Современные наукоемкие технологии

Морфологические и цитохимические особенности ядер клеток-предшественниц эпителиоидно-клеточного ряда как критерии их морфогенетической активности

Архипов С.А.
Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, Новосибирск

Известно, что исход гранулематозного процесса при многих воспалительных заболеваниях в значительной степени зависит от динамики эпителиоидно-клеточных цитоморфозов в очагах хронического воспаления. Однако, биологическая сущность эпителиоидных клеток еще непонятна, а их роль в патологических процессах и гистогенез практически не изучены. В связи с этим изучение цитоморфологических и цитохимических характеристик эпителиоидных клеток, отличающих их от других клеток организма, представляется актуальным.

Как известно, основные принципы всех окрасок морфологических структур клеток при исследовании их на светооптическом уровне основаны на физико-химическом сродстве различных составных частей клетки к определенным красящим веществам. Ядро, содержащее в значительном количестве нуклеиновую кислоту, главным образом связывает основные краски, что определяет его базофилию. Были изучены цитоморфологические особенности ядер малодифференцированных клеток-предшественниц эпителиоидных клеток и их переходных форм, дифференцирующиеся в культурах перитонеальных клеток в эпителиоидные клетки, а также их прекурсоры, выявляемые в культурах лейкоцитов крови и клеток костного мозга. При окраске азуром II и эозином ядра этих клеток окрашивались в специфический пурпурный цвет, имели хроматин со слабо выраженной сетчатой структурой, включающей небольшие базофильные глыбки на периферии. Ядра макрофагов отличались интенсивной базофильной окраской с преобладанием красно-фиолетового и сине-фиолетового оттенков; базихроматин в ядрах этих клеток представлен в виде крупных глыбок различных размеров. Для последующего морфологического анализа изображения клеток вносили в компьютер в режиме непрерывного "послойного" сканирования видеокамерой (при ступенчатом изменении глубины резкости). Компьютерный анализ оцифрованных видеоизображений клеточных ядер, основанный на использовании метода эквиденситометрии, позволил реконструировать объемное строение хроматиновой структуры ядер клеток эпителиоидного типа, существенно отличающееся от такового клеток макрофагального ряда. При помощи моноклональных антител к гистону Н1, было обнаружено, что в ядрах пре-эпителиоидных клеток этот тип гистонов распределен равномерно. В ядрах макрофагов экспрессия гистонов Н1 была неравномерной и выявлялась в меньшей степени. Известно, что нуклеосомы в неконденсированном хроматине содержат по две копии гистонов Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Двойная спираль ДНК лежит на поверхности октамера гистонов и накручена на него. Гистоны Н1 присутствуют в конденсированном хроматине в связанном виде, соединяя нуклеосомы между собой. Вероятно, специфическая окраска ядер клеток эпителиоидного ряда связана с наличием в их ядрах большого количества свободных гистонов Н1, которые входят в состав хромонем интеркинетического ядра и в значительной степени определяют биохимическую структуру ядерного хроматина и его оксифилию. Как известно, гетерохроматин считают инертной частью хромосомы, а эухроматин - активной. В этой связи полученные данные о характере распределения гетеро- и эухроматина в ядрах клеток-предшественниц эпителиоидных клеток, а также данные о характере распределения и экспрессии гистонов Н1 в их ядрах, указывают на то, что генетический аппарат клеток эпителиоидно-клеточного ряда находится в активном состоянии, определяя их высокий морфогенетический потенциал. Это позволяет пре-эпителиоидным клеткам при наличии соответствующих условий, возникающих при воспалении, быстро переходить в фазу пролиферации и дифференцироваться в эпителиоидные клетки с различными морфофункциональными особенностями.

Новый способ моделирования хирургической раны в эксперименте

Афиногенов Г.Е.[1], Пострелов Н.А.[2], Смирнов О.А.[2], Афиногенова А.Г.[1], Кольцов А.И.[2]
1. Российский НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена; 2. Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Для осуществления эксперимента в условиях, приближенных к клиническим, необходимо создание модели хирургической раны со всеми обязательными для нее составляющими, такими как травмирование тканей, наличие девитализированных тканей, гематом, сером, послойное зашивание шовными нитями, ишемизация тканей швами, контаминация различными видами патогенных микроорганизмов.

Известные способы моделирования хирургической раны в эксперименте [Житнюк И.Д., 1967; Фурманов Ю.А., Горшевикова Э.В., Адамян А.А. и др., 1985; Воленко А.В., 1989; Шалимов С.А., Радзиховский А.П., Кейсевич Л.П., 1989; Edlish R.F., Panek P.H., Rodeheaver G.T. et all., 1973; Sharp V.V., Belden T.A., King P.H. et all., 1982] имеют определенные недостатки, влияющие на достоверность полученных результатов, особенно при качественном и количественном учете их микробной контаминации.

Предлагаемый нами способ создания модели хирургической раны (Патент на изобретение RU 2195709 C1 7 G 09 B 23/28 от 27 декабря 2002 года) позволяет максимально уменьшить ее контаминацию во время проведения эксперимента и тем самым повысить достоверность полученных результатов микробиологических исследований.

Для моделирования хирургической раны исполь-

зовали половозрелых самцов морских свинок весом 250-300 г. Все лабораторные животные поступали из одного источника; выдерживались в условиях карантина в течение 2-х недель перед проведением исследований и получали стандартную лабораторную пищу (каши на воде, овощи, фрукты) и питье (воду и молоко). Идентичный рацион и режим питания соблюдался на протяжении всего эксперимента. Наркоз при проведении оперативного вмешательства осуществлялся введением внутрибрюшинно наркотической смеси, состоящей из 0,5 мл 2% раствора промедола, 0,25 мл 2% раствора аминазина и 0,5 мл 1% раствора димедрола (качественный и количественный состав наркотической смеси подобран эмпирическим путем). Подготовку к операции проводили путем освобождения от шерсти участка кожи в лопаточной области с одной стороны размером 6,0x2,0 см и обработкой операционного поля 1% спиртовым раствором йода. Раствор йода более высокой концентрации проникает через кожный покров, окрашивая мышцы, и, по нашему мнению, влияет на «чистоту» опыта, вызывая химический ожог тканей. В асептических условиях в паравертебральной области морской свинке скальпелем наносили линейную кожную рану длиной 5,0 см. Для создания раневого канала производили прокол подкожной основы (подкожной жировой клетчатки, мышечного слоя) через всю ее толщу иглой Дюфо, через которую проводили шовную нить и параллельно ей тонкую иглу длиной 90 мм (игла инъекционная для шприцев типа «Рекорд» 1 А 1-0,8x90-1 15). Далее игла Дюфо, создавшая раневой канал, удалялась. Из вновь созданного раневого канала производили удаление тонкой иглы с одновременным введением в него с помощью шприца 0,1 мл физиологического раствора с монокультурой тест-микроорганизма или микробной ассоциацией. Нить в раневом канале фиксировали узловым швом поверх слоя подкожной основы. Кожную рану зашивали одиночными швами с интервалом 1,0 см друг от друга и закрывали нанесением пленки СБВ-14. В послеоперационном периоде проводили динамическое наблюдение за состоянием кожной раны. В сроки, определяемые задачей, поставленной перед проведением исследований, животных выводили из эксперимента. В асептических условиях иссекали участок тканей с моделью раневого канала. После поверхностной промывки исследуемого фрагмента стерильным физиологическим раствором производили его рассечение по ходу раневого канала и взятие биоптата ткани дна раны для качественной и количественной оценки микробной контаминации раневого канала. Гистологическому исследованию подвергали стенку раневого канала и ткани на расстоянии 5,0 мм и 15,0 мм вокруг него для изучения глубины распространения и степени выраженности воспалительной реакции паравульнарных тканей, которую оценивали по общепринятой 5-бальной шкале.

Моделирование хирургической раны предложенным нами способом позволяет избежать дополнительной контаминации ее поверхности возбудителями нозокомиальных инфекций в результате отсутствия контакта раневой поверхности с окружающей средой, а также произвести ее контаминацию строго регламентированными дозами патогенных микроорганизмов и их ассоциаций, что положительно влияет на достоверность всех показателей микробиологических исследований. При этом сохраняются все составляющие клинической хирургической раны, такие как нанесение мягким тканям дозированной травмы; наличие в раневом канале девитализированных тканей, гематом и сером после удаления из него толстой иглы; контаминация раневого канала различными штаммами патогенных микроорганизмов и их ассоциаций и, особенно, послойное зашивание раны шовной нитью с формированием узла подкожно поверх мягкотканной основы, при котором не происходит потери массы шовного материала и сохраняется ишемизация швом паравульнарных тканей. Предлагаемый нами способ моделирования хирургической раны универсален и может быть воспроизведен на любых экспериментальных животных в любой части их тела. Локализация раневого канала, его протяженность и степень микробной контаминации зависят от заданных условий эксперимента.

Клинико-инструментальный метод диагностики ишемического повреждения гипертрофированного миокарда у больных артериальной гипертонией

Бебешко С.Я., Рождественская Т.В., Иванова И.А., Сидорова Л.Н.

Научно-исследовательский институт кардиологии МЗ РФ, Военно-медицинский институт Саратов

Гипертрофия левого желудочка (ГЛЖ) как патологическое состояние миокарда ассоциируется с повышенным риском сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности. Несмотря на исходно адаптативный характер, ГЛЖ при АГ приводит к ряду негативных патофизиологических последствий. Так, развивающееся в процессе гипертонической гипертрофии, ремоделирование миокарда ЛЖ сопровождается биохимическими, структурными изменениями кардиомиоцитов, а также изменением коллагенового матрикса и нарушениями интрамуральной коронарной циркуляции. Наряду с этим, на клиническое течение заболевания оказывает и сопутствующий атеросклероз коронарных артерий, повышенная потребность гипертрофированного миокарда (ГМ) в кислороде, сниженная способность коронарных сосудов к адекватной доставке кислорода миокарду вследствие как нарушения функции эндотелия, так и гиалиноза мелких артерий, повышенная агрегация тромбоцитов. Все это приводит к уменьшению коронарного резерва ГМ, появлению признаков относительной коронарной недостаточности, ишемическому повреждению определенной части кардиомиоцитов.

Целью настоящей работы явилась разработка клинико-инструментального метода диагностики ишемического повреждения гипертрофированного миокарда у больных АГ.

В исследование включены 123 больных АГ II стадией (ВОЗ, 1999), 17 из них в сочетании с ИБС стенокардией II - III ф.кл без перенесенных ИМ. Среди обследованных были 23 женщины и 100 мужчин в возрасте от 20 до 58 лет (средний возраст 52.3±2,3 года). Давность АГ составила в среднем 7,5±2,3 года.