

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

**Учреждение образования
«Международный государственный экологический институт
имени А.Д. Сахарова»**

Белорусского государственного университета

ФАКУЛЬТЕТ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

**КАФЕДРА ОБЩЕЙ ЭКОЛОГИИ, БИОЛОГИИ И
ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ**

**АПОПТОЗ ЛИМФОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С КОСТНО-
МЫШЕЧНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ**

Дипломная работа

Специальность 1-80 02 01 Медико-биологическое дело

Исполнитель:

студент 5 курса группы 32061

дневной формы обучения

_____ Якимович Екатерина Сергеевна

Научный руководитель:

канд. биол. наук

_____ Коктыш Ирина Владимировна

К защите допущена:

Заведующий кафедрой

общей экологии, биологии и

экологической генетики

доктор биол. наук, доцент

_____ Смолякова Раиса Михайловна

МИНСК 2018

РЕФЕРАТ

Апоптоз лимфоцитов у пациентов с костно-мышечной патологией: 58 страниц, 23 рисунка, 5 таблиц, 49 источников, 2 приложения.

Деформирующий остеоартроз, апоптоз, лимфоциты, культура клеток, повреждение ДНК лимфоцитов, гель-электрофорез одиночных клеток (метод ДНК-комет), флуоресценция.

Цель работы: оценить особенности апоптоза лимфоцитов у пациентов с деформирующим остеоартрозом, подвергавшихся консервативному или оперативному лечению.

Методы исследования: культуральный, микроскопический, флуоресцентный, электрофоретический, статистический.

Произведена оценка апоптоза в 48-ми часовой культуре лимфоцитов у 30 пациентов с деформирующим остеоартрозом, подвергавшихся консервативному или оперативному лечению. Оптимизирован морфологический метод оценки апоптоза в культуре клеток лимфоцитов у пациентов с костно-мышечной патологией. Установлены оптимальные время (10 минут) и температура инкубации (37 °C), концентрация клеток в суспензии (2×10^6 /мл) и концентрация флуоресцентного красителя (2 мкг/мл акридинового оранжевого). В результате морфологической оценки признаков апоптоза лимфоцитов не выявлено статистически значимых различий в относительном содержании апоптотических лимфоцитов у пациентов с консервативным и оперативным лечением. Однако при исследовании степени поврежденности ядерной ДНК лимфоцитов у пациентов с деформирующим остеоартрозом после эндопротезирования выявлено статистически значимое увеличение длины «головы» кометы ($p=0,04$) и уменьшение значения момента «хвоста» ($p=0,03$) нуклеоида лимфоцитов, что свидетельствует о том, что у пациентов после проведенного эндопротезирования в клетках лимфоцитов наблюдается уменьшение деградации ядерной ДНК.

Результаты работы могут быть использованы для комплексной оценки функциональной активности лимфоцитов у пациентов с костно-мышечной патологии и в учебном процессе в качестве методов оценки апоптоза в культуре клеток лимфоцитов.

Область применения: Образование, биология, медицина.

РЭФЕРАТ

Апоптоз лімфацытаў у пацыентаў з касцёва-мышачнай паталогіяй: 58 старонак, 23 рысунка, 5 табліц, 49 крыніц, 2 прыкладаньня.

Дэфармуючы астэартроза, апаптоз, лімфацыты, пашкоджанні ДНК лімфацытаў, культура клетак, метады ацэнкі апаптоза, гель-электрафарэз адзінкавых клетак (метады ДНК-камет), флуарэсцэнцыя.

Мэта работы: ацаніць асаблівасці апоптоза лімфацытаў у пацыентаў з дэфармуючым астэартрозам, якім учынялася кансэрватыўнае або апэратыўнае лячэнне.

Метады даследавання: культуральны, мікраскапічны, флуарэсцэнтны электрафарэтычны, статыстычны.

Праведзена ацэнка апоптоза ў 48-мі гадзіннай культуры лімфацытаў у 30 пацыентаў з дэфармуючым астэартрозам з розным тыпам лячэння. Аптымізаваны марфалагічны метады ацэнкі апоптоза ў культуры клетак лімфацытаў у пацыентаў з касцёва-мышачнай паталогіяй. Устаноўлены аптымальны час (10 хвілін) і тэмпература інкубацыі (37 °C), канцэнтрацыя клетак у суспензіі (2×10^6) і канцэнтрацыя флуарэсцэнтнага фарбавальніка (акрыдзінавы аранжавы 2 мкг/мл). У выніку марфалагічнай ацэнкі прыкмет апоптоза лімфацытаў не выяўлена статыстычна значных адрозненняў у адноснай колькасці апаптатычных лімфацытаў у пацыентаў з кансэрватыўным і апэратыўным лячэннем. Аднак пры даследаванні ступені пашкоджання ядзернай ДНК лімфацытаў у пацыентаў з дэфармуючым астэартрозам пасля эндапратэзавання выяўлена статыстычна значнае павелічэнне дыяметра «галавы» каметы ($p=0,04$) і памяншэнне значэння моманту «хваста» ($p=0,03$) нуклеоида лімфацытаў, што сведчыць аб тым, што ў пацыентаў пасля праведзенага эндапратэзавання ў клетках лімфацытаў назіраецца памяншэнне дэградацыі ядзернай ДНК.

Вынікі работы могуць быць выкарыстаны для комплекснай ацэнкі функцыянальнай актыўнасці лімфацытаў у пацыентаў з касцёва-мышачнай паталогіяй і ў навучальным працэсе ў якасці метадаў ацэнкі апоптоза ў культуры клетак лімфацытаў.

Вобласць прымянення. Адукацыя, біялогія, медыцына.

ABSTRACT

The lymphocyte apoptosis in patients with musculoskeletal pathology: 58 pages, 23 figures, 5 tables, 49 references, 2 annexes.

Osteoarthritis, apoptosis, lymphocytes, cell culture, damage of lymphocyte DNA, single cell gel electrophoresis assay (comet assay), fluorescence.

Aim of work: to evaluate the features of lymphocyte apoptosis in patients with osteoarthritis undergoing conservative or surgical treatment

Research methods: cultural, microscopic, electrophoretic, fluorescence, statistical.

An apoptosis was evaluated in a 48-hour culture of lymphocytes in 30 patients with osteoarthritis with different type of treatment. The morphological method of apoptosis evaluation in the lymphocyte cell culture in patients with musculoskeletal pathology was optimized. Optimal incubation time (10 minutes), incubation temperature (37 °C), cell concentration in suspension (2×10^6) and concentration of fluorescent dye (acridine orange 2 µg/ml) were established. As a result of the morphological assessment of the signs of lymphocyte apoptosis, no statistically significant differences in the relative content of apoptotic lymphocytes were revealed in patients with conservative and surgical treatment. However, in the study of the degree of damage of the lymphocyte nuclear DNA in patients with osteoarthritis after hip or knee replacement revealed a statistically significant increase of the length of the comet "head" ($p=0.04$) and a decrease of the moment of "tail" ($p=0.03$) of the nucleoid of lymphocytes. This suggests that it's observed a decrease in the degradation of nuclear DNA in patients after the hip or knee replacement.

The results of the work can be used for a complex evaluation of the functional activity of lymphocytes in patients with musculoskeletal pathology and in the educational process as methods for apoptosis evaluating in the cell culture.

Application. Education, biology, medicine.