta-yana@mail.ru

Фагоцитоз является наиболее древним защитным процессом, осуществляемым специализированными клетками иммунной системы. Одним из проявлений функциональной готовности клеток к фагоцитозу является состояние их обмена веществ, получившее название «дыхательного взрыва». Дыхательный взрыв характеризуется резким усилением сопряженных биохимических превращений, связанных с вовлечением кислорода и его химически реактивных производных (O_2 , $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH) в разнообразные защитные и повреждающие реакции организма [1]. Таким образом, на сегодняшний день известно, что в процессе фагоцитоза происходит генерация активных форм кислорода. А также, что активные формы кислорода могут инициировать ПОЛ [2]. Таким образом, целью данной работы явилось изучение роли перекисного окисления липидов в процессе фагоцитарного киллинга микроорганизмов. Для достижения цели были решены следующие задачи: изучены изменения показателей фагоцитоза в процессе фагоцитарного киллинга; изучены изменения концентрации продуктов ПОЛ в надосадочной жидкости в процессе фагоцитарного киллинга; изучена микробицидная активность нейтрофилов в динамике; проведена оценка зависимости между микробицидной активностью нейтрофилов и активностью перекисного окисления липидов.

Постановка реакции фагоцитоза проводилась по стандартной методике. Нейтрофилы выделялись из гепаринизированной крови на градиенте плотности [6]. В качестве объекта фагоцитоза использовали *St. Aureus*. Для изучения динамики процесса пробы инкубировались различные промежутки времени: 0, 15, 30, 60, 90 и 120 минут. Микробицидная активность определялась по методике описанной [4]. Определение продуктов ПОЛ проводилось по стандартной методике с тиобарбитуровой кислотой [5].

В данной работе было обнаружено следующее. В течение первых 60 минут фагоцитарного процесса происходит постепенное увеличение показателей фагоцитарной активности, что подтверждается данными, полученными при микроскопировании мазков и подсчёте фагоцитарного показателя и фагоцитарного числа. Предположение об активации процессов ПОЛ подтверждается накоплением продуктов перекисного окисления липидов. Максимальный уровень ТБК-АП наблюдался на 60-й и 90-й минутах инкубации. Именно в данный момент времени происходит массивное разрушение фагоцитов и усиление реакций ПОЛ в плазме крови. В дальнейшем, на 120-й минуте фагоцитарного процесса в надосадочной жидкости уровень ТБК-АП уменьшается. Изучение динамики киллинговой активности нейтрофилов показало, что в первые 60 минут фагоцитарного процесса фагоцитированные микроорганизмы сохраняют способность к делению и росту. В то время как на 90-й минуте около 37,61±2,68% микроорганизмов было разрушено. На 120-й минуте фагоцитоза наблюдался 97,21±1,90% киллинг микроорганизмов.

Таким образом, данные нашей работы показали, что в процессе фагоцитоза происходит активация ПОЛ. Активация ПОЛ и апоптоз фагоцитов приводит к разрушению микроорганизмов. Мы предполагаем, что киллинг бактерий осуществляется не столько внутри фагоцитов, сколько вне их, после разрушения и локального развития реакций перекисного окисления липидов в плазме крови.

Литература:

- 1.Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге // Новосибирск. 1989.
- 2.Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах //Соросовский образовательный журнал.—2000.—Т.6—№12—с. 13-19.
- 3.Zhang R., Brennan M., Shen Z., Hazen S. Myeloperoxidase Functions as a Major Enzymatic Catalyst for Initiation of Lipid Peroxidation at Sites of Inflammation // J. Biological Chemistry- 2002—Vol. 277— № 48 —p.46116-46122.
- 4.Eva Decleva, Renzo Menegazzi Common methodology is inadequate for studies on the microbicidal activity of neutrophils // J. Of leukocyte biology, V.79, January 2006, p.87-96
- 5.Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. Дело –1985 - №5.
- 6.Фримель Г. Иммунологические методы // М.- «Медицина», 1987, 468 с.

Изучение влияния гипогликемии на развитие неврологических и интеллектуальных нарушений у детей

Салахова Наталья Георгиевна

аспирант

*Медицинский институт Якутского Государственного университета им. М.К.Аммосова,
Якутск, Россия*

E-mail: sanageor@mail.ru

Гипогликемия у новорожденных представляет собой актуальную проблему современной неонатологии, так как является одной из самых частых причин смерти новорожденных и тяжелых нарушений ЦНС у детей. Это неотложное состояние, требующее своевременной диагностики и активного лечения.

Несмотря на то, что изучение гипогликемии проводилось неоднократно, до сих пор нет единого мнения о степени повреждающего действия гипогликемии на мозг ребенка, а внесение в диагноз данных о том, что ребенок перенес гипогликемию, до сих пор не проводится.

Учитывая тот факт, что глюкоза является основным веществом, обеспечивающим энергетические потребности мозга, оценка вероятности появления

отдаленных психоневрологических расстройств у детей, перенесших гипогликемию в неонатальном периоде, их выраженность и стойкость представляется актуальной.

Целью работы было изучение влияния неонатальных гипогликемий на состояние здоровья и развитие детей раннего возраста.

Проведенное исследование показало, что выраженность гипогликемии в периоде новорожденности достоверно коррелирует с дефектами психомоторного развития в возрасте 2-3 лет, а частота органического поражения нервной системы находится в прямой зависимости от выраженности, стойкости и наличия клинических проявлений гипогликемии в периоде новорожденности.

В результате работы выяснилось, что более чем 60% детей, даже с бессимптомным течением гипогликемии в периоде новорожденности, при снижении уровня сахара в крови ниже 1 ммоль/л, в последующем имели такие неврологические нарушения как: эпилептические припадки, задержка психомоторного и речевого развития, синдром дефицита внимания, редко - ДЦП. При этом быстрая коррекция гипогликемии в 30% случаев усугубила течение гипогликемии.

Чрезвычайно актуальным является проведение контроля гликемии у новорожденных в первые дни жизни, что исключит запоздалое лечение гипогликемии и развитие связанных с ней осложнений. Это приведет к значительной экономии материальных и людских ресурсов, направленных на лечение осложнений гипогликемии.

Литература:

1. Барашнев Ю. И. Перинатальная неврология. - М.: Триада-Х, 2001. - 640 с.
2. Гомелла Г. Л., Каннигам М. Д. Неонатология. - М.: Медицина, 1995. - 640 с.
3. Кобозева Н. В., Гуркин Ю. А. Перинатальная эндокринология: Руководство для врачей. - Л., Медицина, 1986. - 312 с.
4. Прокопцева Н. А. Патология недоношенных детей: учебное пособие/ Феникс, Красноярск, Издательские проекты, 2007. - 128 с.
5. Шабалов Н. П. Неонатология: Учебное пособие: В 2 т./ Н. П. Шабалов, - Т1. - 4е изд., испр и доп. - М.: МЕДпресс-информ, 2006. - 608 с., илл.
6. Шабалов Н. П., Цвелева Ю. В. Основы перинатологии. - М.: Мединпресс-информ, 2002. - 576 с.

Особенности количественных показателей лимфоцитов при развитии атопической астмы *in vivo* и *in vitro*

Сафина Алия Фаритовна, Губайдуллина Лилия Рустемовна, Рамос-Эрнандес Мануэль, Нсангу Могу Мамап Дезире

студенты 3 курса, аспирант – выпускник кафедры биохимии

Казанский государственный университет им. В. И. Ульянова-Ленина, Казань, Россия

E-mail: aliya87@bk.ru

T-клеточный апоптоз представляет собой ключевое патогенетическое событие, ведущее к потере эпителиальных клеток при астме. Однако, данные о наличии апоптотических клеток в периферической крови при атопических и аллергических заболеваниях противоречивы. Поэтому мы изучили показатели общего анализа крови у доноров и больных с атопической бронхиальной астмой (АБА) с разной степенью тяжести, изменение количества лимфоцитов и их морфологию при спонтанном и Дн-индуцированном (10^{-4} М) апоптозе.

Установлено, что общее количество лейкоцитов у больных снижено, снижение связано с уменьшением количества Лф ($Me_{лег.} = 2005$; $Me_{сред.} = 1855$; $Me_{тяж.} = 1610$), т.о. установлена обратная корреляционная зависимость между уровнем Лф и тяжестью астмы ($r = -0,3$, $p = 0,04$). Морфология Лф также претерпела существенные изменения: структура Лф больных средне-тяжелой формой АБА выражено отличается как от здоровых клеток,

так и клеток больных легкой формой АБА. Обнаруживаются довольно глубокие вдавливания ядерных мембран, вплоть до фрагментации ядер. На клеточной мембране появляются выпячивания и пузыри-«блеббинги». Развитие блеббинга мембраны представляет собой результат нарушения мембран-цитоскелетных взаимодействий вследствие активации специфических ферментативных реакций, окислительного повреждения белков цитоскелета, развития примембранного энергетического и ионного дисбаланса, но целостность мембран не нарушается.

Заслуживает внимание явление Лф-ассоциированного апоптоза, наблюдаемого при взаимодействии Т-клеток и больших гранулосодержащих Лф с клетками-мишенями. Например, в опухолях, где апоптотическая способность перерожденных клеток снижается, Лф оказывают преимущественно пролиферативный эффект, т.е. стимулируется рост клеток опухоли. Мы изучили изменение количества клеток в культуре Лф в процессе культивирования. Уровень апоптотических клеток, обнаруживаемых в гиподиплоидной зоне гистограмм, сравнивали с количеством клеток в культуре Лф здоровых и легкой, средней и тяжелой степеней астмы на 3 и 6 сут культивирования. И установили, что при спонтанном апоптозе количество Лф на 3 сут увеличивается в культуре здоровых клеток на 45% , а при культивировании Лф легкой и средней тяжести на (58 и 70) %, соответственно. На 6 сут в контроле количество Лф снижалось (т.е. гибло в результате апоптоза) в 3 раза по отношению к 3 сут, а при легкой и средней тяжести астмы ~ в (1,6-1,7) раза (т.е. по-видимому, клетки продолжают жить и проявляется пролиферативный эффект, на фоне торможения апоптоза при астме). При индуцированном апоптозе в контроле количество клеток на 3 сут увеличилось только на 5 %, а погибло по сравнению с 3 сут более 70% клеток. В культуре Лф легкой и средней степеней тяжести количество клеток увеличилось только на (33-20) %,соответственно, а снизилось на (47-42) %, что свидетельствует об индукции апоптоза в культуре этих клеток. Обращает на себя внимание рост клеток в культуре Лф тяжелой степени астмы: без и с Дн - количество клеток на 3 сут увеличивается только на (15-10) %, т.е. клетки практически не растут, а при внесении Дн их уровень снижается в 4, 5 раза.

Таким образом, установлены особенности роста клеток, их морфологии и апоптоза в культуре Лф от больных с различной степенью тяжести АБА.

Калибromетрия сосудов сетчатки *in vivo*: возможности оценки риска сердечно-сосудистых осложнений

Семенова Наталья Сергеевна¹, Аюпян Владимир Сергеевич²

¹клинический ординатор; ²д.м.н., профессор

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, г. Москва, Россия

E-mail: nsemenova@tochka.ru

Состояние сосудов сетчатки (СС) традиционно оценивают при диагностике и мониторинге артериальной гипертензии (АГ) и других системных заболеваний. Однако известно, что классические признаки гипертонической ретинопатии зачастую появляются на поздних стадиях АГ. Вместе с тем, существуют более ранние изменения СС, идентификация которых средствами обычной офтальмоскопии невозможна. Проблему точной оценки состояния СС пытались решить созданием полуавтоматических методов измерения их диаметра и извитости, а также с помощью математического моделирования калибра сосудов. Современные имиджинговые технологии (цифровое фотографирование и лазерное сканирование глазного дна) открывают возможность для количественного анализа СС. В результате, возникают предпосылки к выделению категории пациентов с особенно высоким риском прогрессирования АГ и развития опасных для жизни сердечно-сосудистых осложнений (острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения).

Целью настоящего исследования является разработка методики и программного обеспечения оценки калибра СС. Задачи, подлежащие решению, включают: экспериментальный поиск адекватного режима получения изображения глазного дна; разработку автоматизированного программного модуля для оценки численных параметров СС; определение нормативных значений различных параметров СС; клиническую апробацию программы среди пациентов с различными заболеваниями сердечно-сосудистой системы и пациентов группы риска.

Методы: Создаваемая нами программа обрабатывает цифровое изображение глазного дна, полученное с помощью фундус-камеры (ФК). Алгоритм распознавания СС основывается на оценке градиента яркости в каждой точке изображения. Программа позволяет измерять диаметр, соотношение диаметра материнских и дочерних сосудов, отношение диаметра сосуда к его длине, углы бифуркации.

Результаты: В группе из 15 здоровых добровольцев (30 глаз) проводили фотографирование глазного дна на 6-ти различных моделях ФК с последующей программной обработкой. Анализ данных литературы, а также экспериментальная оценка различных режимов фотографирования показали, что особенно точное и наиболее воспроизводимое распознавание СС возможно при фотографировании в «бескрасном» режиме. Нам удалось сделать программный модуль полностью автоматизированным, совместимым с любыми операционными системами и основными ФК, представленными на отечественном рынке. Результаты измерения не зависели от модели ФК. В настоящее время программа находится на стадии тестирования программного модуля, создания интерфейса, исправления системных ошибок. В дальнейшем планируется создание нормативной базы данных параметров СС и клиническая апробация программы.

Морфологические характеристики тимуса крыс в условиях экспериментального геморрагического инсульта

Сергеева Светлана Павловна, Крапошин Матвей Викторович

клинический ординатор

Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

E-mail: svetlanapalna@mail.ru

Доказано, что при геморрагическом инсульте развиваются иммунные реакции, большинство которых носят физиологический характер, направленный на нормализацию гомеостаза и очищение организма от нейроспецифических белков, распознаваемых иммунной системой как чужеродные. В определенных условиях эти реакции приобретают патогенный, аутоагрессивный характер, что усугубляет и без того тяжелое течение геморрагического инсульта. Установлено, что устойчивость к эмоциональному стрессу является фактором, влияющим на течение заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Изучение тимуса 80 крыс-самцов Вистар показало, что через 24, 72 и 168 часов после операции по моделированию геморрагического инсульта крысы, предрасположенные к эмоциональному стрессу реагируют с более выраженными изменениями тимуса, чем устойчивые к стрессу. Плотность расположения клеточных элементов на единице площади мозгового вещества гистологического среза значительно уменьшается в динамике по сравнению с контрольными группами животных, тогда как коркового – увеличивается, причем не отмечено достоверных изменений в содержании соединительной ткани и тимических телец. Установлено, что на величину изменений как коркового, так и мозгового вещества достоверно влияет устойчивость к эмоциональному стрессу и время до выведения из эксперимента ($p < 0.05$). Отмечено значительное увеличение площади, занимаемой на срезе сосудами мозгового вещества. При изучении динамики изменений содержания клеточных элементов в мозговом, корковом веществе и подкапсулярной зоне выявлено достоверное снижение числа малых лимфоцитов наиболее выраженное в подкапсулярной зоне и корковом веществе через 72 часа у

предрасположенных к эмоциональному стрессу животных. Не прослеживается достоверно значимых изменений содержания бластов, больших лимфоцитов и клеток с картинами митоза, при этом в мозговом веществе устойчивых к эмоциональному стрессу крыс заметна динамика увеличения содержания деструктивно измененных клеток ($p < 0.05$). При изучении цитоконструкции установлено, что после экспериментального геморрагического инсульта происходит подавление лимфоцитопоеза, усиление процессов распада клеток и макрофагальной реакции, нарастает число плазматических и тучных клеток. Ярко выражена сосудистая реакция в виде периваскулярного отека, набухания эндотелия стенок сосудов.

Литература:

1. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит.- М.: «Джангар». 2000
2. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу.- М.: «Горизонт». 1998
3. Ziv Y., Finkelstein A. et al. A Novel Immune-Based Therapy for Stroke Induces Neuroprotection and Supports Neurogenesis. //Stroke.- 2007 - Feb; 38. – P.774 - 782.
4. Fisher M.J. Immunohematologic Mechanisms in stroke. //Brain ischemia. – London, Springer. – Verlag. – 1995. – P.97-103.
5. Chamorro A., Hallenbeck J. The Harms and Benefits of Inflammatory and Immune Responses in Vascular Disease. // Stroke.- 2006 - Feb; 37. – P.291 - 293.

Молекулярно-эпидемиологические маркеры устойчивости *Bacteroides*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus spp.* к противомикробным химиопрепаратам

Слизень Вероника Вячеславовна

старший преподаватель, кандидат медицинских наук

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

E-mail: veronal@tut.by

В последнее время все большее значение приобретает изучение молекулярных механизмов устойчивости к противомикробным химиопрепаратам, что позволяет эффективно решать проблему терапии и профилактики бактериальных инфекций.

Материалы и методы. Исследованы: 1) 40 клинических изолятов облигатно анаэробных микроорганизмов *Bacteroides spp.* на присутствие генов устойчивости к нитроимидазолам - *nim A, B, C, D, E* и к карбапенемам – *cfiA*; 2) 44 клинических изолята *Mycobacterium tuberculosis* (МВТ), резистентных к рифампицину и изониазиду, на присутствие мутаций в генах *groV* и *katG*; 3) 212 культур *Staphylococcus spp.* на присутствие детерминанты резистентности к β -лактамам антибиотикам – *mec A* гена в составе генетических каскадов SCCmec I-V типов, а также генов γ -гемолизина, лейкоцидина E, эксфолиативного токсина A, лейкоцидина Пантон-Валентина. Использованы методы ПЦР, ПЦР-ПДРФ анализа, секвенирования, биоинформатики.

Результаты. Широко используемые для терапии анаэробных инфекций препараты метронидазол и имипенем сохраняют высокую активность в отношении *Bacteroides spp.*, что подтверждается отсутствием фенотипически резистентных форм и носительства генов резистентности – *nim A, B, C, D, E* и *cfi A*. Адаптация к анаэробным условиям кишечника и неспособность к длительному выживанию во внешней среде являются факторами, ограничивающими селекцию и распространение резистентных штаммов неспорообразующих анаэробов.

Устойчивость к рифампицину у МВТ обусловлена полиморфизмом единичных нуклеотидов (ПЕН) в фрагменте размером 81 п.о. гена *groV*, кодирующем β субъединицу РНК-полимеразы. У 44 исследованных культур, резистентных к рифампицину, выявлена 91 мутация в *groV* гене, при этом 78,9% всех мутаций были локализованы в кодонах 510, 526, 523, 531 (47.7, 40.9, 38.6, 29.5 % соответственно). У этих штаммов мутационным

изменениям подвержен и ген *kat G*, что сопровождается устойчивостью к изониазиду. В *kat G* гене выявлены мутации в 309 (34%), 316 (37%), 315 (95%) кодонах. Несомненно, что эпидемическое распространение получают штаммы *M.tuberculosis* с точечными мутациями по всей длине генома, возникающими, вероятно, вследствие биологической особенности ДНК-полимеразы, что сопровождается генетической неоднородностью МВТ и селекцией адекватного условиям среды фенотипа.

Молекулярно-эпидемиологическим маркером устойчивости к метициллину у *Staphylococcus spp.* является подвижный генетический элемент - хромосомная кассета SCC *mec* размером 21 – 67 п.о., несущая в своем составе ген устойчивости к метициллину - *mecA*, гены *сsg AB*, кодирующие рекомбиназу. На долю устойчивых к β-лактамам антибиотикам *Staphylococcus spp.* (MRS) приходилось 33% штаммов, среди которых преобладали штаммы с III типом SCC *mec* (69% изолятов) и подтипом IIIa (бразильский клон). Первый, второй, четвертый, пятый тип SCC*mec* встречались реже, на их долю приходилось 10, 8, 8, 5% MRS. При этом генетическими детерминантами продукции γ-гемолизина и лейкоцидина E обладали 85% MRS, генами продукции эксфолиативного токсина A – 11,5%. Культуры с SCC *mec* V типа (5%) несли генетические детерминанты продукции лейкоцидина Пантон-Валентина. Неоднородность SCC *mec* является основой для селекции и распространения наиболее резистентных клонов *Staphylococcus spp.*

Наиболее адекватный условиям окружающей среды фенотип, возникающий в результате ПЕН или горизонтального переноса генов, со временем становится преобладающим в популяции, таким образом, происходит клональная экспансия «успешного» штамма, его гены и их аллели становятся доминирующими в популяции.

Полиморфизм гена *IL4* (3'-UTR 717G/C) у больных с atopической бронхиальной астмой в якутской популяции

Соловьева Наталья Алексеевна

младший научный сотрудник

Якутский научный центр СО РАМН, Якутия, Россия

E-mail: sonata608@yandex.ru

Атопическая бронхиальная астма (БА) – одно из наиболее распространенных и тяжелых мультифакториальных заболеваний (МФЗ). Раскрытие деталей этиологии и патогенеза БА привело исследователей к пониманию важной роли в этих процессах группы родственных молекул интерлейкинов (ИЛ), которые ответственны за индукцию и поддержание воспаления при данном заболевании. Целью данной работы явилось изучение ассоциации однонуклеотидного полиморфного маркера 3'-UTR 717G/C гена *IL4* с atopической бронхиальной астмой в якутской популяции.

Материалом для исследования служили образцы ДНК детей якутской национальности, больных atopической бронхиальной астмой (n=100), в возрасте от 6 до 14 лет (средний возраст – 10,5). По данным комплексного клинического обследования, количество детей с тяжелым течением заболевания составило – 10 человек, с течением средней и легкой тяжести 30 и 60 человек, соответственно. Контрольную группу составили неродственные между собой индивиды без признаков патологии бронхолегочной системы, сопоставимые с испытуемой группой по этнической принадлежности и возрасту (n=130).

Геномная ДНК была получена методом фенол-хлороформной экстракции. Продукты амплификации расщепляли рестриктазами *VneI*, *TagI* методом ПДРФ. Продукты расщепления идентифицировали в 2% агарозном геле методом электрофореза с визуализацией в УФ-свете системы гель документации («Vilber Lormat», Франция). Достоверность различий между группами по частотам генотипов и аллелей оценивали с помощью точного двухстороннего критерия Фишера.

По результатам проведенного анализа генотипы GG; GC; CC по полиморфному маркеру гена *IL4* 3'-UTR 717G/C в выборке якутов распределились следующим образом, в контрольной группе 35.38; 59.23; 5.38% ($\chi^2=11,33$; $p=0,65$;) в группе больных 32; 58 и 10% ($\chi^2=4,45$; $p=0,61$). При анализе частот аллеля С было отмечено, что в группе здоровых данный аллель встречается в 35%, а группе больных в 39% ($\chi^2=0,616$; $p=0,433$). При проведении анализа распределения генотипов по степеням тяжести заболевания отмечалось следующее, в группе больных с тяжелой формой БА генотип *IL4**CC у всех пациентов ($p<0,001$), в группе больных со средней степенью тяжести во всех случаях встречается генотип *IL4**GC ($p<0,001$), у больных с легкой формой БА в 28 случаях встречался генотип *IL4** GC и 32 случаях генотип *IL4**GG ($p=0,007$). Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что наличие генотипа CC по полиморфному маркеру 3'-UTR 717G/C гена *IL4* в выборке якутов предрасполагает к тяжелому течению atopической бронхиальной астмы.

Литература:

1. Казначеев В.К., Гервазиев Ю.В., «Роль полиморфизма генов цитокинов и их рецепторов в развитии atopической бронхиальной астмы» Астма 5(1): 73-84, 2004.
2. Chung K.F., Barnes P.J., Cytokines in asthma//Thorax.1999.V.54.P.825-857

Поверхностный плазмонный резонанс в изучении средства фосфолипидов к цитохрому с

Степанов Герман Олегович

¹**Гнеденко Оксана Владимировна, ¹Мольнар Андрей Анатольевич,**

¹**Иванов Алексей Сергеевич, Владимиров Юрий Андреевич,**

Осипов Анатолий Николаевич

аспирант

ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет, Москва, Россия

¹Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва, Россия

E-mail: stepg@yandex.ru

Поверхностный плазмонный резонанс (ППР)- на сегодняшний день - один из наиболее чувствительных и объективных методов исследования сродства между молекулами. В нашей работе методом ППР были измерены константы ассоциации (K_a) комплексов цитохрома с (CytC) с анионными фосфолипидами: кардиолипином (CL), фосфатидной кислотой (PA), фосфатидилсеринем (PS) и фосфатидилхолином (PC), имеющими в своем составе насыщенные – дистеароил (DS) и ненасыщенные – диолеоил (DO) остатки жирных кислот. Хорошо известно, что анионные фосфолипиды образуют прочный комплекс с CytC, что приводит к появлению у него пероксидазной активности. В связи с этим задачей данного исследования было измерение K_a комплекса цитохром с-фосфолипид и сравнение ее с пероксидазной активностью комплекса и величиной флуоресценции Trp-59, отражающей деформацию активного центра. Настоящее исследование позволило нам установить корреляцию между свойствами фосфолипида и величиной пероксидазной активности комплекса, которая особенно важна для понимания механизмов развития апоптоза.

K_a для следующих фосфолипидов, образующих комплекс с CytC имели следующие значения:

K_a (CytC-DSPS)= 6.31E+3; K_a (CytC-DOPS)= 5.63E+3;

K_a (CytC-DSPA)= 2.16E+3; K_a (CytC-DOPA)= 2.22E+3;

K_a (CytC-TMCL)= 2.15E+4; K_a (CytC-TOCL)= 9.78E+3

Нами обнаружено, что пероксидазная активность комплекса и флуоресценция Trp-59 увеличивается в ряду фосфолипидов PC→PS→CL→PA. В то же время, увеличение константы ассоциации фосфолипидов с CytC представляет следующую последовательность PC→PA→PS→CL.

Можно заключить, что насыщенные фосфолипиды незначительно влияли на пероксидазную активность цитохрома *c*, в то время как *Ka* практически не зависела от насыщенности фосфолипидов.

Литература:

1. Osipov AN, Stepanov GO, Vladimirov YA, Kozlov AV, Kagan VE. Regulation of cytochrome C peroxidase activity by nitric oxide and laser irradiation. *Biochemistry (Mosc)*. 2006 Oct;71(10):1128-32. PMID: 17125462

2. Kagan VE, Tyurin VA, Jiang J, Tyurina YY, Ritov VB, Amoscato AA, Osipov AN, Belikova NA, Kapralov AA, Kini V, Vlasova II, Zhao Q, Zou M, Di P, Svistunenko DA, Kurnikov IV, Borisenko GG. Cytochrome *c* acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors. *Nat Chem Biol*. 2005 Sep;1(4):223-32. Epub 2005 Aug 14. PMID: 16408039

3. Salamon Z, Tollin G. Surface plasmon resonance studies of complex formation between cytochrome *c* and bovine cytochrome *c* oxidase incorporated into a supported planar lipid bilayer. I. Binding of cytochrome *c* to cardiolipin/phosphatidylcholine membranes in the absence of oxidase. *Biophys J*. 1996 Aug;71(2):848-57. PMID: 884222

**Иммуноморфологические маркеры в диагностике
рака большого сосочка двенадцатиперстной кишки**
Тверской Алексей Владимирович, Паричук Александр Сергеевич
старший преподаватель, к.м.н. сотрудник
Белгородский государственный университет, Белгород, Россия
E-mail: vari@mail.ru

Развитие эндоскопической диагностики заболеваний внепеченочных желчных путей приводит к увеличению частоты выявления опухолеподобных изменений и опухолей большого сосочка двенадцатиперстной кишки (БСДК). Однако морфологическая дифференциальная диагностика по небольшому объему биопсийного материала остается сложной, а точность ее при минимальной инвазивности взятия материала находится на уровне 60% (Menzel, 1999). Связано это и со сложностью гистогенеза эпителиальных структур БСДК (Должиков, 2002).

Нами проведен анализ морфологических и иммунофенотипических критериев дифференциальной диагностики диспластических изменений большого сосочка двенадцатиперстной кишки и его аденокарцином. Исследован материал эндоскопических биопсий и операционный материал, полученный при панкреатодуоденальных резекциях. Всего исследовано 60 случаев. Используются общегистологические и иммуногистохимические методы (определение экспрессии цитокератинов 7, 8, 14, 20, хромогранина А, синаптофизина, виментина, раково-эмбрионального антигена, альфа-фетопротеина, p53, маркера пролиферации Ki67) с компьютерным анализом изображений (WCIF ImageJ, USA).

В результате исследования установлено, что диагностической информативностью обладают экспрессия раково-эмбрионального антигена, уровень пролиферативной активности по количеству Ki67-позитивных клеток и выраженность апоптоза по реакции на p53. Однако ее степень зависит от гистологического варианта дифференцировки трансформированного эпителия сосочка. Для дуктальной дифференцировки характерна коэкспрессия цитокератинов 7, 8 и 20 типов. Равномерная выраженная реакция на раково-эмбриональный антиген в сочетании с индексом пролиферации более 30% (по числу Ki67-позитивных клеток) в большой степени свидетельствует о наличии высокодифференцированной аденокарциномы. При кишечной дифференцировке (экспрессия только цитокератина 20 и большое содержанием хромогранин-позитивных эндокриноцитов) уровень экспрессии раково-эмбрионального антигена менее

информативен, а большее значение имеет сочетание стандартных гистологических признаков малигнизации с высоким уровнем экспрессии Ki67 и p53. Полученные данные позволили существенно модифицировать подход к морфологической диагностике по эндоскопическим биопсиям БСДК и внедрены в повседневную практику.

Литература:

1. Должиков А.А., Мясников А.Д., Едемский А.И. (2007) Клиническая и сравнительная морфология большого сосочка двенадцатиперстной кишки. Белгород, 2002.

2. Menzel J., Poremba C., Dietl K.-H. et al. (1999) Tumors of the papilla of Vater – inadequate diagnostic impact of endoscopic forcept biopsies taken prior to and following sphincterotomy // *Annals of Oncology*. Vol. 10.

3. Santini D., Tonini G., Vecchio F.M. et al. (2005) Prognostic value of Bax, Bcl-2, p53, and TUNEL staining in patients with radically resected ampullary carcinoma // *J. clin. pathol.* Vol. 58, № 2.

Сравнительная оценка результатов аортокоронарного шунтирования и стентирования при лечении ишемической болезни сердца

Титова Татьяна Сергеевна, Титова Людмила Сергеевна

студент

ГОУ ВПО Белгородский государственный университет, Белгород, Россия

E-mail: sergey@strlan.ru

Цель: Изучение результатов эндоваскулярного и хирургического методов лечения и сравнительный анализ их эффективности в лечении ишемической болезни сердца (ИБС).

Материалы и методы. В исследование были включены 106 больных ИБС. Средний возраст составил $56,3 \pm 5,6$ года. В зависимости от вида вмешательства пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа – 52 больных ИБС со стенокардией напряжения (СН) II- IV функционального класса (ФК), которым было проведено аортокоронарное шунтирование в условиях искусственного кровообращения (ИК). 2-я группа - 54 больных ИБС со стенокардией II- IV ФК, которым проводилась коронарное стентирование (КС).

Все пациенты получали стандартную анти тромботическую терапию. На 3-е сутки после лечебного вмешательства (КШ, стентирование) больным, проводились контрольное эхокардиографическое исследование и велоэргометрическая проба.

Статистическую обработку клинического материала осуществляли с помощью стандартных статистических программ.

Результаты исследования. В качестве критериев сравнения групп в ближайшем послеоперационном периоде рассматривали: летальность, возникновение инфаркта миокарда, нарушение ритма сердца, наличие или отсутствие стенокардии, динамику ФВ левого желудочка.

Со стабильной стенокардией напряжения II-III ФК в 1-й группе было 40 (77%) пациентов, во 2-й группе – 34 (63%). Пациенты с признаками сердечной недостаточности II-III ФК (NYHA) составляли 81,3 % и 69,4% соответственно ($p > 0,05$). Из сопутствующих заболеваний наиболее часто встречалась артериальная гипертония: в 1-й группе – у 24 (46,2%) и во 2-й группе – у 20 (37%) больного. Инфаркт миокарда в анамнезе в 1- группе имели 26 (50%), во 2-й группе – 32 (59,2%) больных ($p > 0,05$). Во всех группах было одинаковое соотношение курящих и некурящих. Ожирением страдали в первой группе- 28 (53,8%) , во второй- 24 (44,4%).

ФВ левого желудочка до хирургического лечения в 1-й группе составляла $52,6 \pm 11,2\%$, во 2-й группе – $53,7 \pm 12,3\%$ ($p > 0,05$). Ангиографические характеристики групп пациентов были сходными.

Мерцательная аритмия возникла у 1 (1,9%) пациентов при проведении КШ и у 5 (9,3%) больных, после КС. Фибрилляция желудочков осложнила проведение КС у 2 больных. Все нарушения ритма были купированы в течение 1 суток.

У всех больных после реваскуляризации было достигнуто значительное клиническое улучшение, что выражалось в уменьшении ФК стенокардии. Сохранение стенокардии в госпитальном периоде в 1-й группе было отмечено у 1 (1,9%) больной и во 2-й группе у 3 (5,6%) больного. После проведения КС у 2 пациентов развился острый инфаркт миокарда. После хирургического лечения у пациентов всех групп наблюдалось улучшение сократительной функции миокарда. ФВ левого желудочка после операции в 1-й группе составила $62,4 \pm 8,6\%$ и во второй группе – $54,3 \pm 13,6\%$ ($p > 0,05$).

Выводы: 1. Эндovasкулярные и хирургические методы лечения ишемической болезни сердца прочно вошли в арсенал методов лечения ИБС 2. Операция аортокоронарного шунтирования более предпочтительна, в связи с минимальным риском послеоперационных осложнений и летальности.

Вейвлет-анализ в обработке медико-биологических сигналов: опыт применения

Туровский Ярослав Александрович

Доцент, заведующий лабораторией, к.м.н.

ГОУ ВПО Воронежский государственный университет, факультет компьютерных наук,

Воронеж, Россия

E-mail: yaroslav_turovsk@mail.ru

За период с 1998 года в ходе совместной работы сотрудников Воронежского государственного университета и Воронежской государственной медицинской академии было разработано несколько вариантов алгоритмов обработки ЭЭГ, ЭКГ (в т.ч. и высокого разрешения), ЭОГ, ЭМГ, вариабельности сердечного ритма (ВСР), лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), эпидемических показателей и т.д. В качестве объектов с которых регистрировались сигналы были использованы: плоды человека в гестационном возрасте 34-40 недель как в норме, так и при хронической внутриутробной гипоксии и фетоплацентарной недостаточности (120 наблюдений, исследовалась вариабельность сердечного ритма регистрируемая методом кардиографии), новорожденные (105 наблюдений, родоразрешение через естественные родовые пути и кесаревым сечением, регистрация RR-интервалограмм и ЛДФ), дети различных возрастных групп (160 наблюдений, регистрация RR-интервалограмм как в норме, так и при ВСД, ИЗСД), взрослые в возрасте до 55 лет (290 наблюдений из них 210 – студенты, как условно здоровые, так и с ИБС, аритмиями различного происхождения, геморрагическими инсультами, исследовались ВСР, ЛДФ, ЭМГ, ЭЭГ, ЭОГ), отдельную группу составляли беременные (60 наблюдений, как с нормальным протеканием беременности так и с гестозом II половины беременности). Анализировались эпидемические показатели по заболеваемости рядом инфекций верхних дыхательных путей, микрофлоре кишечника при полостных операциях, динамика обращений больных за медицинской помощью. Было показано, что предложенные алгоритмы являются универсальными для обработки сигналов и могут быть использованы практически без ограничений области применения. За основу взята матрица коэффициентов непрерывного вейвлет-преобразования которая в дальнейшем может быть обработана разными путями, которые делятся на несколько групп алгоритмов.

Алгоритмы построения локальных спектров позволяет рассчитывать значения вейвлетной плотности мощности от времени. В результате получают кривые, отражающие изменения выраженности вклада различных частотных диапазонов в общую картину сигнала. Благодаря подобному подходу описана динамика ряда процессов состоящая из относительно стабильных, стационарных участков и областей, где система значительно меняет свои свойства. Дальнейшая интерпретация результатов

осуществляется исходя из представлений о роли тех или иных физиологически систем в регуляции исследуемого процесса.

Алгоритмы анализа взаимовлияния различных механизмов регуляции позволяет, на основе выявленных с помощью алгоритма построения локальных спектров нестационарных процессов, описать ход синхронизации между разночастотными диапазонами, что отражает процессы взаимодействия регуляторных механизмов.

Алгоритмы динамической оценки активности в разночастотных диапазонах. В отличие от алгоритмов первой группы в при данном подходе частотные диапазоны считаются исходя из индивидуальной свойств сигнала на основе распределения частотных максимумов и минимумов в вейвлет-спектре. Подобный подход позволяет более детально отразить индивидуальные особенности процесса.

Предложенные алгоритмы показали свою высокую прогностическую и диагностическую информативность как применительно к здоровому организму, так и применительно к патологическим процессам различной этиологии.

Использование минимально инвазивных технологий в диагностике и лечении механической желтухи опухолевого генеза

Уракова Надежда Александровна

студент

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: urakova_n@mail.ru

Вопрос о диагностических алгоритмах и методах лечения механической желтухи опухолевого генеза остаётся открытым. Целью данной работы является оптимизация тактики использования минимально инвазивных технологий для улучшения результатов диагностики и лечения пациентов с данной патологией.

В исследование было включено 2 группы пациентов. Первая группа: 155 больных в возрасте от 42 до 92 лет с механической желтухой на фоне развития опухолей гепатопанкреатодуоденальной области (ГПДО). Вторая группа: 23 пациента с доброкачественной желтухой (вследствие холедохолитиаза, стриктур жёлчных путей) в возрасте от 46 до 87 лет.

Пациенты с признаками синдрома желтухи были доставлены бригадами скорой медицинской помощи в приёмное отделение ГКБ № 68. Всем пациентам выполняли диагностическое скрининговое ультразвуковое исследование (УЗИ), при необходимости исследование повторяли на следующий день после дополнительной подготовки пациента и в динамике. 32 пациентам провели эндоскопическую ретроградную холангиопанкреатографию (ЭРХПГ). Всем пациентам была выполнена чрескожная чреспечёночная холангиография (ЧЧХГ).

Всем пациентам производили антеградную декомпрессию жёлчных протоков (среди пациентов с желтухой опухолевого генеза наружное желчеотведение было выполнено 80 больным, наружно-внутреннее — 15, наружное с переходом на наружно-внутреннее — 10, эндопротезирование желчных протоков — 50).

Наиболее эффективно для диагностики механической желтухи опухолевого генеза сочетание ультразвукового исследования и чрескожной чреспечёночной холангиографии, эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография в этом случае является менее чувствительным методом.

После наружного, наружно-внутреннего, наружного с последующим переходом на наружно-внутреннее и внутреннего желчеотведения у пациентов с желтухой опухолевого генеза отмечено значительное снижение уровня билирубина и печёночных ферментов, увеличение скорости оседания эритроцитов, лейкоцитоза. При внутреннем желчеотведении снижение уровня билирубина и печёночных ферментов более выраженное.

Использование нитиноловых саморасширяющихся стентов для эндопротезирования жёлчных протоков более предпочтительно по сравнению с пластиковыми. Непосредственная эффективность эндопротезирования различными видами стентов, оцениваемая по динамике лабораторных показателей и 30-дневной летальности, сопоставима, однако выявлены отличия в спектре послеоперационных осложнений.

Таким образом, рациональное использование минимально инвазивных технологий позволяет с высокой степенью точности установить причину механической желтухи, уровень и протяжённость билиарного блока, выполнить адекватное дренирование жёлчных протоков.

Сравнительный анализ методов определения общей антиоксидантной активности пищевых напитков из растительного сырья

Ченина Евгения Юрьевна, Титович Татьяна Викторовна

Студенты

Волгоградский государственный медицинский университет, медико-биологический факультет, город Волгоград, Россия

E-mail: biochimia2008@yandex.ru

К настоящему времени не вызывает сомнений участие свободно-радикальных процессов в патогенезе ряда распространенных заболеваний и патологических состояний (катаракта, токсические гемолитические анемии, атеросклероз и т.п.). Проведенный нами мета-анализ опубликованных результатов рандомизированных клинических исследований применения антиоксидантов (АО) при ряде заболеваний дает противоречивые данные. В то же время, анализ данных эпидемиологических и популяционных исследований убедительно показал, что диета, обогащенная растениями, которые содержат АО, благоприятно влияет на здоровье населения. Очевидно, что диетологические рекомендации по введению в питание растительных источников АО должны основываться на оценке содержания этих соединений.

Целью работы было выявить наиболее универсальный метод оценки антиоксидантной активности (АОА) в пищевых напитках, приготовленных из растительного сырья.

По литературным данным пищевые растения содержат большое разнообразие веществ с антиоксидантными свойствами, что делает определение индивидуальных АО слишком трудоемким и малопродуктивным. В этом случае предпочтительным является определение общей (суммарной) АОА.

Методы определения общей АОА могут быть основаны на двух механизмах действия АО - на переносе атомов водорода и на реакции одноэлектронного переноса. Кроме того, некоторые методы являются комбинированными, объединяя оба вида реакций. Проведенный анализ метрологических характеристик, чувствительности и специфичности различных методов определения АОА позволил отобрать несколько методов, перспективных для скрининга содержащих АО растений, для углубленного исследования. Мы протестировали три метода определения АОА, основанных на различных механизмах - тест на обесцвечивание катион-радикала ABTS[®] (одноэлектронный перенос), тест на восстановление фосфорномолибденовой кислоты (обмен атомом водорода) и кинетический ABTS[®] - тест (комбинированный). Перечисленные методы были апробированы на растворах индивидуальных химических соединениях и на различных пищевых напитках, приготовленных из растительного сырья (зеленый и черный чай, кофе, напитки мате и каркаде). Полученные нами данные показали, что наиболее универсальным является комбинированный метод определения АОА, основанный на гем-зависимом окислении ABTS[®]. Этот метод позволяет оценить АОА более широкого спектра АО разнообразной химической природы и различных

механизмов действия. Два другие метода продемонстрировали большую избирательность по отношению к определенным АО и потому могут давать заниженные результаты при определении АОА пищевых напитков.

Таким образом, проведенные нами исследования показали перспективность использования пищевых растений в качестве источника АО для профилактики окислительного стресса у человека и обосновать использование кинетического АВТС® - теста в качестве предпочтительного скринингового метода оценки АОА напитков, приготовленных из пищевых растений.

Quantitative analysis of temporal neuronal relationships in dorso-medial medulla of rats under pain influence

Koslova Maria Vladimirovna, Prudnikau Heorhi Alexandrovich

Student, Assistant

Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

E-mail: pruge@narod.ru

The nuclei of solitary tract are an important site for integration of nociceptive and homeostatic cardio-vascular information [1]. Disturbance in such integration, probably, can be a crucial mechanism for life-threatening arrhythmia manifestation, especially in heart-diseased patients under surgical intervention.

The purpose was to study the quantitative characteristics of temporal neuronal relationships in dorso-medial medulla of rats under pain influence.

Materials

The experiments were conducted on 11 anesthetized rats (males, weight 330-360 g, 6 - 7 months of age). The multiunit records in dorso - medial part of medulla (NTS area) were implemented before and during the five minutes of sham and pinch-pain influence on hind pad of experimental animals. The separate neuron spikes were found and sorted out. The cross-correlograms (diapason 0.06s, bin 0.001s) were used in order to reveal the temporal neuronal relationships. The histogram maximums and minimums which exceeded the average value of histogram bin amplitude on two standard deviations were taken as criteria of temporal neuronal relationships [2, 3]. The statistical significance of data was estimated by paired Wilcoxon test. The histogram extremums located in one of diapasons (0-2ms, 3-9ms, 10-20ms) were taken as criteria of separate relationship.

Results

The activity of 24 neurons (15 neuronal pairs) was recorded. There were no differences in quantity of neural relationships before and during sham-pinch stimulation. The 34 and 44 significant peaks and minimums were detected in temporal diapason 0-20 ms relating to histogram centers, before and during real-pinch influence, respectively ($p < 0.05$).

The index of quantity relationships per neuron (IQRN) was 1.3 ± 0.4 and 1.8 ± 0.5 , before and during real-pain influence, respectively. The index of quantity relationships per neuronal pair (IQRP) was 2.2 ± 0.7 and 3.0 ± 0.9 , before and during pain influence, respectively. The index of quantity relationships per neuronal group (IQRG) was 3.1 ± 1.1 and 4.0 ± 1.3 , before and during pain influence, respectively.

Conclusion

These data show that degree of local cooperativity in activity of dorso – medial medullar neurons was significantly increased under pain influence. The change of IQRP under pain influence testifies that responses of investigated separate neuron after discharges of adjacent units are a complex consecutive temporal combination of excitation and inhibition.

REFERENCES

1. Boscan P, Pickering AE, Paton JFR (2002) The nucleus of the solitary tract: an integrating station for nociceptive and cardiorespiratory afferents // *Experimental Physiology*. 87. 2, p259-266.

2. Prudnikau HA (2004) Computing complex for registration of neuronal ensemble activity // Bulletin of Russian State Medical University. 3. 34, -p179.

3. Prudnikau HA (2006) Registration of multiunit activity and analysis of neuro-neuronal, cardio-neuronal and respiratory-neuronal temporal relationships// J.Eur Neuropsychopharmacol. 16(Suppl 4), S217.