Из данных приведенных в таблице 1 можно сделать заключение о разделении растений по содержанию железа на две группы с содержанием Fe > и < 300 мкг/г. Для дальнейшего анализа была выдвинута гипотеза о том, что исследуемые растения по содержанию микроэлементов можно разделить на две группы и полученные данные математически представляют собой результаты измерения содержания микроэлементов двух независимых совокупностей. Проведенный дисперсионный анализ [2] показал, что по F-критерию Фишера на уровне значимости α=0,85, предположенные “a priori”, совокупности значимо различаются по содержанию Fe, Mn и Al.

В таблице 2 представлены средние значения и дисперсии средних значений содержания Fe, Mn и Al в обеих группах растений.

Таблица 2. Среднее содержание Fe, Mn и Al в надземной части растений. мкг/г (в пересчете на абсолютно сухое сырье)*

Растение	Fe	Mn	Al
P.mollissima *N.pulla* *B.sibirica*	567,0±140,0	92,0±21,0	330,0±58,0
B.officinalis *E.vulgare* *O. borysthenica*	130,0±60,0	40,0±9,0	87,0±15,0

* - примечание: по содержанию Cu, Mg, Si, Ti, Zn, Al выделенные группы растений отличаются незначимо.

Таким образом, исследуемые растения по содержанию основных микроэлементов кроветворного комплекса Fe и Mn можно разделить на две группы:

- группа 1, в которую входят м.мягчайшая, н.темно-бурая и б.сибирская;
- группа 2, в которую входят б.лекарственный, с.обыкновенный и о.песчаная.

Учитывая, что установленная противоанемическая активность у экстрактов м.мягчайшей связана, в том числе и со значительным содержанием Fe можно сделать следующий вывод:

Существенно большее содержание Fe и Mn у растений первой группы позволяет предполагать и более выраженную противоанемическую активность экстрактов из надземной части м.мягчайшей, н.темно-бурой и б.сибирской.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Круглов Д.С., Ханина М.А., Третьякова О.В. Оценка фармакологической активности экстракта из надземной части Pulmonaria mollissima //Фундаментальные исследования.- 2004.- №1.– с.28-29

2. Джонсон Н.,Лион Ф. Статистика и планирование эксперимента в технике и науке: Методы обработки данных. - М.: Мир, 1980.-610с.

3. Томпсон М. Руководство по спектрометрическому анализу с индуктивно-связанной плазмой //М.Томпсон, Д.Н.Уолш. -М.: Недра, 1988.-288с.

Работа представлена на научную конференцию с международным участием «Фундаментальные исследования», Доминиканская республика, 5-16 апреля 2006г. Поступила в редакцию 12.03.2006г.

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ И ЕГО МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА В КУЛЬТУРАХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ YERSINIA PESTIS

Лебединская О.В.[1], Чикилёва И.О.[2], Лебединская Е.А.[1], Шехмаметьев Р.М.[1], Мелехин С.В.[1], Киселевский М.В.[2]

[1]ГОУ ВПО ПГМА Росздрава, Пермь,
[2]ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

В последнее десятилетие активно изучается возможность создания противоинфекционных вакцин на основе дендритных клеток (ДК) для профилактики и терапии тяжелых инфекционных заболеваний.

Цель данного исследования - определение клеточного состава и его морфогистохимических особенностей в культурах мононуклеарных лейкоцитов периферической крови (МНПК) 20 здоровых доноров при действии липополисахаридных комплексов (ЛПС) возбудителя чумы (Yersinia pestis).

Мононуклеарные лейкоциты выделялись из периферической крови, стабилизированной гепарином (25 ед./мл). Кровь, разведенную в два раза средой 199, центрифугировали при 400 g в течение 30 минут в градиенте плотности фиколла-урографина («ПанЭко», Россия, плотностью 1,077 г/см^3). Мононуклеарные лейкоциты, образовавшие интерфазное кольцо, собирали пипеткой и трехкратно отмывали в среде 199 («ПанЭко», Россия). После каждой отмывки в 10-кратном объёме среды клетки осаждали центрифугированием при 200 g.

Предварительно культуральную взвесь МНПК инкубировали в течение 6 суток с цитокинами: гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором и интерлейкином – 4. Из этой взвеси готовили мазки, которые являлись контрольными. После культивирования с цитокинами в культуральную

взвесь МНПК добавляли ЛПС возбудителя чумы. Мазки фиксировали в метиловом спирте и окрашивали азуром II и эозином по методу Романовского-Гимза, метиловым зеленым и пиронином по Браше с контролем РНК-азой для оценки содержания РНК. Проводили ШИК-реакцию по Шабадашу с контрольной обработкой амилазой для выявления гликогена и нейтральных гликозаминогликанов. В окрашенных по Браше на РНК мазках подсчитали количество различных клеток на 1000 клеточных форм.

В контрольной группе преобладающими являлись клетки лимфоидного ряда (588,6 ‰) и зернистые лейкоциты (248,3 ‰). Количество бластных форм было относительно невелико (48,1 ‰). Выявлялись незрелые дендритные клетки - 94,3 ‰, которые по размерам превосходили все другие клетки. Цитоплазма незрелых ДК окрашивалась умеренно пиронинофильно.

При добавлении в культуры ЛПС Yersinia pestis почти вдвое увеличилось число бластных форм (76,8 ‰) и незрелых дендритных клеток (172,3 ‰). Содержание зрелых ДК возрастало от 2,2 ‰ в контроле до 96,4 ‰. Яркая пиронинофильная цитоплазма свидетельствовала о высоком содержании в ней РНК. Почти в 3 раза увеличилось количество плазмоцитов (31,8 ‰). В контроле число этих клеток было 12,2 ‰.

Таким образом, введение в культуры наряду с цитокинами ЛПС возбудителя чумы приводит к активации иммунокомпетентных клеток и индуцирует созревание высокоспециализированных антигенпрезентирующих дендритных клеток.

Работа представлена на научную конференцию с международным участием «Фундаментальные исследования», Доминиканская республика, 5-16 апреля 2006г. Поступила в редакцию 20.03.2006г.

МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ТИМУСА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЛЕКТИНА КЛЕЩЕВИНЫ

Лебединская Е.А.[1], Мелехин С.В.[1],
Лебединская О.В.[1], Ахматова Н.К.[2],
Шехмаметьев Р.М.[1], Фрейнд Г.Г.[1], Киселевский М.В.[2]
[1]ГОУ ВПО ПГМА Росздрава, Пермь,
[2]ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Лектины - сложные белки с сахаросвязывающей активностью, которая обеспечивается карбогидратраспознающим доменом. Свойство лектинов проявлять иммуномодулирующую активность широко используется в экспериментальных исследованиях.

Целью работы явилось исследование изменений морфогистохимических характеристик, клеточного состава тимуса лабораторных животных под действием лектина клещевины (ЛК).

В экспериментах использованы мыши линии CBA. Экспериментальной группе (30 животных) внутрибрюшинно вводили летальные дозы лектина клещевины, контрольной (20 животных) - физиологический раствор. Материал фиксировали в спирт-формол-уксусной кислоте, серийные парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, метиловым зеленым и пиронином по Браше для оценки содержания РНК. Использовали альциановый синий с целью определения кислых гликозаминогликанов (ГАГ). Подсчитывали различные клеточные формы на 1000 клеток коркового и мозгового вещества долек тимуса.

Исследования показали, что тимус интактных животных имеет типичную структуру - дольчатое строение с чётким разделением долек на корковое и мозговое вещество, обычный клеточный состав и гистохимические особенности. Системное введение ЛК приводит к массовой гибели лимфоцитов, что вызывает обеднение тимоцитами как коркового, так и мозгового вещества, стирание грани между ними на фоне резкого истончения коры. Происходит разрыхление и разрастание стромы мозгового вещества, повышение содержания в ней кислых ГАГ. Выявлено полнокровие крупных сосудов, эритроцитарные стазы в микроциркуляторном русле с образованием гиалиновых тромбов, диапедез эритроцитов в ткань тимуса, скопления тучных клеток в корковом веществе. Макрофаги мозгового вещества содержат фагоцитированные лимфоциты и тёмно-коричневые гранулы, являющиеся, по-видимому, включениями гемосидерина. Подсчёт клеточных элементов продемонстрировал уменьшение числа лимфоцитов и снижение количества бластных форм (в 1,3–1,4 раза) в корковом и мозговом веществе долек тимуса. Напротив, содержание гранулярных лейкоцитов и тучных клеток оказывается повышенным по сравнению с контролем. Основные же изменения касаются стромального микроокружения органа: наблюдается достоверно значимое увеличение количества клеток стромы, и значительно возрастает число макрофагов.

Разрушение лимфоцитов при введении высоких доз ЛК сочетается, по-видимому, с недостаточным восполнением их за счёт бласттрансформации и пролиферации, так как содержание бластных форм снижено. Увеличение количества гистиоцитов, гранулоцитов и тучных клеток в органе может быть связано с присоединением воспалительных реакций. Эффект лимфоидного «опустошения» тимуса экспериментальных животных при системном введении исследуемых доз ЛК обусловлен, вероятно, гиперактивацией иммунокомпетентных клеток и высвобождением противовоспалительных цитокинов.

Таким образом, системное введение лектина клещевины приводит к количественной и качественной перестройке структуры тимуса, гиперактивации иммунокомпетентных клеток в органе, нарушению нормальных взаимоотношений между стромальным микроокружением и лимфоидными элементами.

Работа представлена научную конференцию с международным участием «Фундаментальные исследования», Доминиканская республика, 5-16 апреля 2006г. Поступила в редакцию 20.03.2006г.