С помощью корреляционного анализа были выявлены интегративные связи реакций стромальных и мигрирующих лимфоцитов. Выборочный коэффициент корреляции определяли по К. Пирсону и судили о силе корреляционных взаимосвязей. Было отмечено, что корреляция присутствовала в контроле. Между мигрировавшими и стромальными лимфоцитами был обнаружен весь спектр взаимосвязей. Через сутки, независимо от кратности облучения, число лимфоцитов возрастало ($p < 0,05$), причем в большей степени стромальных. Динамика была синхронной и лишь при фракции доз 10 и 20 сГр она нарушалась усилением миграции в два раза ($p < 0,05$). Спустя 365 суток наблюдался стойкий эффект лимфоцитов повышением интраэпителиальной миграции на фоне возрастания числа стромальных лимфоцитов после однократного применения доз. Необходимо отметить появление М-клеток в эпителии, плотно упакованных инвагинированными лимфоцитами после однократного γ-облучения в дозе 10 сГр. Видимо их наличие характеризуется активным трансцеллюлярным транспортом антигенов из просвета кишки к лимфоидной ткани, обеспечивая антигенную стимуляцию местной иммунной системы тонкой кишки.

При фракционированном γ-облучении достоверный эффект синхронного повышения интраэпителиальных и стромальных лимфоцитов обнаруживался позднее, начиная с дозы 50 сГр. При дозе 100 сГр эффект имел радиопротективный характер ($p < 0,05$), констатирующий повышение лимфоцитов в пласте на фоне снижения стромальных.

Выводы

1. Эффекты динамики лимфоцитов спустя сутки после γ-облучения в диапозоне малых доз – процесс лабильный, быстро реагирующий и сохраняющий стабильность в пролонгированности наблюдения через год повышением числа стромальной и интраэпителиальной клеточной популяции.

2. Появление М-клеток в эпителии слизистой оболочки тощей кишки в реакции после однократного γ-облучения при минимально исследуемой дозе 10 сГр спустя один год предполагает метапластический эффект.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ АТЕРОГЕННОЙ ДИЕТЕ С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ КОРРЕКЦИЕЙ ПЕКТИНОВЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Лопатникова Е.А., Кузьмичева Л.В.

Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева, Саранск, e-mail: alena1009lea@yandex.ru

Объектом исследования служили белые беспородные крысы, самцы, массой 180-200 г. Животные делились на четыре группы: 1-я – контрольная, стандартный рацион вивария; 2-я – животные находились на атерогенной диете в течение 21 суток; 3-я и 4-я – после атерогенной диеты животные получали водный раствор свекловичного и цитрусового пектинов соответственно в течение 21 суток. Как показали наши исследования печень интактных животных в целом имела типичное строение. Видоспецифической особенностью органа является слабое развитие междольковой соединительной ткани. Гепатоциты характеризуются розово-красной слегка зернистой окраской цитоплазмы и округлыми ядрами с несколькими крупными глыбками гетерохроматина. При экспериментольном нарушении липидного обмена в печени накапливается большое количество холестерина, что отражается на ее морфологии. При морфологическом исследовании полученного препарата ткани печени крысы (2 группа) нами была диагностирована липидная инфильтрация с признаками жировой дистрофии гепатоцитов – сильно выраженное диффузное мелко-, средне-, крупнокапельное, преимущественно внутриклеточное ожирение, без привязки к анатомическим структурам. Ядра таких гепатоцитов занимают не центральное положение, а оттеснены на периферию клетки. Также в образце присутствуют двуядерные гепатоциты неправильной формы. Гистоморфологическое исследование животных 3 и 4 групп показало, что гепатоциты как центральных, так и периферических зон долек имеют меньше «пустых», неокрашивающихся клеток, а степень вакуолизации цитоплазмы поврежденных гепатоцитов визуально ниже. Однако на препарате ткани печени животных 4 группы соотношение площади цитоплазмы и ядра смещалось в сторону преобладания ядерного компонента. В ядрах более отчетливо видно одно или два ядрышка. Подобные изменения морфо-функционального состояния гепатоцитов свидетельствуют о развитии компенсаторно-регенерационных процессов, сильнее они выражены при использовании высокоэтерифицированного цитрусового пектина, о чем свидетельствуют гистоморфологические препараты ткани печени.

БЕЛОК КОРАПРОТЕОГЛИКАНОВ СЕМЕННИКОВ КРЫС

Николаев А.А., Ветошкин Р.В.

ГБОУ ВПО «Государственная медицинская академия», Астрахань, e-mail: chimnik@mail.ru

Протеогликаны (ПГ) – сложные макромолекулы, состоящие из цепей гликозаминогликанов (ГАГ), ковалентно связанных с белковым кором. Они являются обязательным компонентом всех животных клеток и участвуют в таких фундаментальных биологических процессах, как дифференцировка, морфогенез, пролиферация [Зимина Н.П. 2002; Роничевская Г.М., Ры-

ков В.М. 2007; H. Sakamoto, 2006]. В частности, имеются данные об активной роли протеогликанов в регуляции сперматогенеза [Strugnell R., 1986;. M. Allien, 1999; Rodriguez-Martinez H, Larsson B, Pertoft H, 2007]

Особенностью этого класса биологических молекул является их строгая органная специфичность и отсутствие видовой специфичности [Роничевская Г.М., 2007]. Это, в частности, делает протеогликаны прекрасным объектом исследования в токсикологических экспериментах, когда выявленные на животных изменения могут смело экстраполироваться на человека.

Представляет особый интерес изучить строение и состав белкового корапротеогликанов эпидидимисов и семенников крыс, нарушение синтеза которых несмненно влияет на уровень сперматогенеза [Выборнов С.В**.,** 2005].

Объектами нашего исследования были экстракты эпидидимисов и семенников интактных беспородных белых крыс. Забор семенников и эпидидимисов у крыс проводили под эфирным наркозом (экспериментальные исследования проводились в строгом соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном отношении к животным).

Для выделения протеогликанов использовали методику В.И. Рыковой с соавт. Из гомогенизированной ткани получали фенольный экстракт, водную фазу его подкисляли, отделяли осадок, промывали его спиртом и сушили. На следующей стадии выделенные протеогликаны подвергали ферментации для удаления углеводного компонента и раскрытия специфических белковых детерминант. С этой целью препарат протеогликанов смешивали с иммобилизованными препаратами хондроитиназы АС (Sigma) и гепариназы III (Sigma)из расчета 0,01 ед. каждого фермента на 20 мкг протеогликана в пробе (Ермакова, 2008).Полученный препарат ПГ использовали для иммунизации.

Антисыворотка полученная к препарату протеогликанов выявляет два антигена с электрофоретической подвижностью альфа-1 и альфа-2 глобулинов. Полуколичественный анализ обнаруженных антигенов показал, что содержание протеогликана альфа-2 (ПГА-2) более чем в 128 раз превышает содержание протеогликана альфа-1 (ПГА-1). Предварительный расчет показывает, что концентрация ПГА-2 в препарате протеогликанов после ферментации – 7,5 мг/мл составляет 1,3 мг/мл или 17% от общего белка препарата.

Достаточно высокая концентрация антигена ПГА-2 позволила нам провести очистку этого белка на основе сочетания различных методов хроматографии.

«Чистота» препарата подтверждалась с помощью метода иммуноэлектрофореза, а также электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ). Препарат формировал одну линию преципитации в альфа-2-зоне глобулинов. При электрофорезе в ПААГе после окраски выявилась единственная полоса в альфа-2-зоне глобулинов.

Хроматографический анализ показал молекулярную массу ПГА-2 равную 245-260 KD. Белок ПГА-2 термостабилен и не теряет функциональных и иммунохимических свойств после прогревания при 85 ºС в течение часа. Методом двумерной тонкослойной хроматографии установлено, что белок ПГА-2 содержит две N-концевые аминокислоты лизин и треонин. Аминокислотный анализ показал высокое содержание гидрофобных аминокислот (34%) и гидроксиаминокислот (16%).

ОСОБЕННОСТИ ИННЕРВАЦИИ РАЗНЫХ ТИПОВ МИОЦИТОВ И КАПИЛЛЯРОВ ВБЛИЗИ НИХ В ПРОВОДЯЩЕМ И РАБОЧЕМ МИОКАРДЕ СИНОАУРИКУЛЯРНОЙ ОБЛАСТИ СЕРДЦА ИНТАКТНОЙ СОБАКИ

Павлович Е.Р.

Лаборатория стволовых клеток НИИ экспериментальной кардиологии РКНПК и кафедра морфологии МБФ ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, e-mail: erp114@rambler.ru

Изучали иннервацию разных типов миоцитов, а также капилляров в проводящем и рабочем миокарде синоаурикулярной области (САО) сердца интактных половозрелых беспородных собак-самцов. Животных усыпляли с использованием нембутала. САО сердца фиксировали погружением в 4% растворе параформальдегида в течение 3 суток при 4 °С. Затем его дофиксировали в четырехокиси осмия и заключали в эпоксидную смолу для последующего свето- и электронно-микроскопического исследования. На полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синем, осуществляли поиск синусного узла (СУ) или околоузлового рабочего миокарда правого предсердия (ПП) согласно описанию (Павлович, 2001). Проводили прицельную заточку пирамиды на проводящий миокард СУ или рабочий миокард ПП. Получали с блоков ультратонкие срезы, которые контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. При электронно-микроскопическом исследовании фотографировали эфферентные терминали вблизи светлых и темных миоцитов в СУ, а также вблизи рабочих миоцитов ПП. Оценивали размеры терминалей и их расстояние до миоцитов разных типов, а также принадлежность терминалей к адрен-, холин- или пептидэргическим. Терминали вблизи светлых и темных миоцитов СУ были в 1,5 раза крупнее, чем терминали вблизи рабочих миоцитов ПП. Расстояние от терминалей до миоцитов было наибольшим для светлых клеток СУ и в 1,5–1,7 раза меньшим для темных миоцитов СУ и рабочих миоцитов ПП.