

ПРИЛОЖЕНИЯ

к статье «Концепция природной реконструкции генома.

Часть 5. Анализ изменения продолжительности жизни старых животных после реинфузии клеток костного мозга старых животных, обработанных hDNA^{9r} и ангиогенином рекомбинантным человеческим»

В.С. Рузанова, Л.Ю. Гривцова, С.Г. Ошихмина, А.С. Проскурина, Г.С. Риттер, Е.В. Долгова, С.С. Кирикович, Е.В. Левитес, Я.Р. Ефремов, Т.Д. Дубатолова, М.И. Мещанинова, А.Л. Мамаев, О.С. Таранов, С.В. Сидоров, О.Ю. Леплина, А.А. Останин, Е.Р. Черных, Н.А. Колчанов, А.С. Брюховецкий, С.С. Богачев

Приложение 1. Патоморфологический анализ органов и тканей мышей

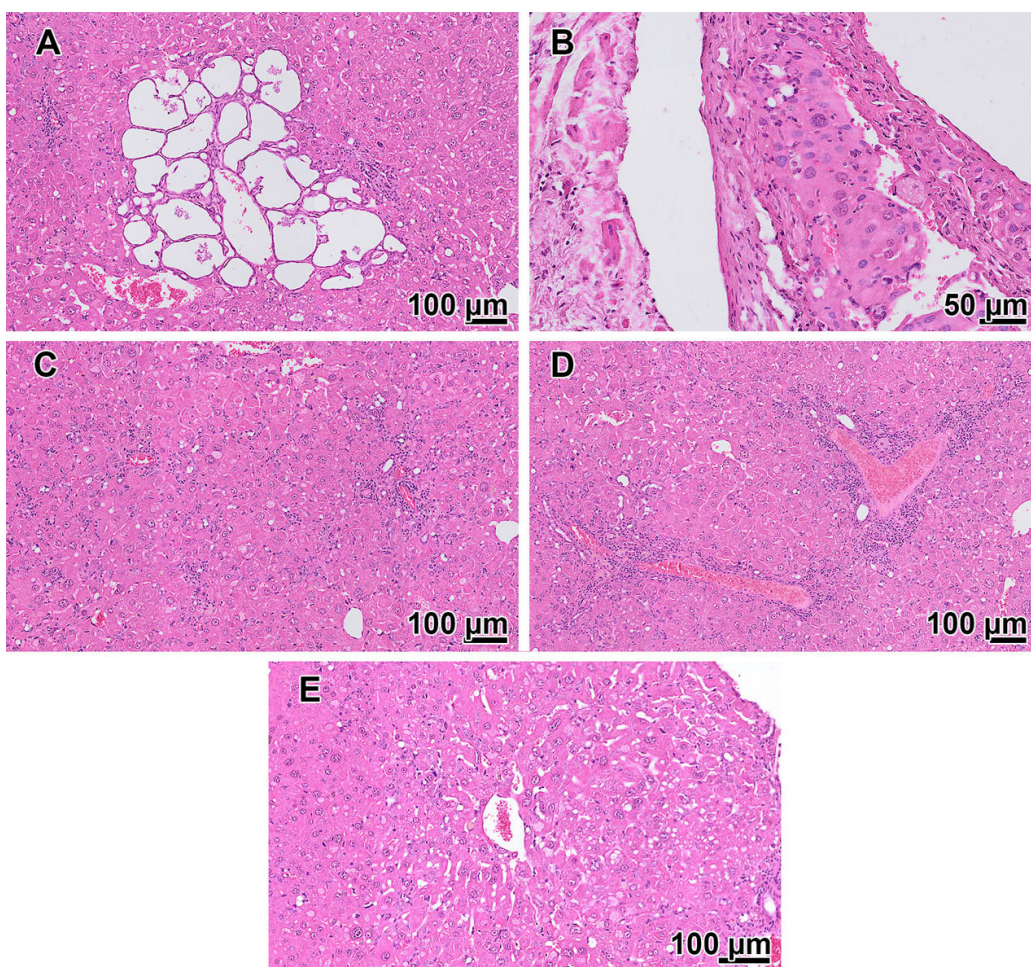


Рис. 1. Патоморфологический анализ органов и тканей мыши после введения клеток костного мозга, обработанных ангиогенином, через 11 месяцев после обработки в терминальной (предсмертной) стадии развития симптомокомплекса.

А – опухолевая ткань в печени с образованием многокамерной кистозной полости; В – атипичные клетки в паренхиме печени; С – диффузная лимфоцитарная инфильтрация паренхимы печени; D – выраженная периваскулярная инфильтрация в печени; E – фокальная атрофия печеночных балок.

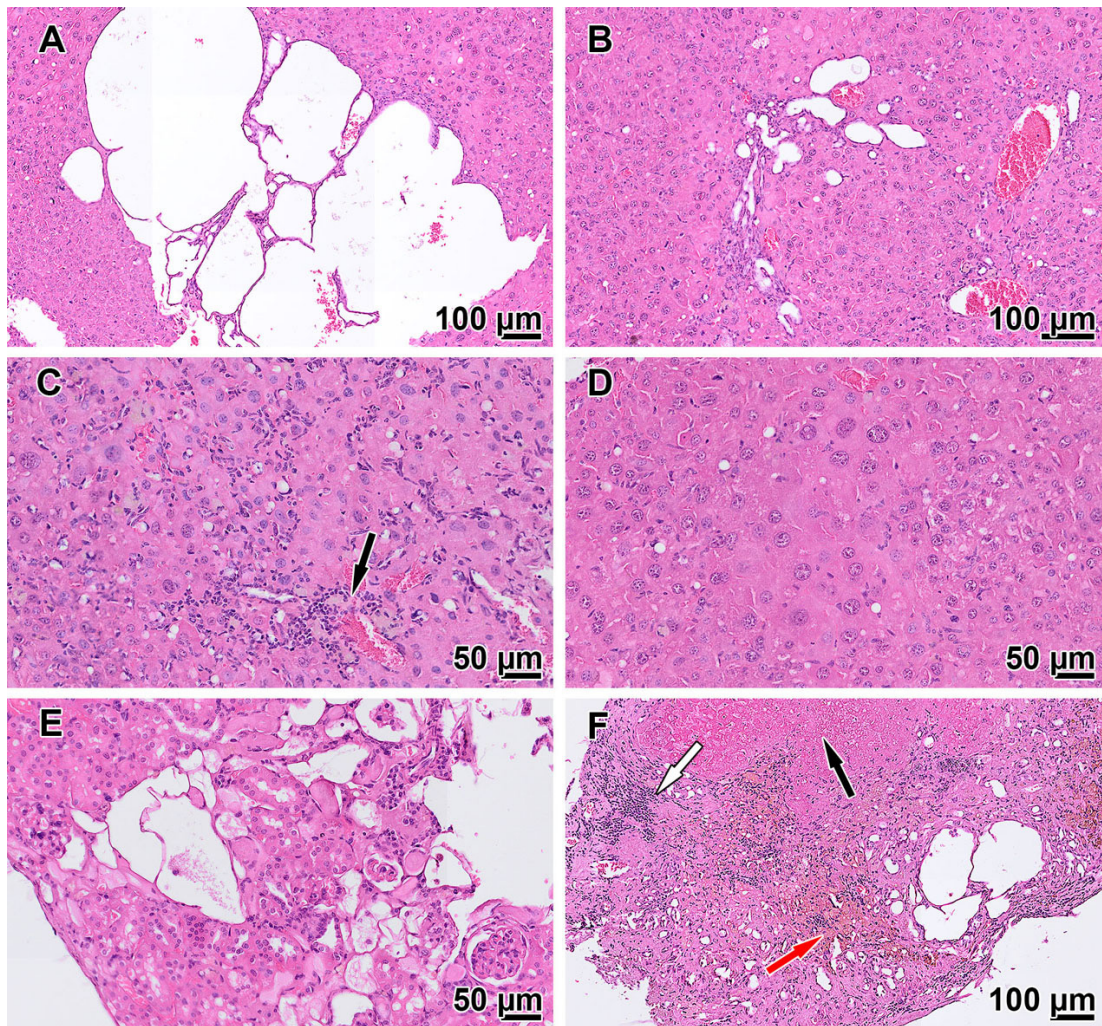


Рис. 2. Патоморфологический анализ органов и тканей мыши после введения клеток костного мозга, обработанных ангиогенином, через 11 месяцев после обработки в терминальной (предсмертной) стадии развития симптомокомплекса.

A – кистозная многокамерная полость в печени; B – атипичная ткань в печени с формированием кистозных полостей; C – диффузная лимфоцитарная реакция на опухолевую ткань, явления холестаза (стрелка); D – крупные полиплоидные ядра гепатоцитов, отсутствие трабекулярного строения, анизокариоз. Полиплоидия ядер – характерный признак возрастных изменений. E – почечные канальцы заполнены гомогенным эозинофильным содержимым. Формирование кистообразных полостей в корковом веществе почки. В результате дистрофических процессов ядра эпителиоцитов отдельных канальцев не визуализируются. F – печень. Диффузная лимфоцитарная инфильтрация (белая стрелка), явления холестаза (красная) и некроза (черная). Формирование многокамерной кистозной полости.

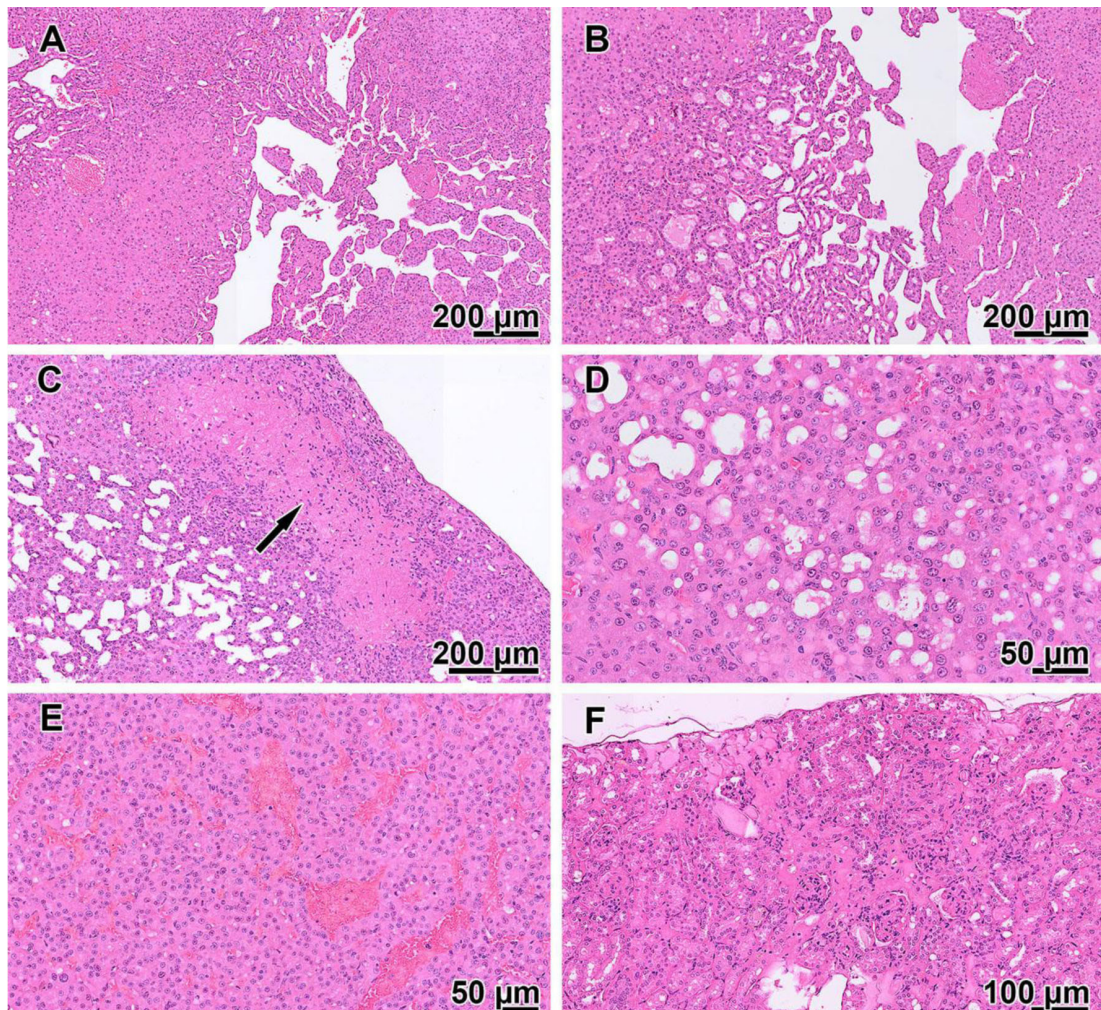


Рис. 3. Патоморфологический анализ органов и тканей мыши после введения клеток костного мозга, обработанных hDNA^{gr}, забитой через 11 месяцев после обработки.

А – опухоль печени с резким нарушением гистоархитектоники; В – опухоль печени, формирующая ацинарные структуры, некоторые из которых заполнены гомогенным эозинофильным содержимым; С – опухолевая ткань печени, формирующая множество мелких кистозных полостей. Под капсулой органа очаг некроза (стрелка). D – опухоль в печени формирует кривозные структуры; E – печень с явлениями резкого полнокровия; F – дистрофия эпителия канальцев почки.

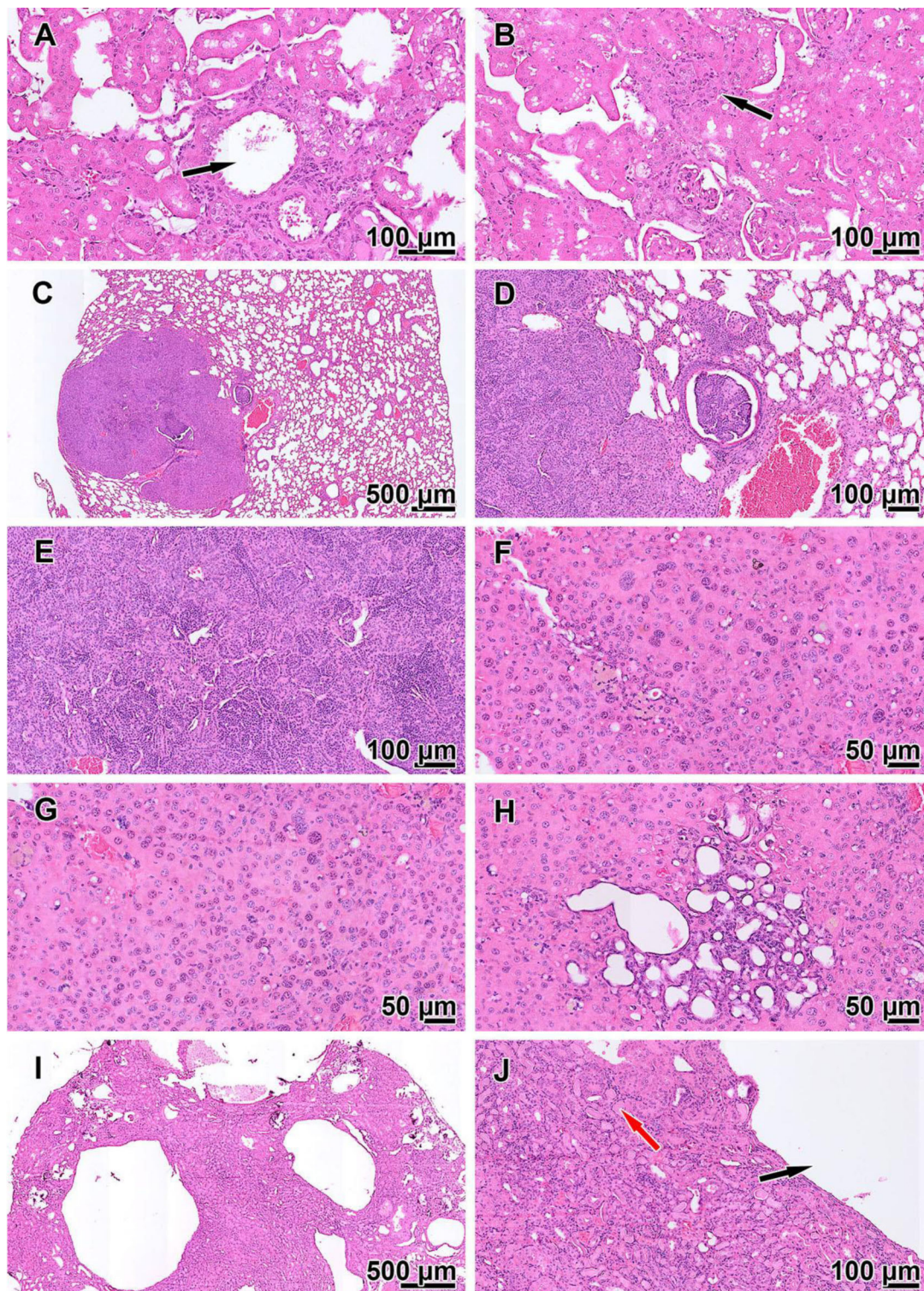


Рис. 4. Патоморфологический анализ органов и тканей мыши после введения клеток костного мозга от молодых мышей (A, B) и от старых мышей (C–J), забитых через 11 месяцев после обработки.

A – фокус опухолевой ткани в почке с формированием кистозной полости небольшого размера (стрелка); B – фокус опухолевой ткани в почке без четких границ (стрелка); C – опухоль (аденома) в легком; D – та же опухоль, что и на снимке C. Опухолевый узел без четких границ; E – та же опухоль, что и на снимке C. Микропапиллярное строение опухоли. F – опухоль в печени. Гистоархитектоника нарушена, печеночные балки не сформированы. G – опухоль в печени. Атипичные клетки разных размеров, выражен анизокариоз, лимфоцитарная инфильтрация, явления холестаза. H – опухоль в печени. Многокамерные кистозные полости мелких размеров. I – кистозные полости в почке; J – киста почки (стрелка), выстланная уплощенным эпителием. Некоторые канальцы коркового слоя заполнены гомогенным эозинофильным содержимым (красная стрелка).

Приложение 2. Анализ крови мышей после проведенной терапии

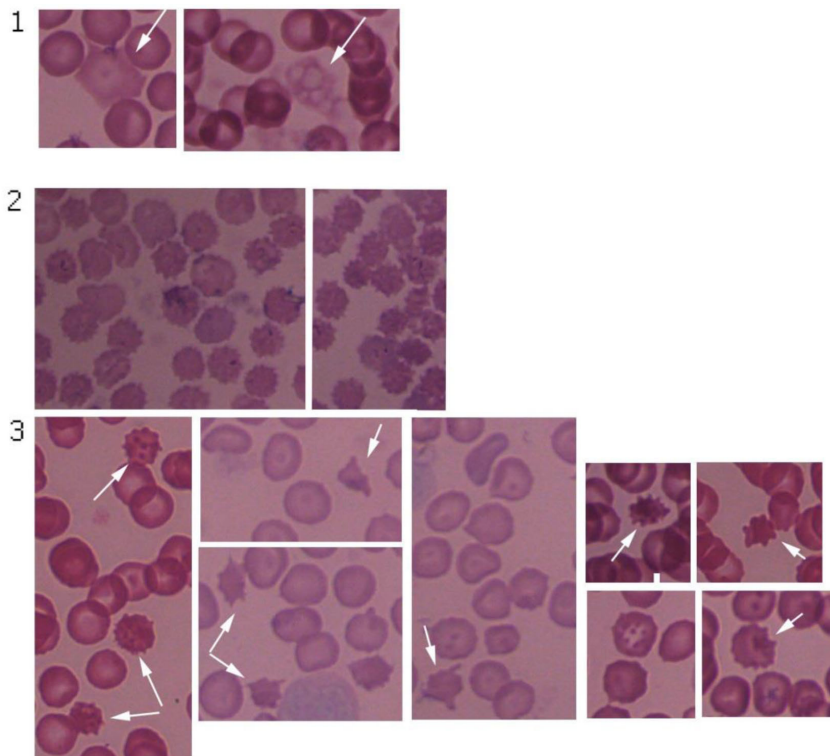


Рис. 1. Мазок образца крови мыши после введения клеток костного мозга, обработанных ангиогенином совместно с hDNA^{gr}.

1 – образования непонятной природы; 2 – общий вид крови со множественными пойкилоцитами типа акантоцитов; 3 – отдельные пойкилоциты (акантоциты) показаны стрелками. В крови наблюдается множество пойкилоцитов, при этом лейкоцитов в крови визуальное очень мало, вероятность лейкопении значительная. Соотношение форменных элементов в лейкоцитарной формуле идет со сдвигом в сторону лимфоцитов: лимфоциты – 78 %, сегментоядерные лейкоциты – 7 %, моноциты – 15 %. Эозинофилов в мазке не отмечено.

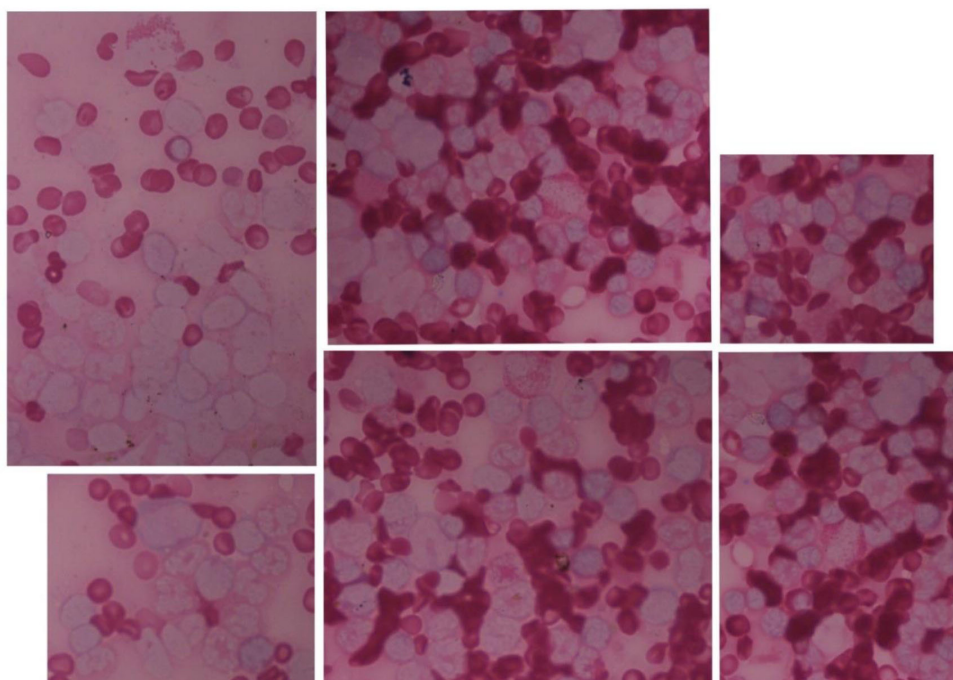


Рис. 2. Костный мозг из грудины мыши после введения клеток костного мозга, обработанных ангиогенином совместно с hDNA^{gr}. Костный мозг не выглядит обедненным, наполнение стромы нормальное.

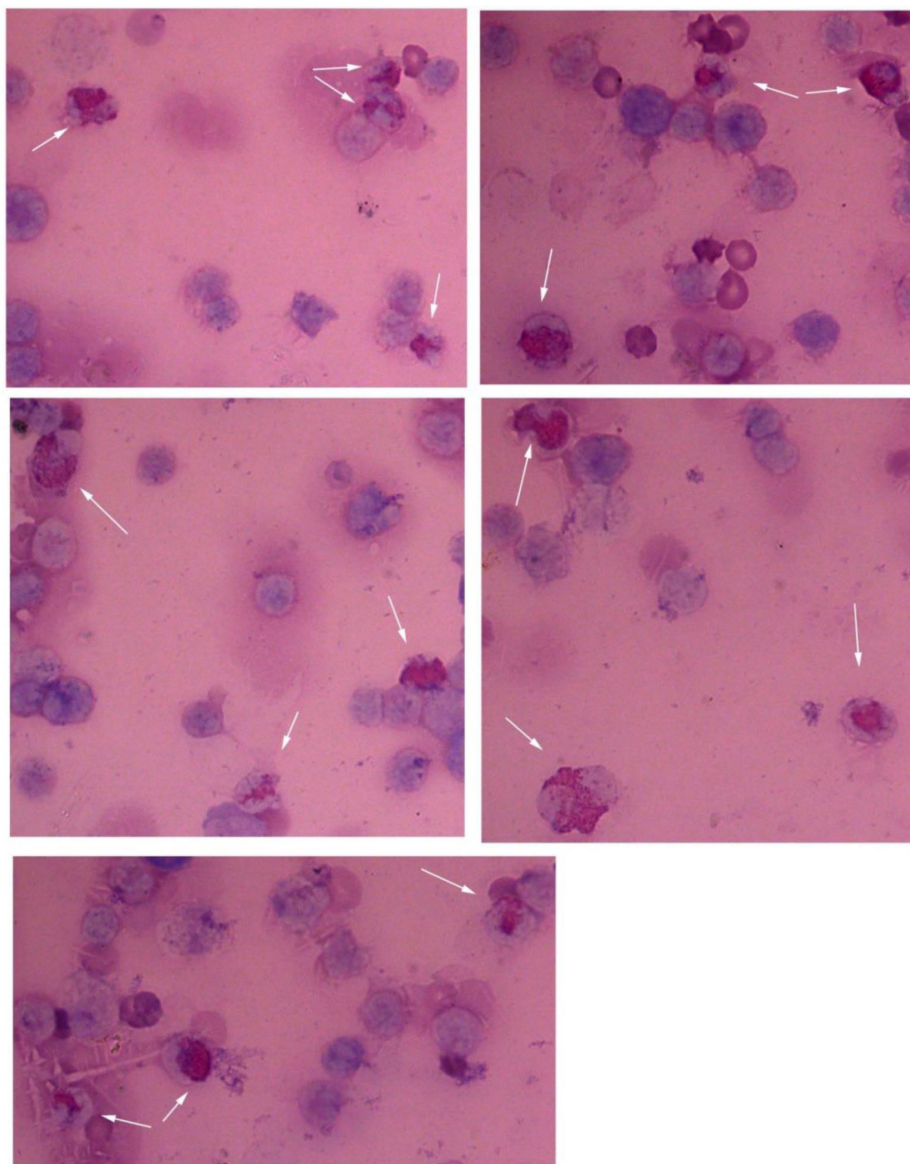


Рис. 3. Костный мозг из берцовой кости мыши после введения клеток костного мозга, обработанных ангиогенином совместно с hDNA^{9r}. Стрелками показаны предшественники эозинофилов.

Таблица 1. Анализ форменных элементов крови экспериментальных мышей

Группа		Сегментоядерные нейтрофилы	Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Примечание
Клетки костного мозга от старых мышей	1	29	2	13	56	Клеток очень мало
	2	23	6	16	55	
Клетки костного мозга от молодых мышей	1	32	7	32	29	Клеток много
	2	36	4	20	40	Клеток мало
	3	42	3	22	33	Клеток маловато
Клетки костного мозга от старых мышей, обработанные ангиогенином	1	39	1	13	47	Клеток нормальное количество
Клетки костного мозга от старых мышей, обработанные hDNA ^{gr}	1	57	11	10	22	Клеток много
	2	40	5	28	27	
	3	37	3	38	22	
Клетки костного мозга от старых мышей, обработанные ангиогенином и hDNA ^{gr}	1	49	4	17	29	Клеток нормальное количество, ёжики
	2	40	1	35	24	Клеток мало
	3	38	5	26	31	Клеток мало, ёжики

Заключение

Палочкоядерных нейтрофилов не обнаружено ни в одной группе.

В некоторых группах клетки очень плохо поглощали краситель Гимза. Нормально окрасились клетки в группах, которым вводили клетки костного мозга от молодых мышей и клетки костного мозга от старых мышей, обработанные ангиогенином или hDNA^{gr}, очень плохо – в группах «Клетки костного мозга от старых мышей», а также несколько хуже нормы – в группе «Клетки костного мозга от старых мышей, обработанные ангиогенином и hDNA^{gr}».

Группа «Клетки костного мозга от старых мышей»

Оба образца характеризуются повышенным количеством лимфоцитов при очень скудном количестве форменных элементов крови, количество моноцитов и эозинофилов в норме.

Группа «Клетки костного мозга от молодых мышей»

Образцы 2 и 3 выглядят нормальными по формуле крови, эритроциты не нарушены, но количество форменных элементов крови в образцах несколько снижено. В образце 1 наблюдается небольшая эозинофилия и много моноцитов (инфекция? паразиты?).

Группа «Клетки костного мозга от старых мышей, обработанные ангиогенином»

Нормальное количество форменных элементов в мазке, без особых осложнений формула крови, хотя небольшой сдвиг в сторону лимфоцитов наблюдается

Группа «Клетки костного мозга от старых мышей, обработанные hDNA^{gr}»

У всех животных нормальное количество форменных элементов крови в мазке, но у одного животного наблюдается повышенное количество эозинофилов (N1), у другого превышено число моноцитов (N3).

Группа «Клетки костного мозга от старых мышей, обработанные ангиогенином и hDNA^{gr}»

При более-менее нормальном количестве клеток в мазке у одного животного превышено количество моноцитов (N2), а у двух других (N1 и N3) наблюдались эритроциты необычной формы («ёжики»).

Приложение 3. Патоморфологический анализ органов и тканей крыс

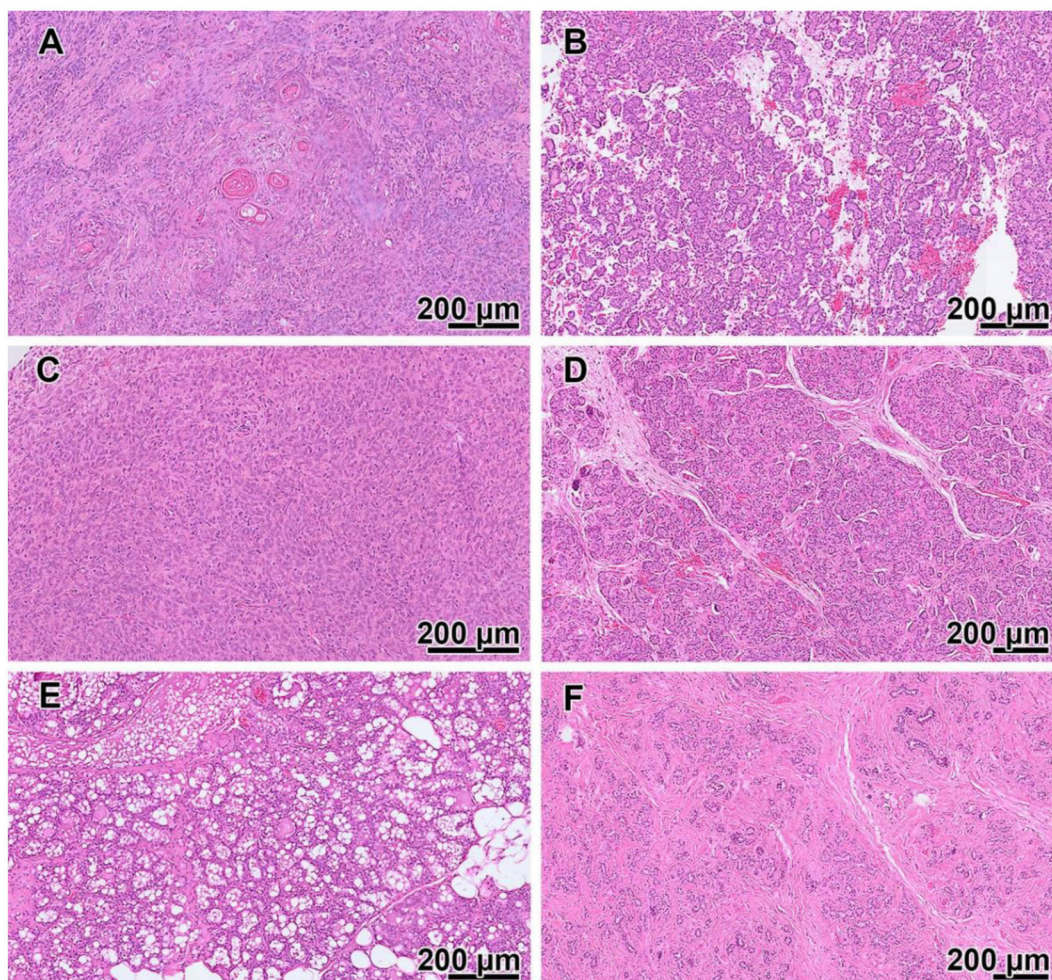


Рис. 1. Патоморфологический анализ органов и тканей крыс после введения различных клеток костного мозга.

А – группа животных, получавшая клетки костного мозга от старых животных. Представлена плоскоклеточная карцинома, эпителиоидные клетки которой погружены в десмопластическую строму. Характерно наличие большого числа раковых «жемчужин». Ядра атипичных клеток полиморфные, гиперхромные, нередко везикулярные, с одним-двумя ядрышками. В – группа животных, получавшая клетки костного мозга, обработанные ангиогенином совместно с препаратом hDNA^{9f}. Железистая опухолевая ткань с ацинарным паттерном роста, большим количеством кровеносных сосудов, встречаются гемorragии разной степени выраженности, с хорошо определяемой капсулой и рыхлой стромой с нежными волокнами. Клетки опухоли продуцируют эозинфильный секрет, резко вакуолизированы. С – группа животных, получавшая клетки костного мозга, обработанные ангиогенином. Сплошная опухоль, выполненная веретеновидными клетками, просматриваются лимфоцитарная инфильтрация опухолевой ткани и кровеносные капилляры. Проллиферативная активность низкая. D – группа животных, получавшая клетки костного мозга, обработанные ангиогенином совместно с препаратом hDNA^{9f}. Железистая опухолевая ткань с ацинарным паттерном роста, мономорфными клетками с выраженной вакуолизацией. Строма значительно развита, формирует широкие трабекулы, гемorragии обширные и частые. E – группа животных, получавшая клетки костного мозга, обработанные препаратом hDNA^{9f}. Ткань, представленная на препаратах, представляет собой лактационную гиперплазию молочной железы, где многочисленные дольки перемежаются со скудной стромой и протоками, заполненными характерным секретом. F – группа животных, получавшая клетки костного мозга, обработанные ангиогенином совместно с препаратом hDNA^{9f}. Инкапсулированная опухолевая масса состоит из хорошо дифференцированных ацинарных клеток, разделенных широкими трабекулами плотной фиброваскулярной стромы, формируя многодольчатые структуры.