

Южной Кореи, ФРГ. В 2005 г. клонирование необходимых для трансплантации поросят удалось успешно осуществить в одном из аграрных университетов КНР. А в 2009 г. китайские медики провели серию ксенотрансплантаций разных внутренних органов от мини-свиней к шимпанзе. Китайский ученый Янг Хоньцзы, руководивший международным проектом со стороны КНР, сообщил, что первые опыты по ксенотрансплантации будут продолжены в специальной научной лаборатории при Клиническом центре трансплантологии провинции Сы-чуань. Намечено сделать попытку пересадить свиную печень, поджелудочную железу, почки и другие органы, наиболее востребованные в клинической медицине при ксенотрансплантации, нескольким шимпанзе. В настоящее время работа по геномодификации и клонированию минисибсов с использованием стволовых клеток для создания гистосовместимого генома, обеспечивающего толерантность при ксе-

нотрансплантации органов человеку, находится на начальных этапах. Основным методом является клонирование трансгенных мини-свиней с нокаутированными генами, что блокирует формирование полисахаридов, участвующих в образовании α -1,3-галактозилтрансферразы (*GGTA1*) у доноров.

Список литературы

1. **Тихонов В.Н.** Лабораторные мини-свиньи, генетика и медико-биологическое использование. // Новосибирск. Изд-во СО АН. 2010. 305 с.
2. **Тихонов В.Н., Жучаев К.В.** Микроэволюционная теория и практика породообразования свиней. // Новосибирск. СП «Наука» РАН. 2008. 394 с.
3. **Тихонов В.Н., Ларионов П.М., Тихонов А.В.** Использование мини-свиней в качестве модели для разработки новых методов лечения ишемической болезни сердца. // Атеросклероз. 2010. № 10.

Creation of new generation of supersmall laboratory pigs for work in the field of medicine, veterinary science and biotechnology

V.N. Tikhonov, V.E. Bobovich, V.I. Zaporozhets

Population of microsibs was created on the base of native minisibs in Institute of Cytology and Genetics SD RAS. Microsibs have no analogs all over the world.

Keywords: minipig, minisibs, microsibs.

Межлинейные особенности физиологических реакций на разных уровнях организации у мышей при остром облучении

Е.Н. Архипова¹, И.Б. Алчинова¹, Н.Н. Хлебникова¹, И.Ю. Егорова², А.С. Бобе¹, Х.Х. Семенов², А.А. Антипов³, Ц.Ц. Содбоев³, М.Ю. Карганов¹

¹ – НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва

² – Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

³ – Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им.К.И. Скрябина, Москва

Контактная информация: Алчинова Ирина Борисовна labpolys@gmail.com

Работа посвящена анализу реакций на разных физиологических уровнях у мышей линий 101/Hf и C3H/Sn при воздействии гамма-облучения в острой дозе 750 Р. ЛК-гистограммы сыворотки крови мышей в первые три недели после облучения характеризуются количественным уменьшением частиц первого интервала и значительным увеличением различий в третьем интервале (свыше 91,26 нм). У мышей линий C3H/Sn и 101/Hf различные тяжести повреждения ткани кишечника встречались с близкими частотами. Уровень тревожности, оцениваемый по тестам «Открытого поля» оказался выше у мышей линии 101/Hf.

Ключевые слова: облучение, межлинейные различия, лазерная корреляционная спектроскопия.

Целью настоящего исследования было изучение межлинейных различий адаптивных возможностей мышей при воздействии экстремального фактора среды.

Методы исследования

В исследовании использовали две линии мышей – 101/Hf и C3H/Sn, из коллекционного фонда научного центра биомедицинских технологий РАМН.

В литературе мыши линии 101/Hf описывается как одна из немногих экспериментально-биологических моделей заболеваний человека, связанных с хромосомной нестабильностью и дефектами репарации ДНК, считается, что у этой линии отсутствует эксцизионная репарация. Линия C3H/Sn рассматривается как линия более радиостойкая [2, 3, 7].

Облучение группы мышей (C3H/Sn п=9; 101/Hf п – 6) проводили на цезиевом

облучателе «Панорама» до общей дозы 750 рентген (Московская ветеринарная академия им. К.И. Скрябина). Контрольные группы (C3H/Sn п – 7; 101/Hf п – 10) не подвергались облучению.

Измерение веса животных проводили на весах марки Mettler Toledo, за час до взвешивания животных лишали еды.

Для оценки изменений в сывороточном гомеостазе использовали сыворотку крови. Забор крови у мышей проводили из малой подкожной вены голени через 3 дня, а также через 3 и 6 недели после облучения [6]. Субфракционный состав сыворотки крови мышей изучали методом лазерной корреляционной спектроскопии. Для гистограмм сыворотки крови мышей можно выделить три основных интервала: 1 – от 0 до 20,58 нм, 2 – от 20,58 до 91,26 нм, 3 – и свыше 91,26 нм. Для анализа использовались два критерия: сдвиг – характеристика интервала (небольшие, но устойчивые изменения

размеров частиц), и различие в % – количественное изменение частиц.

В конце эксперимента все животные были подвергнуты эвтаназии путем передозировки анестезирующего препарата с дальнейшим взятием органов (печень, кишечник) для проведения гистологического исследования с целью оценки повреждающего действия облучения. Органы фиксировали в 4% растворе нейтрального формалина. Препараты готовили согласно принятой методике [2, 4].

Для упрощения обработки материала в зависимости от степени изменения морфологии клеток и тканей были выделены три степени тяжести повреждений. Первая степень тяжести поражения тканей тонкого кишечника характеризуется слабовыраженным отёком собственной пластинки слизистой оболочки, незначительной деформацией кишечных ворсин в виде их вытягивания или неравномерного утолщения, хорошим развитием собственной пластинки слизистой оболочки и эпителия, который имеет правильную призматическую форму с щёточной каймой (рис. 1 А). Вторая степень тяжести – собственная пластинка слизистой оболочки слабо развита, рыхлая, отёчная. Эпителии ворсинок в состоянии метаплазии. Кишечные ворсинки атрофированы. Умеренная гиперемия сосудов подслизистого слоя (рис. 1 Б). Третья степень тяжести – собственная пластинка слизистой оболочки слабо развита, рыхлая, отёчная. Эпителии ворсинок в состоянии метаплазии. Кишечные ворсинки атрофированы. Отдельные эпителиоциты в состоянии некроза. В основании ворсинок в подслизистом слое сильная диффузная лейкоцитарная инфильтрация. Резкая гиперемия сосудов подслизистого слоя (рис. 1 В).

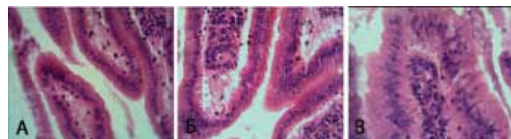


Рис. 1. Микрофотографии гистологических препаратов тонкого кишечника мышей, А – первая, Б – вторая, В – третья степени тяжести. Увеличение – 400, окраска – гематоксилин – эозином.

Первая степень тяжести поражения ткани печени характеризуется незначительным набуханием гепатоцитов, сглаженностью границ между клетками при сохранении балочного строения, помутнением цитоплазмы – белковая дистрофия. Синусные сосуды незначительно расширены. Диаметр центральных вен увеличен – гиперемия. Слабое развитие междольковой соединительной ткани (рис. 2 А). Вторая степень тяжести – балочное строение сохранено. Белковая и жировая дистрофии. Окраска ядер неравномерная. Синусные сосуды расширены. Слабое развитие междольковой соединительной ткани (рис. 2 Б). Третья степень тяжести – балочное строение сохранено. Клетки резко набухшие, цитоплазма неравномерно окрашена, имеет пенный вид – белковая и жировая дистрофии. Наблюдается кариопикноз и кариорексис – некроз гепатоцитов. Синусные сосуды расширены на периферии долек, в центральных участках сужены. Слабое развитие междольковой соединительной ткани (рис. 2 В).

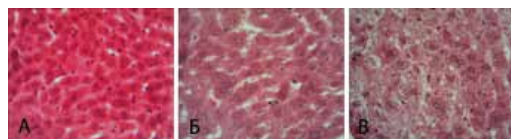


Рис. 2. Микрофотография гистологических препаратов печени мышей, А – первая, Б – вторая, В – третья степени тяжести. Увеличение – 400, окраска – гематоксилин – эозином.

Для изучения изменения поведения грызунов после действия сильного

стрессогенного фактора использовали установку «Открытое поле». В тесте оценивали вертикальную и горизонтальную активность. Длительность теста составляла 3 мин.

Результаты и их обсуждение

Предварительные исследования клеток костного мозга мышей этих двух линий по принятой методике показало, что спонтанный уровень aberrаций выше у мышей линии 101/Hf. При воздействии дозы 5 Р выход aberrаций у линии 101/Hf увеличивается в 2 раза, в то время как у линии СЗН/Sn – в 4 раза по сравнению с контролем. На дозу 50Р линия 101/Hf отвечает увеличением количества хромосомных повреждений в 8,8 раз, линия СЗН/Sn – в 23 раза. При суммарном воздействии двух доз у линии СЗН/Sn наблюдается кумулятивный эффект. У линии 101/Hf наблюдается уменьшение числа aberrаций хромосом [1].

У облученных мышей максимальный прирост отмечался через 3 недели после воздействия, мыши линии 101/Hf набирали вес интенсивнее. К этому времени животные достигли взрослого состояния, и дальше вес менялся незначительно.

Использование лазерной корреляционной спектроскопии позволяет определить общее направление изменений в сыровоточном гомеостазе. Основное изменение в ЛК-гистограммах сыровотки крови контрольных мышей связано с увеличением разницы между частицами первого интервала и присутствием сдвига (12,9%) на втором интервале (от 20,58 до 91,26 нм). Эти процессы наблюдали в сыровотке крови мышей обеих линий. ЛК-гистограммы сыровотки крови мышей в первые три недели после облучения характеризуются количественным

уменьшением частиц первого интервала и значительным увеличением различий в третьем интервале, и достигают у линии СЗН/Sn – 39, а у линии 101/Hf – 54%. С течением времени наблюдается сдвиг третьего интервала в сторону более мелких частиц: на 28% у мышей линии СЗН/Sn и на 11% у мышей линии 101/Hf. Отмечается значительное количественное увеличение вклада в светорассеяние частиц второго интервала: на 75 и 109 % соответственно (рис. 3).

Изменения, вызываемые ионизирующей радиацией в тканях, регистрировались проведением анализа гистологического материала. Он показал, что к завершению эксперимента изменения в тканях были представлены 2 и 3 степенями тяжести.

У мышей линий СЗН/Sn и 101/Hf различные степени повреждения тканей кишечника встречались с близкими частотами: у линии СЗН/Sn вторая степень тяжести встречается у 57% мышей, третья – у 43%; у линии 101/Hf – 67% и 33%, соответственно. Изменения второй и третьей степеней тяжести в тканях печени мышей линии СЗН/Sn и линии 101/Hf – 67% и 33%, соответственно.

Ионизирующее излучение влияет на функциональное состояние нервной системы и поведение в результате как прямого воздействия на нервную систему, так и косвенного, за счет реактивности нервной системы на лучевое повреждение, вызываемое в других системах организма. При этом нервная реактивность может иметь большее интегративное физиологическое значение, чем прямое повреждение нервной системы в сверхлетальных дозах [5].

В этом тесте оценивают поведенческие проявления, вызванные конфликтом мотивации страха и исследовательской активности.

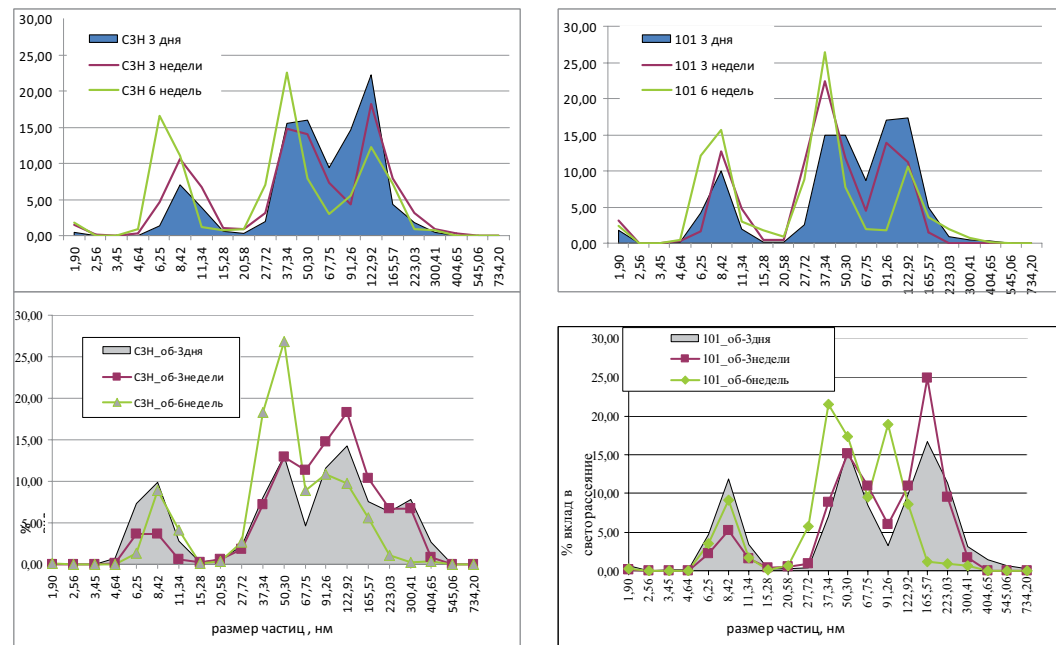


Рис. 3. ЛК – гистограммы сыворотки крови мышей. По оси абсцисс – размер частиц в нм, по оси ординат – вклад в светорассеяние в %.

При выполнении теста у мышей линии 101/Hf наблюдали попятные движения, описанные для неврологических мутантов hot-foot со структурно-функциональными аномалиями мозжечка [2].

Вертикальная двигательная активность возрастала у мышей линии C3H/Sn с самого начала эксперимента и к 20 суткам значения достигли значимых различий (Duncan Test, Current effect: $F(3, 18)=4,6698$, $p=0,1391$). У мышей линии 101/Hf этот показатель снижался и достигал значимых различий уже на 10-е сутки (Duncan Test, Current effect: $F(3, 15)=4,9914$, $p=0,1346$) (рис. 4).

Изменение горизонтальной двигательной активности у мышей этих двух линий также происходило в разных направлениях и у линии C3H/Sn достигало значимых различий уже на 10-е сутки эксперимента (Duncan Test, Current effect: $F(3, 18)=6,1422$, $p=0,00461$).

Был исследован ряд параметров, каждый из которых в отдельности может

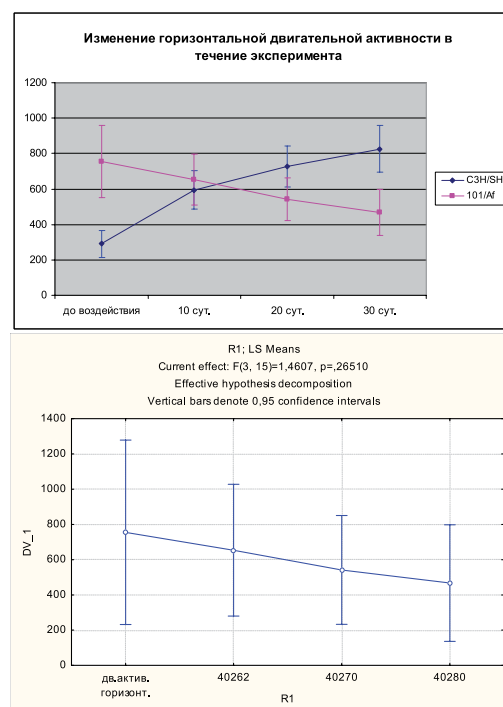


Рис. 4. Изменение вертикальной и горизонтальной двигательной активности мышей в течение эксперимента. По оси абсцисс – дни эксперимента, по оси ординат: на первом рисунке – количество стоек, на втором – условные единицы.

характеризовать ответ отдельной системы на облучение. Повреждения тканей кишечника и печени, представленные у опытных мышей второй и третьей степенями тяжести, являются отражением совместного действия механизмов репарации и апоптоза. И, если на тканевом уровне не выявлено значимых различий, то предварительные исследования на уровне хромосом позволяют увидеть, что сохранение целостности клеточных структур идет у мышей этих двух линий благодаря разным механизмам. Уменьшение количества хромосомных повреждений после воздействия двух доз облучения в 5 и 50 Р (доза в 5 Р играет роль стимулирующего фактора) у линии 101/Hf связано не с усилением механизмов репарации, так как у этой линии нет эксцизионной репарации, а, видимо, с усилением клеточной гибели вследствие повышенного количества aberrаций на клетку.

Сходные изменения, повреждения в структуре тканей заставляют думать, что аналогичные эффекты будут зафиксированы и в других тканях. Исследование сыворотки крови методом ЛКС указывает, что изменения однонаправлены, однако у линии 101/Hf они выражены значительно по сравнению с контролем. Возрастание процентного вклада частиц крупного размера является показателем развития воспалительного процесса и увеличения в сыворотке крови продуктов деструкции клеток.

Прямое и косвенное действие радиации приводило к снижению горизонтальной активности и уменьшению количества вертикальных стоек у мышей линии 101/Hf, что свидетельствует о повышении тревожности и угнетении исследовательской активности. В то же время горизонтальная и вертикальная

активность мышей линии C3H/Sn только повышается.

Таким образом, проведенное сравнение чувствительности мышей разных линий к гаммаоблучению в острой дозе 750 Р показывает, что, несмотря на сходство общих реакций тканей и органов, существуют отличия между линиями, выраженность которых определяется индивидуальными особенностями линий. Использование комплексных критериев позволяет увидеть суммарный результат патологического процесса и работы приспособительных механизмов. Наиболее эффективными критериями для оценки межлинейных различий после экстремального воздействия являются лазерная корреляционная спектроскопия и гистологический анализ.

Список литературы

1. Алчинова И.Б., Архипова Е.Н., Лысенко Н.П., Хлебникова Н.Н. Исследование клеточно-метаболических реакций при облучении мышей разных линий. // Современные проблемы системной регуляции физиологических функций. 2010. С.14-16.
2. Лилли Р. Патологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир. 1969. 410 с.
3. Лилли И.Г., Полетаева И.И., Безикова Ф.З., Иванов В.И. Поведение мышей линии 101/H – модели наследственных заболеваний человека с хромосомной нестабильностью. // Генетика. 1992. Т.28. №3. С. 87-97.
4. Меркулов Г. А. Курс патологической техники. Л.: Медицина. 1969. 424 с.
5. Нягу А.И., Логановский К.Н. Нейропсихиатрические эффекты ионизирующих излучений. Киев: Чернобыльинформ. 1998. 287 с.

6. **Степанова О.И.** Метод взятия крови из малой подкожной вены голени у мышей // Биомедицина. 2006. № 2. С.137-139.
7. <http://donat.kiev.ua/klin9.aspx>

Strain-specific peculiarities of physiological reactions at different levels of organization in mice under conditions of acute irradiation

E.N. Arkhipova, I.B. Alchinova, N.N. Khlebnikova, I.Yu. Egorova, A.S. Bobe, H.H. Semenov, A.A. Antipov, Ts.Ts. Sodboev, M.Yu. Karganov

Reactions to gamma-irradiation in an acute dose of 750 R in 101/Hf and C3H/Sn mice at different physiological levels were analyzed. LC histograms of blood serum during the first three weeks after irradiation were characterized by reduced content of particles in the first interval and considerably increased differences in the third interval (>91.26 nm). In C3H/Sn and 101/Hf mice, the incidence of tissue alterations of different severity in the intestine was similar. The anxiety level evaluated by open field test was higher in 101/Hf mice.

Key words: irradiation, strain-specific differences, laser correlation spectroscopy.



Нефропротективное влияние антагонистов кальция (экспериментальное исследование)

А.Б. Батько

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова
Санкт-Петербург

Контактная информация: Батько Андрей Борисович abb69@mail.ru

Проведена оценка активности энзимурии на экспериментальной модели нефролитиаза с использованием антагонистов кальция. Полученные результаты исследования характеризуют точку приложения антагонистов кальция у больных мочекаменной болезнью и свидетельствуют о возможности их применения по новым показаниям.

Ключевые слова: антагонисты кальция, мочекаменная болезнь.

В связи с особенностями кровотока, почечная ткань чувствительна к гипоксии. Проксимальные почечные каналы даже в обычном состоянии находятся на грани гипоксии, поэтому даже умеренное снижение почечного кровотока усугубляет это состояние, что проявляется повреждением клеток канальцев и является пусковым механизмом прогрессирования хронической болезни почек. Наличие конкремента в почке при нефролитиазе приводит к нарушению микроциркуляции сосочково-чашечной зоны с развитием локальной ишемии и последующим каскадом гемодинамических изменений, приводящих к развитию склеротических процессов в паренхиме [4].

Цель. Оценить уровень энзимурии на экспериментальной модели нефролитиаза при использовании антагонистов кальция (АК).

Материалы и методы

Экспериментальный нефролитиаз (ЭН) вызывали по методике S. Kumar (1991). Исследование проведено в осенний период на 34 аутобредных крысах-самцах линии *Wistar*, массой 220-270 г., которых содержали на стандартной диете в естественном световом режиме. На 7-е, 14-е и 21-е сутки животные помещались в индивидуальные клетки, приспособленные для сбора мочи. Экспериментальные животные получали 1%-раствор этиленгликоля вместо воды *ad libitum*. Введение препаратов осуществлялось внутрижелудочно с помощью атравматического зонда, один раз в сутки, в строго установленное время. В работе исследовали АК различных групп – производных дигидропиридина (нифедипин, пр-во KRKA, Словения) и отечественного АК А-29 (производное бензопирана,