узгоджуються з наведеними вище результатами молекулярно-генетичного дослідження. Встановлено, що пухлинні клітини КРА характеризуються середнім рівнем клітинної проліферації: медіана експресії Кі-67 складає 41,20 (36,62; 59,42) %. При цьому має місце зворотній середньої сили кореляційний зв'язок (r=-0.41) між показником рівня експресії Кі-67 пухлинними клітинами і показником глибини інвазії pT КРА. Ці данні свідчать щодо зниження рівня проліферативної активності ракових клітин за умов збільшення глибини інвазії, тобто, прогресування КРА.

Підсумок. При прогресії колоректальної аденокарциноми від I до IV стадії проліферативна активність пухлинних клітин знижується, що вірогідно обумовлюється зниженням транскрипційної активності гену Кі-67.

ВИКОРИСТАННЯ ЧУТЛИВИХ ДО В'ЯЗКОСТІ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ БАРВНИКІВ ДЛЯ ОЦІНКИ ДЕГРАДАЦІЇ ГІДРОГЕЛЮ АЛЬГІНАТУ В ТКАНИНІ МІОКАРДА

Т.В. Шканд[1], А.Л. Татарець[2], М.О. Чиж[1], І.В. Слета[1], І.В. Бєлочкіна[1]
[1] Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України
[2] Державна наукова установа "Науково-технологічний комплекс "Інститут монокристалів" НАН України"
м. Харків, Україна

E-mail: altatarets@gmail.com

Полімерні гідрогелі, які біодеградують, в тому числі альгінатні полісахаридні гідрогелі, використовуються в медицині як хірургічні імплантати, зокрема, для запобігання серцевій аневризмі в період після інфаркту і для лікування прогресуючої хронічної серцевої недостатності. Біоматеріали на основі гідрогелю також використовуються в клінічній фармакології в якості транспортних систем для цілеспрямованої доставки ліків і клітин. Реологічні властивості гідрогелів є важливими параметрами для конкретного біологічного і медичного застосування, а також для розробки нових ін'єкційних біоматеріалів. Важливою вимогою для біосумісних імплантатів є здатність контрольованої біодеградації з утворенням і виведенням з організму продуктів розпаду.

Для відстеження гідрогелів in vivo в біологічних тканинах можуть бути використані високочутливі флуоресцентні методи. Важливо відзначити, що в опублікованих дослідженнях використовували барвники, які є нечутливими до навколишнього середовища, тобто їх спектральні характеристики є нечутливими до змін в'язкості, полярності або гідрофільності середовища. Такі барвники не дозволяють характеризувати реологічні властивості гідрогелю та / або відрізняти сигнал люмінесценції від барвника, пов'язаного з: 1) високов'язким, ще не

деградованим щільним гідрогелем, 2) низьков'язким гідрогелем і продуктами розкладання, і 3) вільного барвника, що видаляється зі зруйнованого гідрогелю, тому що всі ці види мають приблизно однакові характеристики флуоресценції. Тому метою даного дослідження було вивчення можливостей барвників Seta-470 і Seta-560, чутливих до в'язкості, в поєднанні з барвником Seta-650, нечутливим до в'язкості, для диференціації між густим альгінатним гідрогелем і його продуктами деградації з низькою в'язкістю в тканині міокарда щурів, що особливо важливо для клінічних застосувань альгінатного гідрогелю в якості біодеградуючого імплантату і цільового носія для доставки ліків.

Щільні гідрогелі альгінату натрію, мічені досліджуваними барвниками вводили in situ на глибину 1 мм в міокард лівого шлуночка живих щурів. Серця щурів виділяли відразу ж після введення і через певний час протягом 12 тижнів, заморожували, розрізали в місті максимальної концентрації імплантату і фіксували зображення.

Люмінесцентні барвники Seta-470, Seta-560 і Seta- 650 поглинають / випромінюють в синьо-зеленій, зеленій/помаранчевій і червоній /червоній областях спектру відповідно. Чіткі спектри збудження і випромінювання цих барвників дозволяють роздільно реєструвати сигнали їх флуоресценції (зелені, помаранчеві і червоні канали) з використанням відповідних джерел збуджуючого світла та світлофільтрів. Сигнал флуоресценції від зразка був отриманий шляхом опромінення світлодіодом через смуговий фільтр на відстані 10 см. Флуоресцентні зображення записувалися з використанням кольорової цифрової камери NIKON D610.

Протягом близько 3 тижнів спостерігали незначне (до 15%) монотонне зменшення площі альгінату, забарвленого Seta-650, що вказує на помірну резорбцію альгінату. Одночасно області флуоресценції Seta-470 і Seta-560 значно зменшуються і стають майже невиявними приблизно через 5,5 тижнів, тоді як флуоресценція Seta-650 залишається в зоні імплантації протягом щонайменше 12 тижнів.

Період напіврозпаду щільного гідрогелю в міокарді, який розраховували за профілями зменшення площі флуоресценції, отриманий з барвниками Seta-470 і Seta-560, становив близько 6-8 діб.

Періоди напіввиведення, отримані шляхом флуоресцентної візуалізації альгінатного гідрогелю, імплантованого в міокард щурів, також добре корелювали з гістологічними даними. Гістологічний аналіз свідчив про те, що розмір альгінатної бляшки, що утворилася протягом 1 год після ін'єкції, зменшувався в 20 разів протягом 5,5 тижнів.

Відомо, що при формуванні великого гострого інфаркту міокарда ймовірність розвитку серцевої аневризми зростає в ранньому періоді після інфаркту до 4-7 днів. Висновки про період напіврозпаду щільного гідрогелю в міокарді щура до 6-8 днів в нормі свідчать про те, що наявність імплантату в'язкого альгінату протягом цього часу буде перешкоджати розвитку розриву стінки лівого шлуночка в постінфарктний період. Цього часу достатньо для усунення некротичного міокарда та утворення нової сполучної тканини. Витримуючи критичний поріг 7 днів,

імплантат запобігає розвитку ускладнень інфаркту міокарда і бере участь у формуванні сполучнотканинного рубця.

Таким чином, продемонстровані унікальні властивості двох чутливих до в'язкості флуоресцентних барвників Seta-470 і Seta-560 для відстеження біодеградації щільного альгінатного гідрогелю (імплантату), уведеного in situ в тканину міокарда, і визначення реологічного стану гідрогелю. З використанням цих барвників, було виявлено, що період напіврозпаду щільного альгінатного гідрогелю міокарді щурів становив 6-8 діб. Період напіввиведення щільного гідрогелю в міокарді є достатнім для запобігання розриву аневризми лівого шлуночка, що є одним з важких ускладнень в ранньому періоді після інфаркту. Використовуючи нечутливий до в'язкості барвник Seta-650, було продемонстровано, що деградований високомолекулярний альгінат (молекулярна маса близько 350 кДа) залишається в зоні імплантації в міокард щура протягом щонайменше 12 тижнів.

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ ЛІМФАТИЧНОГО РУСЛА СЕРЦЯ НА ЕТАПАХ ПРЕНАТАЛЬНОГО ПЕРІОДУ ОНТОГЕНЕЗУ

О.О. Яковець, С.В. Козлов
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
м.Дніпро, Україна

E-mail: yalenka81@gmail.com

Вступ. Питанням походження, формування та розвитку лімфатичного русла серця приділяється недостатньо уваги зі сторони дослідників кардіогенезу. Лімфатична система серця окрім дренажної функції приймає участь в підтриманні балансу рідини, транспорті білків та пересуванні імунних клітин. Пренатальний період розвитку відрізняється значною інтенсивністю проліферативних та міграційних процесів, завдяки чому відбувається формоутворення та морфогенез лімфатичної судинної ланки вінцевої системи серця. У зв’язку з чим вивчення джерел походження лімфатичних ендотеліальних клітин, етапів диференціювання та спеціалізації лімфатичних судин серця упродовж онтогенезу є актуальним.

Метою роботи було вивчення ролі транскрипційного фактору Prox1 в формуванні лімфатичного судинного русла серця людини.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження було проведено на серцях ембріонів та плодів людини з 5-го по 24-й тиждень розвитку. Для виконання поставленої мети дослідження був використаний комплекс методів, які включали гістологічний метод (забарвлення мікропрепаратів гематоксиліном та еозином), імуногістохімічне дослідження з визначенням ступеня експресії білка транскрипції Prox1. Імуногістохімічне забарвлення парафінових зрізів проводилась відповідно до