

Данные статистические методы являются перспективными для дальнейших исследований, могут быть применены для определения наиболее эффективной хирургической тактики (других медицинских альтернативных решений).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И., Прикладная медицинская статистика. Санкт-Петербург. Фолиант. 2003. 432с.
2. Савельев В.С. (под редакцией) Руководство по неотложной хирургии органов брюшной полости. «Триада-Х». Москва. 2004. 640с.
3. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. Williams & Wilkins. 1996. Перевод с английского языка. Медиа Сфера. Москва. 1998. 352с.
4. Knaus W.A., Drapper E.A., Wagner D.P., Zimmer J.E. APACHE II: A severity of disease classification system. //Critical Care Medicine. 1985. 13. 818-829.

МОРФОЛОГИЯ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ В КУЛЬТУРАХ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И КОСТНОГО МОЗГА БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Лебединская О.В.¹, Мелехин С.В.¹,
Шубина И.Ж.², Киселевский М.В.², Фадеева Е.В.¹
¹ГОУ ВПО ПГМА Росздрава, Пермь
²ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

В настоящее время одним из перспективных направлений биотерапии лейкозов является применение дендритных клеток (ДК). Использование их приводит к уменьшению репликации лейкемических клеток, а также стимулирует клеточный иммунный ответ по отношению к абберантным опухолевым антигенам. ДК могут быть получены при культивировании мононуклеарных лейкоцитов (МЛ) периферической крови, костного мозга и других источников.

Целью данной работы явилось изучение в сравнительном аспекте морфологических особенностей культивированных МЛ периферической крови здоровых доноров и костного мозга больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ).

Проведены исследования пунктатов костного мозга детей больных ОМЛ, полученных в период бластного криза (при уровне бластога не менее 80 %). Индукция ДК в крови здоровых доноров производилась путём введения им нейпогена (полипептида, стимулирующего пролиферацию и дифференцировку МЛ). Культивирование мононуклеаров производили как без добавления ростовых факторов, так и при коинкубации МЛ с гранулоцит – макрофаг – колоние-стимулирующим фактором (ГН – КСФ) и интерлейкином – 4 (ИЛ – 4) в течение 6 – 10 суток. Из взвеси и прилипших ко дну культурального сосуда клеток делали мазки, которые окрашивали азуром II – эозином по Романовскому – Гимза, метиловым зелёным – пиронином по Браше на РНК с контрольной обработкой РНК – зой, реактивом Шиффа по Шабашу с кон-

тролем амилазой. Затем учитывался их количественный и качественный состав.

Морфологические исследования показали, что в культурах клеток костного мозга больных ОМЛ, инкубированных без добавления ростовых факторов преобладали бластные формы (19%), содержащие пиронинофильный компонент в ядрышках и цитоплазме, окрашивающиеся также ШИК – положительно и незрелые клетки миелоидного ряда. В мазках культуральной взвеси практически не определялись ДК (0,8 %). В культурах МЛ периферической крови здоровых доноров в аналогичных условиях на 10 сутки отмечалось большее число бластных клеток (33%), так и ДК (17%) по сравнению с культурами костного мозга больных.

Мононуклеары, полученные при добавлении в культуральную среду костного мозга ГМ – КСФ и ИЛ – 4, характеризовались рядом особенностей. Через 10 суток в культурах наряду с молодыми клетками миелоидного ряда и бластными формами (53%) определялись ДК различной степени зрелости (30%). Цитоплазма зрелых ДК была более ШИК – положительной, с повышенным количеством РНК, о чем свидетельствовала её яркая пиронинофилия. При коинкубации МЛ периферической крови доноров с ГМ – КСФ и ИЛ – 4 через 10 суток в мазках культуральной взвеси число бластных форм было меньшим (15%), а количество дендритных клеток возросло (48%) в отличие от мазков костного мозга больных ОМЛ.

Таким образом, результаты исследования показали, что, несмотря на выявленную в опытах возможность генерации дендритных клеток из бластных форм большого ОМЛ при стандартном наборе цитокинов (ГМ – КСФ и ИЛ – 4), число их значительно уступает количеству ДК в культурах периферической крови здоровых доноров, получавших нейпоген.

МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОНОНУКЛЕАРОВ, АКТИВИРОВАННЫХ ИНТЕРЛЕЙКИНОМ-2 В КУЛЬТУРАХ ПЛЕВРАЛЬНЫХ ЭКССУДАТОВ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Лебединская О.В.¹, Мелехин С.В.¹,
Шубина И.Ж.², Руди Е.Р.¹, Киселевский М.В.²
¹ГОУ ВПО ПГМА Росздрава, Пермь
²ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Опухолевый метастатический плеврит довольно часто выявляется у онкобольных при раке легкого (до 50%), молочной железы (до 48%) и других формах новообразований. В последнее десятилетие велись активные работы по экстракорпоральному культивированию лимфоидных клеток с интерлейкином-2 (ИЛ-2), приводящему к образованию ЛАК клеток - лимфокин-активированных киллеров, имеющих морфологию больших гранулярных лимфоцитов, которые вызывают лизис опухолевых клеток-мишеней. В результате данных исследований в комплексном лечении онкологических больных была предложена адоптивная иммунотерапия с использованием экстракорпорально генерированных ЛАК-клеток. Она оказалась

более эффективной, чем традиционные методы лечения.

Целью данной работы явилось изучение морфогистохимических особенностей культивированных с ИЛ-2 мононуклеарных лейкоцитов (МЛ) плеврального экссудата онкологических больных с метастазами в плевру.

Проведено исследование культур МЛ плевральных экссудатов 50 больных (в возрасте 30-70 лет) со злокачественными опухолями молочной железы и лёгких. Для получения лимфокин-активированных киллеров (ЛАК клеток) в культуры МЛ добавляли ИЛ-2 (интерлейкин-2 человека рекомбинантный дрожжевой, «Биотех», Россия) в дозе 2 тыс.МЕ/мл и культивировали в течение 3 дней. Из взвеси и прилипших ко дну культурального сосуда клеток делали мазки, которые окрашивали азуром II-эозином по Романовскому-Гимза, метиловым зеленым-пиронином по Браше на РНК с контрольной обработкой РНК-зой, реактивом Шиффа по Шабадашу с контролем амилазой. Затем учитывался их количественный и качественный состав.

В культурах клеток экссудата без добавления ИЛ-2 преобладают опухолевые клетки (41,6%), зрелые лимфоциты (31,3%) и макрофаги (17,5%). Встречаются также единичные пиронинофильные лимфоциты (5,6%), пролимфоциты (3,3%), бластные формы (0,5%) и дендритные клетки (0,2%). После коинкубации МЛ плеврального экссудата больных с ИЛ-2 в культурах увеличивается количество клеточных форм, которые, вероятно, являются ЛАК-клетками - бластные формы - в 20 раз, пролимфоциты - в 5 раз и активированные пиронинофильные лимфоциты - в 3 раза. Цитоплазма и ядрышки данных клеток при окраске метиловым зеленым-пиронином по Браше имеют ярко пиронинофильную окраску, исчезающую при обработке РНК-зой, что свидетельствует о повышенном содержании в клетках РНК, и, следовательно, об их активной синтетической функции. На фоне незначительного снижения числа типичных макрофагов, в культурах, напротив, резко повышается процент антигенпрезентирующих дендритных клеток (в 22 раза), содержащих в цитоплазме гранулы ШИК - позитивного компонента. При этом количество опухолевых клеток уменьшается в 3 раза, по-видимому, за счёт разрушения их ЛАК-клетками.

Таким образом, показано, что при коинкубации МЛ плеврального экссудата больных, имеющих метастатические формы рака лёгких и молочной железы, с ИЛ-2 в культурах формируются клетки, по своим морфогистохимическим признакам относящиеся к лимфокин-активированным киллерам, использование которых возможно в целях иммунотерапии метастатического плеврита.

THE EFFECT OF VITAMIN E (A-TOCOPHEROL) ON FUNCTIONAL CONDITION OF HYPOTHALAMIC-PITUITARY-TESTICULAR COMPLEX IN WISTAR MALE RATS

Loginov P.V.

Astrakhan State Medical Academy

Vitamin E (α -tocopherol) is known to be an antioxidant (Burlakova Ye. B., Alesenko A. V. et al., 1975; Bobirev V. N., Pochernyayeva V. F. et al., 1994) as well as the factor regulating the reproductive function of higher vertebrates (Lakeyev Yu. V., Kosikh V. A. et al., 1988; Teply D.L., 1990).

The purpose of the study is to find out the effects of vitamin E (α -tocopherol) on hypothalamic-pituitary-testicular system in white male rats.

Vitamin E (α -tocopherol, or α -T) was given *per os* to the animals during 2 weeks at the daily dose of 2 mg per 100 g of the animal weight. After that the indexes of the functional condition of the testes, pituitary gland and hypothalamus were studied. The vitamin mentioned decreases the indexes of peroxidating hemolysis of erythrocytes which reflects the level of lipid peroxidation processes in blood, the processes determining after all the functional possibilities in living systems and their physiological status. In testicular tissue the level of hydroperoxides decreases as well as the content of malonic dialdehyde, one of the products of lipid peroxidation. The tendency of decreasing of reduction-oxidation potential (redox-potential, RP, or ROP) dealing with the testicular tissue takes place which also tells us about decreased level of oxidation products as a result of antioxidant properties of α -tocopherol. Moreover, vitamin E has been found to stimulate relative testes weight increasing compared to the control ($P < 0.05$). The increasing is 16.5%. The vitamin introduction causes testosterone level increasing in blood from 1.415 up to 1.702 ng/cm³. At the same time the lutropin level has been found to be more than twice as much as in the control group ($P < 0.001$) which is in accordance to positive correlation coefficient ($r = + 0.948$; $P < 0.001$), which deals with testosterone and lutropin levels. In addition to this the relative weight of the pituitary gland has been 23% more than in the control ($P < 0.05$). This fact explains the improvement of the pituitary gland function reflected by the increased level of luteinizing hormone. As a result the testosterone level has been found to be increased. On the one hand it is the pituitary gland that determines the functional condition of the testes. On the other hand, however, it is possible for vitamin E to stimulate the testes functional activity directly taking into account the histological data of the testicular tissue. On histological microscopic sections of testicular tissue we've found widening of spermatogenic epithelium and increased diameters of seminiferous pathways under the influence of α -tocopherol. The interstitial tissue mass has been found to be increased twice compared to the control. The increased mass has been due to proliferation of Leydig's cells of average size population. The volume of the cells has proved to be nearly twice as big as in the control group ($P < 0.05$). It is the average size population of Leydig's cells that is generally responsible for testosterone secretion, and Leydig's cells of such kind are functionally active. It has been discov-