

происходило значительное повышение активности ГПО на +82% ($p < 0,05$), ГР на +113% ($p < 0,05$) и содержания ВГ на +310% ($p < 0,01$). В тоже время каталазная активность повысилась на +40% ($p < 0,05$). Таким образом, предварительное введение дельтарана животным перед ИМ, повышает мощность эндогенных систем антиоксидантной защиты мозга.

Таким образом, после лигирования коронарного сосуда у крыс в коре больших полушарий наблюдался значительный дисбаланс в системе ПОЛ – АОС в сторону усиления процессов ПОЛ, отражением чего является значительное увеличение концентрации МДА на фоне нарушения синергизма и сопряженности антиоксидантной системы. Предварительное введение дельтарана инфарцированным животным способствует снижению влияния ИМ на накопление ТБК-реактивных продуктов и показатели антиоксидативного статуса в гемисфере коры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободно-радикального окисления и антиоксидантной системы организма. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.
2. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. – Ростов-на-Дону: РГУ, 1990. – 224 с.
3. Голиков А.П., Полумисков В.Ю. и др. // Кардиология. – 1989, №7. – С. 53-59.
4. Касумова Р.М. // Азерб. мед. журнал. – 1990, №2. – С. 29-32.
5. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. // Кардиология. – 2000, № 7. – С. 48-61.
6. Меньщикова Е.Б. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты М.: Фирма «Слово», 2006. – 556 с.
7. Свириева И.В. // Биофизика. – 2006. – Т. 51. вып. 3. – С. 478-484.
8. Симоненко В.Б., Бойцов С.А., Глухов А.А. // Клин. мед. – 2000. – Т.78, № 8. – С. 12-16.
9. Ульянинский Л.С., Архангельская М.И., Звягинцева М.А. и др. // В кн.: Экспериментальная и прикладная физиология. Психоэмоциональный стресс. Труды научного совета по экспериментальной и прикладной физиологии. /Под редакцией акад. К.В. Судакова. – 1992. - Т.1. - С. 86-102.
10. Ульянинский Л.С., Иванов В.Т., Михалева И.И. //Космическая биология и авиакосмическая медицина.- 1990. - №3. - С. 23-28.
11. Lowry O.H., Pessoneau J.V.// Ibid. – 1964. – Vol. 5. – P. 323 – 340.
12. Tarnavski O., McMullen J.R., Schinke M et al. // Physiol. Genomics. – 2004. – Vol. 16. – P. 349-360.

Экспрессия ϵ -гена эмбрионального гемоглобина при гематологической патологии

Кривенцев Ю.А., Никулина Д.М., Бисалиева Р.А., Борисова Н.В., Бисалиев Р.В.

Астраханская государственная медицинская академия

*Астраханский государственный университет
Астрахань, Россия*

Гемоглобины человека изучаются уже на протяжении почти века, но, тем не менее, эмбриональный гемоглобин (HbP, синоним - HbE) является одним из самых малоизученных белков человеческого организма. Сведения о HbP в научной литературе до сих пор крайне скудны. Такой парадоксально низкий интерес ученых к этому белку можно объяснить следующими причинами: а) методологический фактор: получение препарата HbP крайне затруднительно из-за сложностей получения биоматериала (HbP синтезируется только в раннем эмбриогенезе, с 5 по 18 гестации), экстрагирования и очистки белка; б) практический фактор: по мнению большинства клиницистов, данный белок не представляет прикладной (диагностическо-прогностической) ценности, т.к. активность его гена полностью репрессирована как у детей, так и у взрослых [1, 2, 3, 6].

В данной работе авторы исходили из предположения, что активация ϵ -гена HbP в постнатальном периоде жизни человека возможна при патологии, связанной с понижением степени дифференцировки, т.н. «омоложением» клеток эритроцитарного ростка [4]. К таким состояниям можно отнести некоторые онкологические заболевания тканей красного костного мозга, в первую очередь, эритремии, сублейкемические миелозы, а также, возможно, некоторые миелолейкозы.

Цель исследования - иммунохимический качественный анализ наличия эмбрионального гемоглобина в эритроцитах больных эритромами, сублейкемическими миелозами и лейкозами различных типов.

В процессе научно-экспериментального исследования физико-химических свойств эмбрионального гемоглобина авторами разработан оптимальный алгоритм выделения этого белка [4].

Исходным биоматериалом для выделения и очистки HbP служил абортный материал сроком 7-9 недель (отделение неонатологии больницы №5 г. Астрахани). После промывки и сортировки эмбриональные ткани подвергались механически-термической гомогенизации. После экстрагирования цитозольных белков проводили, взвесь центрифугировали при 8000 g в течение 30 мин, после чего осадок отбрасывали. Поскольку устойчивость эмбрионального гемоглобина несколько ниже, чем у

фетального [6], для очистки НбР нами была модифицирована стандартная методика щелочной денатурации для выделения фетального гемоглобина [3, 6], состоящая в 40-секундной обработке смеси 1,2 М раствором NaOH, с последовательным осаждением белков раствором сульфата аммония (до 50%-й насыщенности). После центрифугирования при 8000 об/мин в течение 30 мин осадок отделяли. В надосадочной жидкости оставался эмбриональный гемоглобин с незначительным количеством белковых примесей. Полученный белковый препарат подвергали обессоливанию путем гель-проникающей хроматографии на колонке с сефадексом G-25, рабочий буфер – 0,05 М фосфатный буферный раствор pH 7,4. Окончательную очистку НбР от оставшихся щелочестойчивых компонентов в полученном на предыдущем этапе препарате проводили путем ионообменной хроматографии на ДЕАЕ-сефадексе G-50 на 0,01 М трис-хлоридном буфере pH 8,1 в градиенте ионной силы.

Анализ чистоты полученных препаратов осуществляли методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле.

Полученные очищенные препараты НбР использовали, в частности, для получения специфических антисывороток на данный белок методом иммунизации кроликов. Иммунизация проводилась с полным адьювантом Фрейнда по стандартной методике [5]. Для контроля качества антисывороток проводили их иммунохимическое

сопоставление с другими антигенными композитами, а также специфическую окраску полученных преципитатов бензидиновым методом [6]. При наличии дополнительных линий преципитации проводили дробное истощение антисыворотки соответствующей белковой фракцией. В результате проведенной работы разработаны специфические иммунохимические тест-системы на эмбриональный гемоглобин, в которой тест-антигеном является очищенный препарат НбР (полученный вышеописанным способом) в рабочем разведении: 1/2 или экстракт тканей эмбриона (срок – 6-9 недель) в рабочем разведении 1/8-1/16. Тест-системы на использовали для иммунохимической индикации НбР в исследуемом материале.

Объектом нашего исследования являлась гепаринизированная кровь больных некоторыми гематологическими онкозаболеваниями. Всего было обследовано 107 образцов крови. Из них: 12 больных эритромами, 11 больных сублейкемическими миелозами, 31 больных острыми и хроническими миелолейкозами, 17 больных острыми и хроническими лимфолейкозами, а также 36 образцов крови здоровых людей (группа контроля) (табл.1).

Сбор биоматериала проводили в гематологическом отделении 1-й областной больницы г. Астрахань.

Подготовка проб к анализу состояла в их предварительном гемолизе путем двукратного замораживания (при -18°C) и оттаивания.

Таблица 1 Перечень использованного в работе материала

Исследуемый материал (кровь)	Количество проб
Здоровые	36
Больные эритромами	12
Больные сублейкемическими миелозами	11
Больные хроническими миелолейкозами	22
Больные острыми миелолейкозами	9
Больные острыми и хроническими лимфолейкозами	17
ВСЕГО	107

Индикация НбР в образцах осуществлялась путем иммунодиффузии по Оучтерлони [5]. В ходе работы использовались моновалентные иммунохимические тест-системы на НбР (см. выше).

После иммунопроявления агаровые стекла высушивали и подвергали специфическому окрашиванию на гемоглобины гваяколовым методом, модифицированным авторами: 0,2 г гваякола в 50 мл ледяной уксусной кислоты, затем добавляли этот раствор в 0,1М ацетатный буфер pH 4,6 с 0,2% хлоридом марганца (II) до 0,3% концентрации. Туда же добавляли перекись водорода до концентрации 1%. Экспозиция 45 мин. В результате окраски

гемоглобиновые преципитаты приобретали голубой цвет.

Стекла фотографировали в отраженно-рассеянном свете. Считывание результатов проводили только по отчетливым окрашенным линиям преципитации.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием статистических компьютерных программ.

В результате проведенного иммунохимического анализа исследуемого материала на эмбриональный гемоглобин методом радиальной иммунодиффузии по Оухтерлони получены следующие результаты (табл. 2).

Как видно из приведенных данных, эмбриональный гемоглобин впервые выявлен в

крови больных эритремиями, хроническими эритромиелозами, сублейкемическими миеломами и острыми миелолейкозами. Эти данные свидетельствуют о возможности дерепрессии гена ϵ -протомера (гена эмбрионального гемоглобина) при снижении дифференцировки клеток эритроцитарного ростка, сопровож-

жающей онкологические заболевания данной ткани. Нулевая выявляемость НбР в крови гематологических больных с онкопатологией неэритроидного генеза (острые и хронические лимфолейкозы) согласуется с приведенной версией.

Таблица 2 Результаты иммунохимической индикации НбР в крови онко-гематологических больных

Исследуемый материал	Количество проб	Количество положительных результатов на НбР	Процент положительных результатов на НбР
Здоровые	36	0	0,0
Больные эритремиями	12	8	66,67
Больные сублейкеми-ческими миеломами	11	4	36,36
Больные хроническими миелолейкозами	22	1	4,55
Больные острыми миелолейкозами	9	2	22,22
Больные острыми и хроническими лимфолейкозами	17	0	0,0

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что иммунохимическая индикация эмбрионального гемоглобина в крови гематологических больных способствует повышению качества дифференциальной диагностики ряда онко-гематологических заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника. – СПб, ООО “ЭЛБИ-СПб”, 2000. – 384 с.
2. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы патохимии – СПб. «Элби-СПб». – 2000. – 182 с.
3. Карпищенко А.И. - Медицинские лабораторные технологии и диагностика / А.И. Карпищенко. - Справочник, т 1, С. Петербург, 1998. – 144 с.
4. Кривенцев Ю.А., Бисалиева Р.А., Никулина Д.М., Краморенко П.В., Семенова Т.Б. - Иммунохимический анализ продукции эмбрионального гемоглобина в раннем эмбриогенезе человека / Материалы научно-практической конференции с международным участием «Достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины». – Астрахань-Волгоград-Москва. – 2006. – С.58-62.
5. Никулина Д.М. - Практическое освоение иммунохимических методов / Метод. рекомендации. – Астрахань, - 1996. – 36 с.
6. Стародуб Н.Ф., Назаренко В.И. - Гетерогенная система гемоглобина: структура, свойства, синтез, биологическая роль / АН УССР, Институт молекулярной биологии и генетики. Киев: Наукова думка, 1987. – 198 с.

Особенности манифестации соматических заболеваний у матерей, имеющих дочерей с нарушением становления менструальной функции

Кудинова Е.Г.

Алтайский медицинский университет. Кафедра акушерства и гинекологии №1 Барнаул, Россия

Соматическое здоровье матерей определяет здоровье их детей, как за счёт непосредственной передачи генетического материала, так и за счёт антенатальных повреждений вследствие осложнённого течения беременности и родов. Нарушение становления менструальной функции у девочек-подростков есть первое клиническое проявление дисфункции репродуктивной системы, как отражения несостоятельности их исходного соматического здоровья.

Целью нашей работы явилось выявление особенностей манифестации соматических заболеваний у матерей, имеющих дочерей с нарушениями менструальной функции в пубертате.

Были оценены анамнестические и клинические характеристики 232 женщин, которые имели дочерей 15-18 лет с продолжительностью гинекологического возраста более двух лет. Основную группу составили 116 женщин, имеющих дочерей с нарушениями менструальной функции. Группу сравнения составили 116 женщин, имеющих дочерей с физиологическим течением пубертата. Различия между группами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.