

|      | Диаметр лимфоидного фолликула, мкм | Расстояние между центрами фолликулов, мкм | АН клеток лимфоидных фолликулов, мкм | Общая клеточность красной пульпы в 0,01мм <sup>2</sup> | Содержание эритроцитов в красной пульпе в 0,01мм <sup>2</sup> | Содержание лейкоцитов в красной пульпе в 0,01мм <sup>2</sup> |
|------|------------------------------------|---|--------------------------------------|--|---|--|
| NaCl | 352,71±10,04                       | 436,57±8,49                               | 3,14±0,78                            | 317,57±9,92  | 166,00±5,43   | 171,14±4,16  |
| ММСК | 368,57±5,06                        | 449,00±12,00                              | 2,43±0,78                            | 334,00±7,14  | 181,14±7,02   | 169,14±5,31  |

### Выводы

1. Трансплантированные ММСК в физиологических условиях не приводят к изменению размеров фолликулов селезенки, не влияют на межфолликулярное пространство, запрограммированную гибель клеток в фолликулах селезенки, общую клеточность красной пульпы, а также на содержание эритроцитов и клеток белой крови в красной пульпе.

2. Трансплантированные ММСК при острой постгеморрагической анемии не приводят к изменению размеров межфолликулярного пространства, выраженности апоптоза, общей клеточности красной пульпы, содержания лейкоцитов в красной пульпе.

3. Трансплантированные ММСК при острой постгеморрагической анемии вызывают увеличение размеров фолликулов селезенки, а также повышение содержания эритроидных элементов в красной пульпе.

### Литература

1. Волков А.В. Использование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для стимуляции регенерации. Материалы Artif Organs, 2004 год.

2. Huang Weitao. Интерлейкин-17 А: фактор роста Т-клеточного происхождения мезенхимальных стволовых клеток человека и мыши. Журн. «Физиологическая биология: молекулярная и клеточная иммунология» 2008 №9.

3. Leung V.Y., Chan D., Cheung K.M. Regeneration of the intervertebral disc by mesenchymal stem cells: potentials, limitations, and future directions. Eur. Spine J. 2006; 15: S406-13.

tations, and future directions. Eur. Spine J. 2006; 15: S406-13.

4. Richardson S.M., Hoyland J.A., Mobasheri R. et al. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: opportunities and challenges for articular cartilage and intervertebral disc tissue engineering. J. Cell. Physiol. 2010; 222(1): 23-32.

### THE INFLUENCE OF MMSC ON THE MORPHOMETRIC FEATURES OF SPLEEN IN PHYSIOLOGICAL CONDITIONS AND IN THE CONDITION OF ACUTE BLOOD LOSS

Bulmaga I.I., Chrushev S.A.

*Department of pathological physiology of the Ural State Medical Academy.*

*Russia, city Ekaterinburg*

Stromal cells attract much attention from experimental investigators and from practical doctors. The most interesting one for the doctors are multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC). MMSC are widely investigated as they are easily extracted from the aspirate of bone marrow. They rapidly form a colony and in a period of 10 weeks cultivation 50 doubling of clone population from one cell takes place. MMSC are shown to differentiate in to osteoblasts, adipocytes, chondrocytes, myocytes, astrocytes, oligodendrocytes and neurons.

### ИЗМЕНЕНИЕ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА И ГОРМОНАЛЬНОГО ФОНА В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ПОДКОРМКИ «БЕЛЫЙ ШЛАМ» В РАЦИОНЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Буханцев В.А., Ошурков П.А., Филимонова П.А.

*ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздрава России  
Лаборатория молекулярных медицинских технологий Средне-Уральского научного центра РАН  
и Правительства Свердловской области  
Кафедра медицинской биологии и генетики*

*Контактный e-mail: oshurkov.p@gmail.com*

В ранее выполненных исследованиях нами был показан стимулирующий эффект белого шлама (БШ) в отношении синтеза белка и, тем самым, способность активировать процессы, приводящие к клеточной гипертрофии, проявляющейся весовыми прибавками в группах опытных животных.

Наряду с этим продемонстрировано снижение проницаемости клеточных мембран для жирных кислот и глюкозы, что свидетельствует о повышении резистентности к глюкозе и активации процессов клеточного липолиза. В связи с этим, нами была предпринята попытка поиска дополнительного регуляторного звена БШ-обусловленных процессов.

С целью поиска возможного механизма, приводящего к гипертрофии, нами исследовался уровень соматотропного гормона (СТГ) как наиболее вероятного претендента на роль ключевого звена наблюдаемой картины благодаря

характерному липолитическому эффекту, сопровождающему СТГ-индуцируемую гипертрофию.

В то же время повышение молокоотдачи нельзя в полной мере объяснить СТГ-индуцируемой гипертрофией, для чего была предпринята попытка изучения параметров рецепторов к пролактину, как гормона, регулирующего лактацию.

**Цель исследования** - изучение состояния рецепторного аппарата клеток к соматотропному гормону (СТГ) и пролактину (ПЛ) в условиях применения белого шлама в качестве добавки в рацион сельскохозяйственных животных.

#### Материалы и методы исследования

Концентрацию СТГ определяли методом усиленной хемилюминесценции на аппарате «Amerlit» с использованием тест-системы фирмы Amersham Biosciences (UK).

Исследование проводилось на культуре стромальных механоцитов костного мозга КРС, выделенных на основа-

нии признака адгезии к пластику, с использованием радиофармпрепаратов производства Amersham Biosciences (UK).

Костный мозг из костей выделяли по стандартной методике [1]. Полученную культуру клеток инкубировали в среде RPMI 1640, в присутствии меченых предшественников синтеза макромолекул, при 37° С, в течении 40 минут.

Для оценки параметров рецепторов стромальных механицитов использовался радиолигандный метод с расчетом по Скетчарду [2].

Связывание гормонов с рецепторами клетки изучалось *in vitro* в диапазоне концентраций  $1 \cdot 10^{-10}$  –  $1 \cdot 10^{-8}$  М с шагом 0.25 порядка. Неспецифическое связывание гормонов оценивали при инкубации клеток с мечеными гормонами в присутствии 100 кратного избытка немеченого гормона. Время инкубации составляло 30 минут. По окончании клетки осаждали на миллиметровые фильтры с диаметром пор 450 мкм и радиометрировали в толуоловом синтиллаторе. Каждый анализ проводился с 5-ти кратным повторением.

Исследование концентрации внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата проводилось радиоиммунным анализом с использованием наборов производства фирмы Amersham Biosciences (UK).

Для подсчета радиоактивности использовали автоматический жидкостный синтилляционный счетчик «Бета-2».

Статистическая обработка полученных материалов проводилась с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Excel 2004 for Macintosh».

#### Результаты исследования и их обсуждение

Определение концентрации СТГ в плазме животных, получавших в свой рацион БШ, показало, что она имеет тенденцию к снижению, по сравнению с интактными животными ( $2.0 \pm 0.15$  нг/мл в контроле и  $1.6 \pm 0.12$  нг/мл у животных в опыте). Однако концентрация гормонов далеко не

всегда свидетельствует об их эффекте, определяемом, как известно, взаимодействием «лиганд-рецептор» и цепью последующих событий.

Поэтому результаты привели нас к необходимости исследования прямого механизма действия гормонов.

Согласно известных сведений, действие гормонов зависит от наличия на клеточных структурах высокоспецифичных (высокоаффинных) мест связывания – рецепторов (константа ассоциации – менее  $10^{-7}$  Моль). Гормоны, к которым имеются рецепторы на наружной клеточной мембране (пептидные, протеоидные, в том числе СТГ), имеют большую массу и/или нерастворимы в липидах. Для передачи сигнала от внутренней части этих рецепторов к ДНК требуется наличие посредников (тирозин-киназа Jak, Src, Fes, Tec, Syk, фосфорилирующих тирозинные основания внутриклеточной части рецепторов, и факторов сигнальной трансдукции – Stats, димеризующихся под влиянием тирозин-киназ путем фосфорилирования) [3]. По мере передачи сигнала процесс фосфорилирования сопровождается увеличением внутриклеточной концентрации циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и поступлением в клетку ионов кальция. Поэтому электролитная среда тканей имеет большое значение для взаимодействия гормона с рецепторами.

Если принять во внимание состав БШ, представляющий собой солевой комплекс, тогда изменение ион-зависимых параметров рецепторных структур под влиянием БШ представлялось нам вполне вероятным.

Оказалось, что у животных, получавших БШ, на мембранах фибробластов регистрируются не только большее число сайтов связывания (рецепторов) для СТГ, но и больший аффинитет этих рецепторов к гормону (Табл. 1). При этом подобное проявление не подменяет эффект гормона, но сходно с действием высоких концентраций СТГ.

Таблица 1

Число связывания, сродство к лиганду (аффинитет) и емкость рецепторов на клетках животных.

| Гормон    | Параметры рецепторов у интактных животных |                   |                     | Параметры рецепторов у животных, получавших БШ |                   |                  |
|-----------|---|-------------------|---------------------|--|-------------------|------------------|
|           | Число сайтов, п<br>fM                     | Аффинитет,<br>Кас | Емкость, п x<br>Кас | Число сайтов п,<br>fM                          | Аффинитет,<br>Кас | Емкость, п x Кас |
| СТГ       | 0.670±487.0                               | 8,054±1,281       | 6,314               | 1,182±0,246 *                                  | 21,473±4,284 *    | 25,381           |
| Пролактин | 0,709±0,108                               | 15,490±4,152      | 10,982              | 0,720±0,100                                    | 28,080±5,126 *    | 20,218           |

\*- здесь и далее различия достоверны ( $p \leq 0,05$ )

Маркером процесса взаимодействия «СТГ-рецептор» является внутриклеточный уровень цАМФ, что нашло подтверждение в прямом исследовании его концентрации (Табл. 2). В свою очередь, увеличение связывающей спо-

собности клеточных рецепторов, по механизму обратной связи, должно приводить к уменьшению доли циркулирующего (свободного) СТГ.

Таблица 2

Концентрация цАМФ в клетках животных, в пМоль/10<sup>6</sup> клеток.

| Параметр   | Интактные животные | Животные, получавшие БШ |
|--|--------------------|-------------------------|
| Концентрация цАМФ в клетках животных без инкубации с плазмой | 0,76±0,03          | 1,43±0,02 *             |
| Концентрация цАМФ в клетках животных под влиянием плазмы     | 0,87±0,01          | 1,14±0,06 *             |

Полученные результаты позволяют объяснить превосходящее увеличение массы животных при скормливании БШ ростом эффективности функционирования рецепторов для СТГ. Это сопровождается активацией синтеза белка с увеличением мышечной и костной массы, возрастанием проницаемости клеточных мембран для субстратов и, одновременно, распадом гликогена, толерантностью к глюкозе, активацией липолиза и кетонобразования.

Принимая во внимание исключительно минеральный состав БШ, обуславливающий неспецифику влияния на клетки, можно предположить, что подобный эффект на рецепторы универсален и реализуется в отношении других гормонов, имеющих белковую природу.

Выявленную закономерность нам удалось проследить и для рецепторов пролактина (в данном исследовании был применен имеющийся рекомбинантный меченый человеческий аналог, обладающий большинством общих детерминант, характерных для всех млекопитающих). Выяснилось, что аффинитет рецепторов на фибробластах для пролактина под влиянием плазмы животных, получавших БШ, так же возрастает (Табл. 1). Подобное достаточно эффективно позволяет объяснить пролактин-индуцируемое увеличение лактации (молокоотдачи), регистрируемое у телок.

Эти данные позволили построить концепцию, согласно которой основной механизм увеличения массы животных обусловлен БШ-индуцированным повышением функционирования мембранных рецепторов к белковым гормонам.

## Выводы

1. Внесение БШ в рацион сельскохозяйственных животных приводит к увеличению числа сайтов связывания и повышению аффинитета рецепторов к белковым гормонам.

2. Повышение эффективности гормонального воздействия сопровождается СТП-индуцируемой гипертрофией клеток, с ростом массы животных на фоне снижения проницаемости мембран к жирным кислотам и глюкозе.

3. Возможный механизм увеличения молокоотдачи у животных опытной группы может быть связан с пролактин-индуцированным повышением лактации вследствие повышения эффективности передачи специфического гормонального сигнала в клетки.

## Литература

1. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры тканей в гематологии. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. – 264 с.

2. Келетн Т. Основы ферментативной кинетики. – М.: Мир, 1990. – 348 с.

3. Brody T.M., Lerner J., Minneman K.P. Human Pharmacology Molecular to Clinical (3rd ed.) 1998 Mosby year Book Inc. 1001 p.

## CHANGE RECEPTOR SYSTEM AND HORMONE OF FEEDING IN THE "WHITE SLIME IN DIET OF FARM ANIMALS

V.A. Buhantsev, P.A. Oshurkov, P.A. Filimonova

The article deals with changes in receptor system and hormone use in feeding the "white mud" in the diet of farm animals.

## ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ С ЦЕЛЬЮ ПРОФИЛАКТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Буханцев В.А., Ошурков П.А., Филимонова П.А., Ганага Н.С., Довженко Е.И., Минин В.В., Дьячков И.А.

*ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздрава России  
Лаборатория молекулярных медицинских технологий Средне-Уральского научного центра РАМН  
и Правительства Свердловской области  
Кафедра медицинской биологии и генетики*

*ФГУН «ЕМНЦ профилактики и охраны здоровья рабочих промышленных предприятий Роспотребнадзора»*

*Контактный e-mail: oshurkov.p@gmail.com*

Среди городов Свердловской области существовала и существует проблема онкозаболеваемости населения. Однако в некоторых населенных пунктах эта проблема стоит наиболее остро. К таким территориям относится «Муниципальное образование г. Карпинск».

За предыдущее десятилетие в Карпинске было зарегистрировано превышение над среднеобластным уровнем встречаемости онкопатологии пищевода – в 2.6 раза, полости рта – в 2.3 раза, почки – в 2.2 раза, гортани – в 2 раза, губ – в 1.7 раза, печени в 1.6 раза, легкого и желудка в 1.4-1.5 раз.

Среди наиболее часто встречающихся локализаций опухолей в Карпинске зарегистрировано сравнительно небольшое среднестатистическое превышение онкопатологии легких (8.43 дополнительных случая на все население в среднем в год), желудка (7.0), ободочной (3.52) и прямой кишки (0.66).

Дополнительные случаи онкопатологии перечисленных органов и систем (в сумме 19.61) оставляют место для злокачественных новообразований пищевода, лейкозов и лимфом, онкозаболеваний ротовой полости, губ и гортани (в сумме 10.2 дополнительных случая).

Согласно перечня заболеваний, патологических процессов и состояний, определенных для оценки и прогнозирования тератогенного и мутагенного эффекта внешних воздействий (ВОЗ, 1989), превышение уровня онкопатологии у населения над среднетерриториальным уровнем однозначно указывает на присутствие в окружающей среде мутагенных геном-активных факторов.

Проведенный анализ экологических и медицинских данных по территории г. Карпинска и собственные исследования позволили предположить, что основными факторами мутагенеза, обуславливающими превышение уровня онкопатологии, является сочетание и взаимоусиливающее действие природных факторов среды в комплексе с высо-

ким содержанием в почве и подземных водах металлов так называемого «тухололитового комплекса»: урана, титана, циркония, цинка, меди, свинца, хрома, бериллия и других редко встречающихся в природе элементов, а так же техногенными поллютантами – бензо(а)пиреном, образующимся при сгорании местного угля, фторсодержащей пылью, определяемой в выбросах Богословского алюминиевого завода. При этом естественная радиоактивность радона, торона и их дочерних продуктов распада играют роль проводника в клетки и усилителя эффектов других средовых патогенных факторов. «Точкой приложения» сочетанного и взаимоусиливающего действия комплекса патогенных факторов окружающей среды является генетический аппарат, структурные изменения которого способны обеспечить развитие отклонений, наблюдаемых у населения Карпинска.

Широкий спектр неблагоприятных для здоровья эффектов хронической экспозиции комплекса неорганических соединений металлов и неметаллов, ионизирующего излучения и стойкость загрязнения ими среды обитания делают высокоактуальной задачу поиска таких средств, которые, будучи безвредными даже при длительном применении, способствовали бы, с одной стороны, уменьшению задержки токсических веществ в организме и способствовали бы их выведению, а с другой – ослаблению вызываемых ими патологических изменений и в первую очередь – генотоксического эффекта.

Наиболее удачным термином, обозначающим направленность на уменьшение токсического действия и выведение токсинов из организма, является биологическая профилактика. Сам термин подчеркивает, что речь идет о воздействии не на вредные факторы среды, а на реактивность организма по отношению к ним, то есть на биологические предпосылки, обеспечивающие развитие профессиональной или экологической патологии.