

риальное давление, объем диуреза и интраоперационной трансфузии являются достоверными прогностическими факторами летальности у пациентов, оперированных по поводу разрыва АБА.

Литературные ссылки

1. Lindsay, T.F. Ruptured abdominal aortic aneurysm: from diagnosis to discharge / T.F. Lindsay, K.W. Johnston // In: Advances in vascular surgery 3. Editors A.D. Whittemore [et al.], Chicago: Mosby Year–Book Inc.; 1995. – P. 127–148.

2. Factors affecting survival after rupture of abdominal aortic aneurysm: effect of size on management and outcome / J.L. Murphy [et al.] // Can. J. Surg. – 1990. – Vol. 33. – P. 201–205.

ОСОБЕННОСТИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ ПАРАТИРОЦИТОВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

*Хрыщанович В.Я.¹, Третьяк С.И.¹, Харламова А.Н.¹,
Писаренко А.М.², Кондратович В.А.², Ходосовская Е.В.¹*

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
УЗ «Минский городской клинический онкологический диспансер»²,
Минск, Беларусь

Актуальность. В настоящее время в биомедицинской практике весьма перспективным направлением является создание гибридных или биоискусственных органов, в связи с чем получение функционально активных фрагментов ткани или клеток парашитовидной железы и последующая их имплантация в организм реципиента представляет собой альтернативный метод лечения перманентного симптоматического гипопаратиреоза [1, 2, 3]. Целью настоящего исследования явилась разработка эффективного метода выделения паратироцитов из гиперплазированной или аденоматозной ткани парашитовидной железы пациентов, перенесших паратиреоидэктомию по поводу первичного или вторичного гиперпаратиреоза.

Материалы и методы. Для приготовления культур использовали парашитовидные железы, полученные *ex vivo* во время паратиреоидэктомии от 6 пациентов, страдающих первичным и

вторичным гиперпаратиреозом. Время хранения биоматериала до посева клеток составило не более 5 часов при температуре $+4^{\circ}\text{C}$. Для получения суспензии клеток паращитовидные железы вначале подвергали механической дезагрегации на фрагменты размером $0,1\text{--}2\text{ мм}^3$. После этого измельченную паратиреоидную ткань обрабатывали раствором ферментов, состоящим из коллагеназы II типа, трипсина и ДНК-азы. Время инкубации с ферментами составляло 20 минут при температуре $+37^{\circ}\text{C}$. Полученные клетки осаждали центрифугированием, после чего осадок ресуспендировали в ростовой среде DMEM/F-12 с добавлением 5% телячьей сыворотки. Суспензию клеток в 5 мл среды заливали в культуральные флаконы и культивировали в CO_2 -инкубаторе при $+37^{\circ}\text{C}$. Ростовую среду во флаконе с культивируемыми клетками меняли каждые 3–4 суток.

Результаты. Культура, полученная из паращитовидной железы человека, в 1-е сутки культивирования была представлена преимущественно флотирующими клетками, также встречались единичные фибробластоподобные клетки. Со 2-х суток быстро формировалась прикрепленная фракция клеток неправильной формы с четко контурированным ядром, которая представляла собой многочисленные очаги роста клеток, плотно прилегающих друг к другу. К 4–10 суткам культивирования клетки образовывали плотный монослой, представленный тесно прилегающими друг к другу эпителиальными клетками полигональной формы. Анализ полученных данных показал, что наибольшее количество клеток из тканевых фрагментов паращитовидной железы удалось получить в режиме 18-часовой инкубации с ферментами при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ с последующей 10-минутной инкубацией при $+37^{\circ}\text{C}$. В этом случае удалось выделить клетки в концентрации $3\div 5 \times 10^6$ в 1 мл, жизнеспособность которых составила 99%. При микроскопии культуры, полученной из образцов паращитовидной железы человека, на 3 сутки наблюдали образование клеточных агрегатов, состоящих из 20 и более клеток. При этом была отмечена относительная гомогенность культуры, которая проявлялась в одинаковых размерах клеток и плотности их укладки, клетки достигали практически уровня монослоя. Начинали формироваться везикулярные структуры – микрофолликулы. Клетки, выстилающие полость фолликулов, очень тесно прилегали друг к

другу и имели кубическую форму. После прикрепления агрегата клеток достаточно быстро формировалась колония, единичные клетки также могли прикрепляться к поверхности подложки. Колонии за счет деления клеток увеличивались в размерах и постепенно сливались. Центральная часть колоний в результате дифференцировки становилась многослойной, происходила стратификация колонии, и через определенное время образовывался сплошной многослойный пласт (МПК). Формирование межклеточных связей в культуре паратироцитов зависело от содержания в ростовой среде ионов кальция. Хорошая пролиферация клеток была отмечена в среде с низким содержанием кальция (0,05–0,1 мМ), однако при этом замедлялись процессы дифференцирования клеток и многослойный пласт не формировался. Среда, содержащая нормальное количество кальция (1,2–1,8 мМ), инициировала дифференцирование и способствовала формированию десмосом. В результате тестирования специфической функциональной активности культуры средняя концентрация паратгормона при указанных условиях получения клеток составила 210 ± 41 пг/мл. Необходимо отметить, что существенных различий в секреторной активности культивированных паратироцитов в зависимости от характера патоморфологических изменений нативных паращитовидных желез (аденома, гиперплазия) обнаружено не было.

Заключение. Проведенное нами исследование позволило получить гормонально-активную и жизнеспособную культуру аллогенных паратироцитов. Однако одним из условий успешного приживания МПК является выполнение своевременной трансплантации. Для этого необходимо определение степени готовности (зрелости) культуры клеток к пересадке, о которой судили, главным образом, по картине, наблюдаемой в инвертированном микроскопе. Переросший МПК обладал более низкими витальными свойствами, питание клеток в нем было нарушено. Молодой или недозревший МПК был тонким, имел достаточно слабые межклеточные связи и в процессе ферментативной обработки диспазой разрушался. В связи с этим в процессе культивирования необходимо оценивать степень зрелости МПК и своевременно осуществлять трансплантацию.

Литературные ссылки

1. Bjerneroth G., Juhlin C., Rastad J. et al. MHC class I and II antigen expression on parathyroid cells and prospects for their allogenic transplantation. Transplantation. 1993; 56(3): 717.
2. Alfrey E.J., Perloff L.J., Asplund H.W. et al. Normocalcemia thirteen years after successful parathyroid allografting in a recipient of a renal transplant. Surgery. 1992; 111: 234.
3. Hasse C., Schrezenmeier J., Stinner B. et al. Successful allotransplantation of microencapsulated parathyroids in rats. World J. Surg. 1994; 18: 630.

ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ АПЕНДИКУЛЯРНОГО ПЕРИТОНИТА У ДЕТЕЙ

Худовцова А.В., Ковальчук В.И.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. В структуре неотложных хирургических вмешательств аппендэктомия, безусловно, занимает лидирующее положение [1, 2]. В настоящее время хирурги все чаще прибегают к лапароскопической аппендэктомии при лечении больных острым аппендицитом, а некоторые клиники, например, детской хирургии, сообщают, что лапароскопическую аппендэктомию выполняют практически в 100% случаев [1, 2].

Цель исследования: оценить эффективность лапароскопического метода лечения аппендикулярных перитонитов у детей.

Материалы и методы. На базе клиники детской хирургии УЗ «ГОДКБ» за период с 2007 по 2011 гг. было выполнено 71 оперативное вмешательство по поводу аппендикулярного перитонита у детей. В зависимости от метода лечения были выделены 2 группы. Группа I (лапароскопический метод) – 24 пациента, и группа II (лечение «открытым» способом) – 47 пациентов. Средний возраст пациентов составил – $8,7 \pm 0,4$ лет. Гангренозно-перфоративный аппендицит явился основной морфологической формой осложненного аппендицита – 48 (67,6%). Предоперационная подготовка проводилась по единому протоколу.