

ЛИТЕРАТУРА

1. Наместников, Ю. А. Значение теста генерации тромбина в клинической практике / Ю. А. Наместников, О. Г. Головина, Л. П. Папаян // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2011. — № 4(48). — С. 47–49.
2. *Молот, А. П.* Физиологическая беременность как модель несостоявшегося тромбоза / Ю. А. Наместников, О. Г. Головина, Л. П. Папаян // Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. — 2017. — № 2. — С. 44–50.
3. Reference values during pregnancy. — Access: <http://www.perinatology.com/Reference/Reference%20Ranges/D-Dimer.htm>. — Дата обращения: 08.10.2021.
4. Способность плазмы крови к образованию тромбина при физиологически протекающей беременности и после родоразрешения / А. П. Момот [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2015. — № 62(2). — С. 21–30.
5. Преимущество теста генерации тромбина для оценки гемостазиологического потенциала при проведении коронарного шунтирования у пациентов с ишемической болезнью сердца / О. В. Груздева [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2017. — № 9. — Доступ: <https://cyberleninka.ru/article/n/preimushchestvo-testa-generatsii-trombina-dlya-otsenki-gemostaziologicheskogo-potentsiala-pri-provedenii-koronarnogo-shuntirovaniya-u>. — Дата обращения: 06.10.2021.

УДК 575.113:616.36-003.93-002.1-036.12-092.6-092.4

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА LIN28A, КАК ПОКАЗАТЕЛЬ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

Шафорост А. С., Зяцьков А. А., Кондрачук А. Н., Осипкина О. В.

**Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь**

Введение

В настоящее время заболевания печени занимают одно из основных мест среди причин нетрудоспособности населения. Лечение больных с необратимыми поражениями печени, которые образуются в результате развития вирусной инфекции, хронической алкогольной интоксикации, механических травм и в процессе старения, остается актуальной проблемой современной медицины. Основным методом лечения подобных заболеваний при этом является пересадка печени, доступ к которой ограничен из-за недостатка донорских органов [1].

Однако в настоящее время развиваются новые подходы к терапии заболеваний печени связанные с применением клеточных технологий: использование аутологичных, донорских или ксеногенных стволовых клеток с различной степенью дифференцировки или перепрограммированных стволовых клеток (например, мезенхимальных стромальных клеток) [2]. Разработка этих методов требует более глубокого понимания механизмов регенерации тканей. Поиск механизмов управления процессами регенерации является перспективной задачей, решение которой позволит получить мощный инструмент для лечения заболеваний сопровождающихся органическими поражениями тканей. Однако, решение этой проблемы невозможно без определения маркеров регенерации, а также изменения ее скорости при наличии инфекционных или соматических заболеваний, приеме лекарственных средств, колебаниях гормонального статуса и других факторах. С учетом вышеперечисленных фактов, особый интерес в аспекте изучения процессов регенерации печени при токсических поражениях представляет исследование экспрессии гена Lin28A [3].

Цель

Исследовать активность гена Lin28A в ткани печени в процессе репаративной регенерации при остром и хроническом токсическом поражении печени.

Материал и методы исследования

Для эксперимента использовали лабораторных крыс линии Wistar стадного разведения в возрасте 8 недель. Животных содержали группами по 5–6 особей в клетке в стандартных условиях вивария Учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» и получали стандартный ра-

цион и воду ad libitum. Все работы были выполнены в соответствии с правилами проведения работ с использованием лабораторных животных в научных исследованиях.

Хроническое токсическое повреждение печени индуцировали путем внутривентрикулярного введения 50 % раствора CCl_4 в оливковом масле (La Espanola, Испания) в количестве 0,1 мл/100 г веса животного [4]. Инъекции выполняли 2 раза в неделю на протяжении 10 недель.

Были сформированы следующие экспериментальные группы: группа 1 (n = 7) — интактный контроль (10 недель), инъекция 1x PBS; группа 2 (n = 7) — эксперимент (10 недель), инъекция 50 % раствора CCl_4 1 мкл/г веса животного в течение 10 недель; группа 3 (n = 8) — введение мезенхимальных стромальных клеток (МСК) через 1 неделю после прекращения инъекций тетрахлорметана (ТХМ): 2 особи — контроль, 2 особи — контроль+МСК, 4 особи — ТХМ+МСК (вывод из эксперимента проводили через 14 и 28 дней после введения МСК); группа 4 (n = 9) — резекция печени через 3 недели после прекращения инъекций тетрахлорметана (ТХМ): 2 особи — контроль, 5 особей — резекция (3, 7, 14, 21, 28 сут), 2 особи — ТХМ + резекция (вывод из эксперимента через 3, 7, 14, 21, 28 сут после резекции).

Для определения экспрессии гена Lin28A использовали образцы РНК выделенные с помощью коммерческого набора «Проба-НК» (ДНК-Технология, РФ). Обратную транскрипцию выполняли помощью набора «ОТ-1» (Синтол, РФ) согласно инструкции производителя. Использовали следующие праймеры Lin28A-F (AAACAAGTGTCAAACCAAGATTA), Lin28A-R (GCCCTGTGGAAATAACCT), B2M-F (CGAGACCGATGTATATGCTTGC), B2M-R (GTCCAGATGATTCAGAGCTCCA). Определение экспрессии выполняли с помощью амплификации в режиме реального времени по технологии SybrGreen по следующей программе (таблица 1).

Таблица 1 — Программа для проведения амплификации с целью анализа экспрессии

№	Этап	Температура, °C	Продолжительность	Количество циклов
1	Денатурация	95	10 мин	1
2	Денатурация	95	15 с	40
3	Отжиг / Элонгация	60	60 с	

Анализ результатов проводили с помощью модуля «Анализ данных» MS Excel 2010.

Результаты исследования и их обсуждение

Выполнено определение уровня экспрессии Lin28A у 31 крысы Wistar. В образцах печени, полученных от указанных лабораторных животных, значение экспрессии рассматриваемого гена находится в интервале 7,66–360,44 отн. ед.

Значения экспрессии гена Lin28A относительно контроля после 10 недель введения 50 % р-ра ТХМ, а также через 2 и 4 недели после введения суспензии МСК в портальную вену печени представлены на рисунке 1.

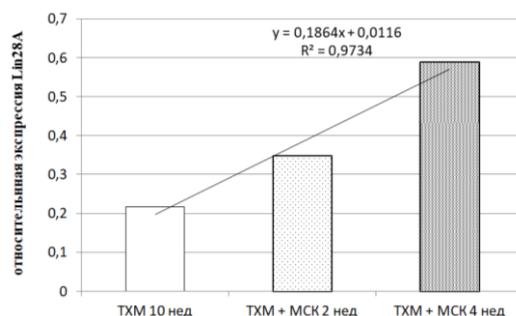


Рисунок 1 — Уровень экспрессии Lin28A в биоптатах печени у экспериментальных животных по отношению к контролю после прекращения введения ТХМ и через 2 и 4 недели после введения суспензии МСК

После прекращения хронического токсического воздействия у экспериментальных животных отношение исследуемого параметра по отношению к контролю (114,07 отн. ед.) равно 0,21. Таким образом, можно сделать вывод о том, что хроническое введение ТХМ приводящее к развитию токсического гепатита сопровождается снижением экспрессии Lin28A в печени крыс.

Через 2 и 4 недели после введения МСК наблюдается линейное увеличение ($R^2 = 0,97$) относительной экспрессии Lin28A до 0,35 и 0,59 соответственно. Таким образом, наблюдается постепенное восстановление значения указанного параметра. При сохранении выявленных темпов роста относительной экспрессии Lin28A практически полное восстановление может наступить через 8–10 недель после прекращения токсического воздействия.

В образцах печени, полученных от крыс линии Wistar, которые подвергались частичной гепатэктомии значения экспрессии рассматриваемого гена находится в интервале 34,37–132,23 отн. ед. (рисунок 2).

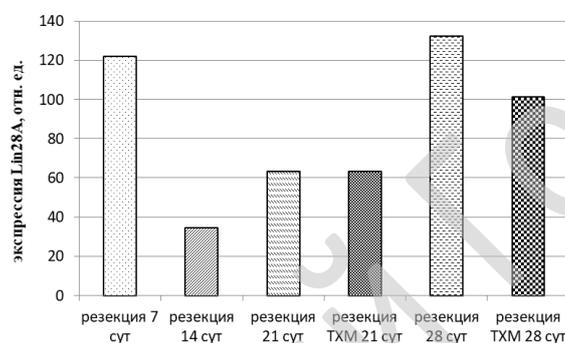


Рисунок 2 — Уровень экспрессии Lin28A в биоптатах печени у экспериментальных и интактных животных на различные сроки после резекции

Значение экспрессии на 7-е и 28-е сутки практически равны — 122,07 и 132,23 отн. ед. соответственно. Согласно представленным данным наблюдается снижение величины экспрессии на 14-е (34,37 отн. ед.) и 21-е сутки (63,20 отн. ед.) после частичной гепатэктомии по сравнению с таковой на 7-е и 28-е сутки.

Таким образом, высокое значение исследуемого параметра на 7-е сутки свидетельствует о завершении 1-го этапа регенерации печени, после чего наблюдается некоторое угнетение процесса восстановления и к 28 суткам значение Lin28A соответствует таковому у интактных животных из предыдущего эксперимента, что свидетельствует о завершении 2-й фазы регенерации.

Сравнение значений экспрессии исследуемого гена у животных подвергшихся хроническому токсическому воздействию показывает отсутствие различий на 21 сутки и снижение на 30,3 и 28 %, что соответствует вышеуказанным данным.

У животных, подвергшихся острому токсическому воздействию и введению МСК уровень экспрессии Lin28A в биоптатах печени (8,26 отн. ед.) в 1,98 раза меньше, чем в интактном контроле с МСК.

Заключение

Приведенные данные об изменениях величины экспрессии гена Lin28A в печени лабораторных животных из различных групп позволяют сделать вывод о том, что анализируемый показатель отражает функциональное состояние печени экспериментальных животных: ее повреждение в результате действия тетрахлорметана приводит к снижению величины экспрессии, а восстановление, в том числе и стимулированное введением стволовых клеток сопровождается увеличением относительного значения данного параметра. Таким образом, экспрессия гена Lin28A может служить маркером протекания процессов регенерации печени в норме и при ее токсических поражениях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ларвинюк, Р. Статистика трансплантации РБ на 01.09.2016 [Электронный ресурс] / Р. Ларвинюк // Международный центр «Донорство Диализ Трансплантация». — Режим доступа: <https://transplantology.net/statistika/>. — Дата доступа: 16.10.2019.
2. Иванов, Д. В. Клеточные технологии в лечение патологии печени / Д. В. Иванов, А. А. Хадарцев // Вестник новых медицинских технологий. — 2006. — Т. 12, № 2. — С. 185–187.
3. Lin28 enhances tissue repair by reprogramming cellular metabolism / N. Shyh-Chang [et al.] // Cell. — 2013. — Vol. 155, № 4. — P. 778–792.
4. Скуратов, Г. Тетраахлорметановая модель гепатита и цирроза печени у крыс / Г. Скуратов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2012. — № 9. — С. 37–40.

УДК 616-001.4-002.7:579.83:579.61:616-078-092

**ИЗОЛЯТЫ БАКТЕРИЙ, ПОЛУЧЕННЫЕ СО СРЕДЫ ОБОГАЩЕНИЯ:
КОНТАМИНАНТЫ РАНЕВОГО ДЕФЕКТА
ИЛИ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ ПАТОГЕНЫ?**

Ярец Ю. И.

**Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»
г. Гомель, Республика Беларусь**

Введение

Согласно инструктивному документу, действующему в Республике Беларусь, микробиота, выделенная при посеве раневого отделяемого только со сред обогачения считается контаминирующей [1]. С другой стороны, существуют международные рекомендации по процедуре взятия мазков из ран, которые позволяют стандартизировать преаналитический этап микробиологического исследования раневого отделяемого [2]. Поэтому при соблюдении необходимых требований этого этапа, посев биологического материала должен обеспечить выделение только клинически значимых изолятов, которые будут включены в авторизованный отчет лаборатории.

Отсутствие роста микроорганизмов при первичном посеве раневого отделяемого на плотные питательные среды можно объяснить существующими пределами чувствительности данного лабораторного метода исследования. Современные методы индикации и идентификации бактерий с помощью масс-спектрометрии показывают возможность обнаружения микроорганизмов в раневом отделяемом и при отрицательных результатах диагностического посева [3].

На современном этапе развития клинической микробиологии значительное внимание уделяется изучению адаптационных механизмов возбудителей инфекций в стрессовых условиях (например, при действии антибактериальных средств, физических методов лечения), при которых бактерии изменяют свою метаболическую активность и приобретают персистентные свойства. В ряде случаев нарушаются культуральные характеристики, поэтому такие бактерии могут не давать роста при первичном диагностическом посеве. При попадании в благоприятные условия роста, в частности, в среду обогачения, персистентные формы бактерий быстро рекультивируются с восстановлением своих вирулентных свойств [4]. В таких случаях переоценка отрицательных результатов первичного диагностического посева клинического материала может обусловить неправильную тактику лечения, а для персистентных форм бактерий создать условия для внутрибольничного распространения.

Цель

Сопоставить данные микробиологических посевов раневого отделяемого на плотные питательные среды и в среды обогачения.