

любовь в заднем проходе в интимной жизни, может заменить настоящую природную гармонию между мужчиной и женщиной. Таких преподавателей, носителей бредовых идей против здоровья необходимо дисквалифицировать, а институты, которые искажают истину и наносят вред здоровью народу и Государству следует закрывать, иначе, зараженное ложной информацией на научной основе Государство станет больны и исчезнет потому, что у лжи эволюции не существует.

Школы здравоохранения не должны отклоняться от своего истинного назначения - охранять здоровье, поэтому каждое научное действие должно логически завершаться здоровым смыслом. Иначе, пройдет время и к здравоохранению, преподающему вред здоровью, которое не хочет лечить по-настоящему больных, будут относиться как к анекдоту: «Кто не курит и не пьет, тот здоровеньким помрет», хотя все знают, что здоровые не умирают. Такое выражение имеет под собой почву потому, что пропаганда здорового образа жизни, особенно духовного, обычно берёт на себя не здравоохранение, а

какие-то духовные общества. Хотя все знают глаз, ухо, все органы человека и само здравоохранение с природой, с погодой не относятся ни к религиям, ни к верам, ни к сектам независимо от вероисповедания и от национальности самого человека. Тогда каким образом можно восстановить здоровье в здравоохранении, если нет предмета о нравственности и о духовности. Духовность здравоохранения не должна быть религией или сектой. Значит, для этого нужны определённые знания, которые могут эволюционировать и повышать здоровье людей.

Настоящее естественное преподавание в ВУЗе и в колледже обязательно должно быть нравственным, ответственным, гармоничным, приносящим всем людям в своём Государстве доходы супружеского, семейного счастья и богатства. Счастливые, здоровые люди помогут увеличить таланты, авторитеты преподавателей школ в своём родном Государстве, которое будет очень счастливым, успешным, богатым потому, что в нём имеются настоящие школы здорового нравственного здравоохранения.

*«Инновационные медицинские технологии»,
Россия (Москва), 13-15 ноября 2014 г.*

Биологические науки

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАИБОЛЕЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ АКТИВНОСТИ АПОПТОЗА В ОРГАНАХ КРЫС НА МОДЕЛИ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕТРАХЛОРМЕТАНА

Тышко Н.В., Селяскин К.Е., Тутельян В.А.
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
питания», Москва, e-mail: tnv@ion.ru

Исследование молекулярных механизмов, отвечающих за контроль процессов апоптоза, позволило выявить ряд диагностически значимых маркеров различных этапов гибели клетки. Поскольку апоптоз является эволюционно-консервативным системным процессом, обеспечивающим поддержание гомеостаза на протяжении всего периода жизни организма, показатели активности апоптоза можно рассматривать как интегральные биомаркеры, отражающие уровень адаптации организма к окружающей среде и обладающие высокой специфичной чувствительностью к воздействиям различной природы. Есть основания предполагать, что определение активности апоптоза может быть эффективно использовано в исследованиях, направленных на изучение влияния экзогенных воздействий, в том числе, низкотоксичных объектов.

Целью настоящей работы являлось выявление наиболее чувствительных методов опреде-

ления активности апоптоза на модели воздействия токсических факторов.

Эксперимент проведен на 70 крысах-самцах линии Вистар с массой тела $312,4 \pm 10,8$ г. Индукцию апоптоза вызывали путем внутрибрюшинного введения тетрахлорметана в дозе 0,08 и 0,48 мг/кг массы тела по сравнению с животными контрольной группы. Контрольной группе животных вводили равный объем физиологического раствора (0,14 М NaCl). Были изучены показатели, характеризующие начало эффекторного этапа апоптоза – содержание белков Bcl-2, Вах и p53, завершающую стадию эффекторного этапа – активность каспазы-3, а также этап деградации – уровень фрагментации ДНК, индекс апоптоза. Содержание белков Bcl-2, Вах и p53 определяли в печени, активность каспазы-3, уровень фрагментации ДНК и индекс апоптоза определяли в печени, почках, тимусе, головном мозге и костном мозге. Образцы органов отбирали для исследований через 6, 12 и 24 часа после внутрибрюшинной инъекции.

Содержание белков Bcl-2, Вах и p53 определяли с помощью иммуногистохимического исследования (метод двойных антител с иммунопероксидазной меткой). Были использованы моноклональные антитела Bcl-2 (кат. № ab7973), Вах (кат. № ab7977), p53 (кат. № ab4060) фирмы Abcam, Великобритания. Активность каспазы-3 определяли с помощью наборов «Caspase-3 As-

say Kit Colometric», Sigma, фрагментацию ДНК – методом ДНК-комет (по МР 4.2.0014-10), индекс апоптоза рассчитывали по формуле: Индекс апоптоза = (Количество апоптотических клеток / 1000 клеток) × 100%.

Обработку результатов исследования проводили с использованием пакета программ прикладного статистического анализа StatSoft STATISTICA 8.0.

После введения тетрахлорметана у животных на всех сроках эксперимента не наблюдалось каких-либо видимых проявлений токсического действия. На вскрытии также не было выявлено каких-либо макроскопических изменений внутренних органов. После введения тетрахлорметана в дозе 0,08 мг/кг, массы внутренних органов крыс опытной групп не отличались от аналогичных показателей у крыс контрольной группы на всех сроках отбора материала; через 24 часа после введения тетрахлорметана в дозе 0,48 мг/кг было отмечено повышение массы печени у крыс опытной группы: абсолютной – на 15%, относительной – на 20% по сравнению с контролем, при этом массы почек, тимуса и головного мозга не имели значимых различий между группами.

Через 6 часов после введения тетрахлорметана в дозе 0,08 мг/кг не отмечалось повышения содержания белков Bcl-2, Вах и p53, через 12 часов зарегистрировано повышение содержания белков Bcl-2 (на 33%, $p < 0,05$) и Вах (на 44%, $p > 0,05$), содержание белка p53 не отличалось от контрольного уровня. После введения тетрахлорметана в дозе 0,48 мг/кг, повышение содержания белков Bcl-2, Вах и p53 отмечено на всех сроках отбора образцов: через 6 часов – на 103% ($p < 0,05$), 115% ($p < 0,05$) и 40% ($p > 0,05$); через 12 часов – на 117% ($p < 0,05$), 149% ($p < 0,05$) и 89% ($p < 0,05$); через 24 часа – на 79% ($p < 0,05$), 68% ($p < 0,05$) и 56% ($p < 0,05$), соответственно.

Активность каспазы-3 в тимусе, мозге и костном мозге крыс после введения тетрахлорметана в дозе 0,08 мг/кг массы тела не отличалась от контрольного уровня на всех сроках отбора материала, тогда как в печени и почках было отмечено достоверное возрастание активности каспазы-3 через 24 часа после введения тетрахлорметана: в печени – на 48%, в почках – на 15%. После введения тетрахлорметана в дозе 0,48 мг/кг было отмечено достоверное увеличение активности каспазы-3 в печени (через 6 часов – на 21%, через 12 часов – на 17%, через 24 часа – на 99%), почках (через 24 часа – на 27%) и костном мозге (через 24 часа – на 60%). Изменений активности каспазы-3 в тимусе и головном мозге крыс не выявлено.

Характер изменений уровня фрагментации ДНК и индекса апоптоза в тканях крыс в целом соответствовал характеру изменений активности каспазы-3, однако изменения уровня фрагментации ДНК и индекса апоптоза проявлялись

на более ранней стадии: после введения тетрахлорметана в дозе 0,08 мг/кг массы тела достоверное возрастание уровня фрагментации ДНК и индекса апоптоза отмечено в печени через 12 и 24 часа: на 28 и 29%, и на 81 и 155%, соответственно. Также отмечено возрастание индекса апоптоза в почках – на 87 и 60% через 12 и 24 часа, соответственно. Не выявлено изменений уровня фрагментации ДНК в тимусе, почках, мозге и костном мозге, изменений индекса апоптоза – в тимусе, мозге и костном мозге. После введения тетрахлорметана в дозе 0,48 мг/кг было отмечено достоверное повышение уровня фрагментации ДНК и индекса апоптоза в печени (через 6 часов – на 74% и 82%, через 12 часов – на 102% и 190%, через 24 часа – на 156% и 189%), почках (через 12 часов – на 15% и 63%, через 24 часа – на 30% и 99%) и костном мозге (через 12 часов – на 11% и 14%, через 24 часа – на 19% и 22%). Изменений уровня фрагментации ДНК и индекса апоптоза в тимусе и мозге крыс не выявлено.

Таким образом, моделирование токсического воздействия путем внутрибрюшинного введения тетрахлорметана приводило к увеличению активности апоптоза в печени, почках и костном мозге лабораторных животных, при этом динамика изменений активности каспазы-3, уровня фрагментации ДНК и индекса апоптоза имели сходный характер: значения этих показателей возрастали постепенно, достигая максимума через 24 часа. Динамика изменения содержания белков Bcl-2, Вах и p53 имела иной характер, их содержание в печени начинало увеличиваться через 6 часов, достигая максимальных значений через 12 часов и снижаясь через 24 часа. Следует отметить, что время реализации каждой стадии апоптоза не зависело от использованных доз воздействующего фактора: начало эффекторного этапа отмечено через 6 часов, максимальное развитие эффекторного этапа – через 12 часов, завершение эффекторного этапа и этап деструкции – через 24 часа. Полученные данные соответствуют современным представлениям о молекулярных механизмах регуляции апоптоза и времени реализации стадий апоптоза.

На основании результатов исследований можно сделать вывод, что показатели, характеризующие завершающие этапы апоптоза, достигают максимальных значений через 24 часа, поэтому оптимальное время отбора образцов ткани для исследований данных показателей составляет 24 часа после однократного воздействия, при этом чувствительность изученных показателей снижается в ряду индекс апоптоза > уровень фрагментации ДНК > активность каспазы-3. Показатели, характеризующие начало эффекторного этапа апоптоза (содержание белков Bcl-2, Вах и p53), по чувствительности сопоставимы с показателем индекса апоптоза, однако оптимальное время отбора образцов тка-

ней для регистрации содержания данных белков составляет 12 часов после однократного воздействия.

Результаты получены в рамках прикладных научных исследований на средства субсидии Минобрнауки России, предоставленной из федерального бюджета (Соглашение № 14.604.21.0142).

Уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI604 14X0142. Шифр лота 2014-14-576-0160 по теме: «Использование показателей активности апоптоза в качестве биомаркеров воздействия генно-инженерно-модифицированных организмов на здоровье млекопитающих».

Медицинские науки

ДЕЙСТВИЕ ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ НА АРТЕРИИ

Ананьев В.Н.

Институт медико-биологических проблем РАН,
Москва, e-mail: noradrenalin1952@mail.ru

Актуальность исследования

При адаптации к холоду активируется симпатическая система. Известно, что адреналин, возбуждая постсинаптические альфа-1,2-адренорецепторы артерий производит к сокращению артерий [1, 2, 3]. Одновременно, адреналин возбуждает и бета-2-адренорецепторы артерий, что приводит к расширению артерий. Целью настоящей работы явилось изучение влияния блокады бета-адренорецепторов на реактивность артерий к адреналину, так как этот механизм мало изучен при холодовой адаптации.

Методы исследования

Для решения поставленных задач проведены исследования на кроликах самцах (массой

2,5-3,5 кг) под наркозом. Контрольную группу составили 30 кроликов, содержащиеся при температуре окружающей среды (+)18-22°C в течение 30-и дней. Холодовое воздействие проводилось ежедневно у 28 кроликов по 6 часов при температуре (-)10°C. Исследовали сосудистую ответную реакцию задней конечности при перфузии кровью этого же животного с помощью насоса постоянной производительности без обзидана и на фоне блокады бета-адренорецепторов артерий обзиданом (пропранолол). Адреналин в восьми дозах вводили перед входом насоса, изменения перфузионного давления регистрировали электроманометром и после преобразования АЦП регистрировали компьютером.

Результаты исследования и их обсуждение

У кроликов до и после холода (рис.1.) увеличение дозы адреналина ведет к увеличению пресорной реакции перфузионного давления (Pm).

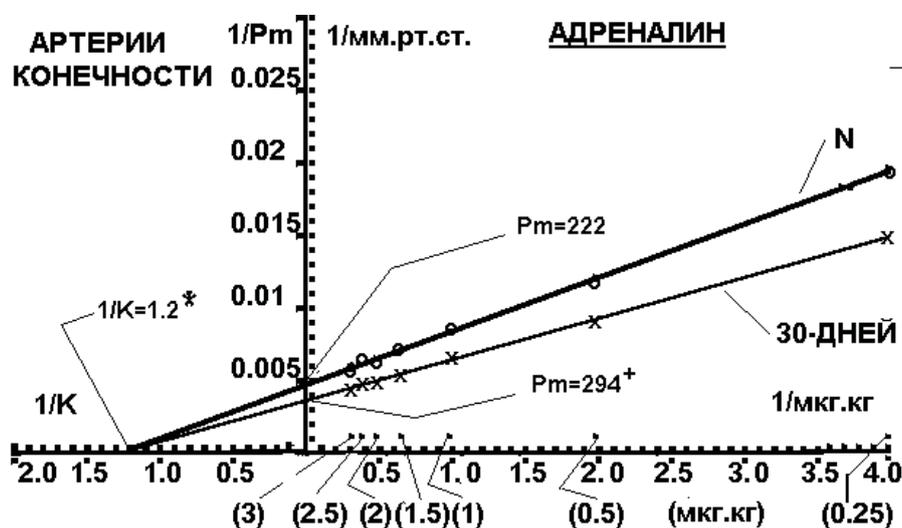


Рис. 1. Повышение перфузионного давления артериального русла задней конечности кролика на адреналин в двойных обратных координатах в контрольной группе (N) и после 30-дневной холодовой адаптации (везде $P < 0,05$)

На все дозы адреналина реактивность артерий была больше после холодовой адаптации. Количество активных альфа-адренорецепторов (рис.1) увеличилось с $P_m = 222$ мм.рт.ст. в контроле до $P_m = 294$ мм.рт.ст. после 30-дневной хо-

лодовой адаптации, то есть количество активных альфа-адренорецепторов рецепторов увеличилось в 1.32 раза или возросло на 32.3% по сравнению с контрольной группой. На (рис.2) представлены данные повышения перфузионно-