

ДЕЙСТВИЕ СТИМФОРТЕ НА МОНОНУКЛЕАРНЫЕ ЛЕЙКОЦИТЫ И ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ МЫШЕЙ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА

Мальдов Д.Г.¹, Ильичев А.В.¹, Лебединская Е.А.²,
Фадеева Е.В.², Лебединская О.В.², Ахматова Н.К.³,
Четвертных В.А.², Годовалов А.П.², Мелехин С.В.²,
Киселевский М.В.⁴

¹ ЗАО СКАЙ-ЛТД, Москва

² ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера» Росздрава, г. Пермь

³ ГУ «Институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН», Москва

⁴ ГУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН», Москва

Резюме. Исследовано влияние иммуномодулирующего препарата животного происхождения — стимфорте — на моноклеарные лейкоциты (МЛ) и морфологию лимфоидных органов на фоне индуцированной циклофосфаном иммуносупрессии. Показано, что стимфорте обладает способностью корректировать количественный и субпопуляционный состав МЛ селезенки, структуру центральных и периферических органов лимфопоэза, эффекторные функции клеток врожденного иммунитета, нарушенные при введении цитостатика.

Ключевые слова: иммуносупрессия, циклофосфан, стимфорте, иммуномодуляторы.

Maldov D.G., Ilychev A.V., Lebedinskaya E.A., Fadeeva E.V., Lebedinskaya O.V., Akhmatova N.K., Chetvertnykh V.A., Godovalov A.P., Melekhin S.V., Kiselevsky M.V.

EFFECT OF STIMFORTE UPON MURINE MONONUCLEAR LEUKOCYTES AND LYMPHOID ORGANS DURING CYCLOPHOSPHAN TREATMENT

Abstract. We studied effects of Stimforte, an immunomodulatory drug of animal origin, upon mononuclear leukocytes (MLs) and morphology of lymphoid organs in the course of cyclophosphan-induced immunosuppression. It was demonstrated that Stimforte is able to correct the quantitative and subpopulational composition of splenic MLs, the structure of central and peripheral lymphopoietic tissues, as well as effector cell functions of innate immunity affected by the cytostatic drug. (*Med. Immunol.*, 2011, vol. 13, N 2-3, pp 133-138)

Keywords: immune suppression, cyclophosphan, Stimforte, immunomodulatory drugs.

Введение

Возможности применения цитостатических препаратов в клинике определяются степенью

и характером их влияния на гемо-, лимфопоэз и иммунные реакции. Изучение действия циклофосфана (ЦФ) показало его выраженный миело- и лимфосупрессивный эффект [1, 3, 10]. В наибольшей степени подвержены влиянию цитостатика ядродержащие клетки эритроидного ряда и клетки-предшественники лимфоцитов, в наименьшей — молодые формы гранулоцитов [13]. Выраженной чувствительностью к циклофосфану обладают пролиферирующие клетки [8]. Действие данного цитостатика характеризуется зави-

Адрес для переписки:

Лебединская Ольга Витальевна,
ГОУ ВПО «Пермская государственная медицин-
ская академия им. ак. Е.А. Вагнера» Росздрава,
Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии
614990, г. Пермь, ул. Луначарского, 74.
E-mail: lebedinska@mail.ru

симостью от дозы препарата, а также от времени, прошедшего после его введения.

Исследования последних лет, касающиеся воздействия цитостатиков, доказали, что алкилирующие химиотерапевтические агенты в малых дозах способны оказывать иммуностимулирующее действие за счет угнетения Т-супрессорной субпопуляции [11]. Однако терапевтические дозы препарата обладают способностью значительно уменьшать количество иммунокомпетентных клеток в лимфоидных органах и периферической крови, а также снижать уровень иммунного ответа [9, 10, 11, 12]. Данные результаты демонстрируют необходимость комбинации химиопрепаратов и иммуномодуляторов при лечении злокачественных новообразований. В то же время исследователями не уделяется достаточного внимания изучению клеточного состава и морфологических изменений лимфоидных органов, возникающих под действием различных доз цитостатических препаратов.

В ряде работ показано, что иммуномодуляторы различной природы способны восстанавливать количественный и субпопуляционный состав лимфоидных клеток после действия цитостатиков [5, 6, 7, 11]. Одним из недавно разработанных отечественных иммуномодуляторов является стимуфорте — препарат с широким спектром биологической активности, полученный из органов и тканей ушей [2]. Авторами установлен его иммуностимулирующий эффект, направленный на реакции врожденного иммунитета, и высокий противовирусный потенциал [2, 4]. В связи с этим возникает необходимость провести исследование способности данного препарата нивелировать изменения, вызванные действием цитостатиков, применяемых в клинической практике. В настоящее время почти нет сведений об иммунологических показателях и морфогистохимических характеристиках лимфоидных органов при проведении иммунокоррекции на фоне супрессивного действия цитостатиков [14].

Цель исследования — изучение влияния иммуномодулирующего препарата стимуфорте на иммунофенотипические, функциональные характеристики мононуклеарных лейкоцитов селезенки мышей и на морфологические изменения лимфоидных органов на фоне иммуносупрессии, индуцированной введением циклофосфана.

Материалы и методы

Исследования проведены на 105 мышах линии Balb/c с использованием циклофосфана (Лэнс, Россия) и стимуфорте (Институт биоорганической химии РАН, Россия) в монорежимах и при их комбинированном введении. Мышей содержали в виварии отдела лабораторных животных

РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН на стандартном пищевом рационе брикетированных экструдированных кормов со свободным доступом к корму и питьевой воде.

Экспериментальные животные были распределены по группам:

Группа 1 — контрольная (интактным животным вводили физиологический раствор).

Группа 2 — мыши с индуцированной иммуносупрессией (иммуносупрессию вызывали внутрибрюшинным введением ЦФ 4-кратно с суточным интервалом в дозе 100 мг/кг веса животного).

Группа 3 — животные, получавшие стимуфорте в дозе 100 мкг/кг веса подкожно дважды с интервалом в 48 часов.

Группа 4 — животные, которым вводили стимуфорте в дозе 100 мкг/кг веса подкожно дважды (с интервалом в 48 часов) через сутки после 4-кратного внутрибрюшинного введения ЦФ в дозе 100 мг/кг веса.

Выделение мононуклеарных лейкоцитов (МЛ) из селезенки. МЛ выделяли из селезенки мышей посредством механического размельчения. Взвесь МЛ, разведенную в два раза средой 199, центрифугировали при 400 g в течение 30 минут в градиенте плотности фиколл-урографина («Pharmacia», плотность 1,088 г/см³). МЛ, образовавшие интерфазное кольцо, собирали пипеткой и трижды отмывали в среде 199. После каждой отмывки в 10-кратном объеме среды клетки осаждали центрифугированием при 200 g.

Культивирование клеток ΥΑΚ-1. Клетки мишени НК-чувствительной опухолевой линии ΥΑΚ-1 культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением глутамина, 5% фетальной сыворотки крупного рогатого скота и гентамицина при 37 °С в атмосфере, содержащей 4% CO₂.

Цитотоксический тест. Цитотоксическую активность МЛ, полученных из селезенки мышей, определяли на НК-зависимой линии клеток мышинной лимфомы ΥΑС-1 в тесте восстановления 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ-тест). Опухолевые клетки (1 × 10⁴ в 1 мл) инкубировали в культуральной среде с МЛ в разных соотношениях в плоскодонных 96-луночных микропланшетах (Costar, Франция) 18 часов при 37 °С в атмосфере с 4% CO₂. Затем в лунки добавляли витальный краситель МТТ (Sigma, США) и по оптической плотности, измеряемой на мультискане MS (Labsystem, Финляндия) при длине волны 540 нм, рассчитывали процент лизиса опухолевых клеток (процент цитотоксичности).

Анализ фенотипа МЛ. Фенотип МЛ исследовали с использованием моноклональных антител (Caltag Laboratories, США) против соответствующих антигенов. Клетки отмывали холод-

ным фосфатно-солевым буфером (ФСБ) и окрашивали FITC (флюоресцеинизотиоционат) и PE (фикоэритрин)-мечеными антителами согласно инструкции производителя. Затем отмывали два раза холодным ФСБ. Результаты учитывали на проточном цитометре FACS Calibur (Becton Dickinson, США). На МЛ, полученных из селезенки мышей, исследовались уровни экспрессии маркеров CD3, CD4, CD8, CD19, CD25, NK1.1, F4/80. Гейт (окно) популяции клеток устанавливали на основе комбинации прямого и бокового светорассеяния и размера клеток. При учете результатов подсчитывали 10 000 клеток в гейте. Статистическую обработку данных проточной цитометрии проводили при помощи программного пакета WinMDI 2.8.

Морфогистохимические исследования. Материал тимуса и селезенки мышей забирали через 24 часа после введения препаратов и фиксировали в спирт-формол-уксусной кислоте по Телленискому. Также исследовали морфологию паренхиматозных органов (печени, почек и легких) при введении тимфорта в монорежиме для доказательства отсутствия токсического действия на них исследуемого препарата. Серийные парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, азуром II и эозином. Для оценки содержания РНК — метиловым зеленым и пиронином по Браше с контролем РНК-азой. Проводили ШИК-реакцию по Шабдашу для выявления гликогена и нейтральных гликозаминогликанов (ГАГ) с контрольной обработкой срезов амилазой и использовали альциановый синий с целью определения кислых ГАГ. Морфологический, гистохимический анализ и фотографирование проводили с помощью системы AxioVision 4 (Carl Zeiss, Германия).

Статистическую обработку данных морфологических исследований и цитотоксического теста проводили при использовании *t*-критерия Стьюдента, используя стандартный пакет статистических программ Windows 98 (StatSoft 5.5).

Результаты

В ходе проведенных исследований было установлено, что 4-кратное введение мышам ЦФ

в дозе 100 мг/кг приводит к выраженной лимфо- и иммуносупрессии.

После инъекции циклофосфана в селезенке экспериментальных мышей в 3-5 раз уменьшается количество МЛ по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Популяция МЛ в группе животных, получавших ЦФ, представлена зрелыми лимфоцитами, в то время как в контрольной группе отмечается значительное количество лимфоидных клеток различной степени зрелости — пролимфоцитов и лимфобластов.

Под действием ЦФ отмечается статистически значимое снижение содержания CD3⁺, NK 1.1⁺, CD4⁺, CD19⁺ и F4/80⁺ клеток в популяции МЛ (табл. 2). В то же время среди МЛ селезенки значительно повышается количество CD25⁺, CD4⁺/CD25⁺ и CD8⁺ клеток. Наблюдается также значительное снижение цитотоксической активности МЛ мышей при всех соотношениях клетки-мишени/эффекторы (табл. 3).

Лимфоидные органы интактных животных имеют типичное строение (рис. 1А, 2А; см. цветную вклейку, стр. 1). При введении циклофосфана в монорежиме в центральных и периферических органах иммунной системы прослеживаются значительные изменения. Этот процесс особенно заметен в тимусе, где выявляется почти полное опустошение субкапсулярной зоны долек и значительное разрежение собственно кортикальной зоны, кортикотико-медуллярной связки и мозгового вещества (рис. 1Б, В; см. цветную вклейку, стр. 1). В селезенке фолликулы белой пульпы резко уменьшаются в размерах, в них не разграничиваются типичные зоны и выявляется редукция Т-зависимых периартериальных лимфоидных муфт (рис. 2Б, см. цветную вклейку, стр. 1).

Введение мышам тимфорта в монорежиме вызывает увеличение общего количества мононуклеарных лейкоцитов в селезенке (табл. 1), а среди них — числа МЛ, несущих все исследованные маркеры, кроме CD25 и CD4/CD25 (табл. 2). Статистически значимое повышение цитотоксической активности МЛ селезенки мышей, получавших инъекции только тимфорта, наблюдается при соотношении клетки-мишени/клетки-эффекторы 1:10 (табл. 3). При остальных

ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВО МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СЕЛЕЗЕНОК МЫШЕЙ, $M \pm m$

Группа	Количество клеток на орган
1. Контрольная	$9,30 \times 10^6 \pm 1020$
2. Введение ЦФ	$1,75 \times 10^6 \pm 1270^*$
3. Введение тимфорта	$12,00 \times 10^6 \pm 1560^*$
4. Введение ЦФ и тимфорта	$3,00 \times 10^6 \pm 1130^{*,**}$

Примечание. * — статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); ** — статистически значимые различия по сравнению с действием ЦФ ($p < 0,05$).

ТАБЛИЦА 2. КОЛИЧЕСТВО ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ПОВЕРХНОСТНЫЕ МАРКЕРЫ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ У ИНТАКТНЫХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МЫШЕЙ, %, $M \pm m$

Группа	Маркеры								
	CD3	NK 1.1	CD3/ NK1.1	CD4	CD25	CD4/ CD25	CD8	CD19	F4/80
1. Контрольная	6,3±0,6	8,0±0,7	1,9±0,6	12,3±0,8	1,2±0,6	0,9±0,3	3,4±0,6	4,3±0,4	12,3±0,4
2. Введение ЦФ	1,11±0,1*	2,8±0,3*	1,6±0,1	1,4±0,2*	10,9±0,3*	5,5±0,1*	22,2±0,4*	0,3±0,1*	0,4±0,1*
3. Введение стимфорте	11,4±0,5*	10,2±0,7*	4,5±0,4*	16,3±0,7*	1,7±0,3	1,1±0,2	6,1±0,9*	6,7±0,5*	15,5±0,3*
4. Введение ЦФ и стимфорте	3,3±0,2***	3,6±0,1*	0,7±0,1***	5,8±0,6***	0,6±0,2***	0,5±0,1**	2,8±0,3**	2,1±0,2***	3,8±0,1***

Примечание. * – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); ** – статистически значимые различия по сравнению с действием ЦФ ($p < 0,05$).

соотношениях отмечено повышение уровня киллерной способности, но оно статистически не достоверно (табл. 3).

На введение иммуностимулятора стимфорте в реагируют как центральные, так и периферические органы иммунной системы. Коровое вещество увеличено в размерах, заполняет большую часть долек тимуса (рис. 3А; см. цветную вклейку, стр. 2). Фолликулы белой пульпы селезенки крупные, с отчетливыми границами и разграничением Т- и В-зависимых зон, плотно заполнены клетками лимфоидного ряда и макрофагами, широкими реактивными центрами (рис. 4А, Б; см. цветную вклейку, стр. 2). В красной пульпе органа наблюдается повышенная лимфатизация (рис. 4В; см. цветную вклейку, стр. 2). Расширенные сосуды тимуса, и селезенки заполнены форменными элементами крови с преобладанием лейкоцитов (рис. 3Б, 4В).

Введение мышам препарата стимфорте в монорежиме не вызывает токсического поражения паренхиматозных органов – печени, почек и легких. Наблюдаются лишь небольшие перипортальные (в печени), перибронхиальные (в легких) и интерстициальные (в почках) лимфоидные ин-

фильтраты. Отмечена гиперемия органов и активизация макрофагальной системы: купферовских клеток в печени, альвеолярных макрофагов в легких и интерстициальных клеток в почках.

При введении стимфорте на фоне индуцированной иммуносупрессии в селезенке мышей более чем в два раза повышается количество МЛ (табл. 1), среди которых выявляются молодые клетки лимфоидного ряда. Иммунофенотип МЛ мышей, которым после инъекций ЦФ был введен стимфорте, имеет следующие характеристики. Остается сниженным по сравнению с контролем число клеток, экспрессирующих поверхностные маркеры CD3, CD4, CD25, CD19 и F4/80 (табл. 2). Важно, что у экспериментальных животных данной группы количество МЛ с маркерами CD4, CD19, F4/80 статистически значимо выше, чем у мышей, получавших инъекции только цитостатика. В то же время количество клеток, несущих антигены CD3/NK1.1, CD25 и особенно – CD4/CD25 и CD8 почти на порядок ниже (табл. 2).

Под влиянием стимфорте на фоне индуцированной циклофосфаном иммуносупрессии повышается цитотоксическая активность МЛ мышей

ТАБЛИЦА 3. ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ МЫШЕЙ ПО ОТНОШЕНИЮ К ЛИНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЫШИНОЙ ЛИМфомы YAC-1, $M \pm m$

Группа	Цитотоксичность в % при соотношении клетки-мишени/клетки-эффекторы			
	1:10	1:5	1:2	1:1
1. Контрольная	54,1±4,1	46,1±6,4	33,2±4,2	21,3±2,4
2. Введение ЦФ	25,8±3,2*	17,2±3,6*	14,3±5,2*	9,7±2,8*
3. Введение Стимфорте	70,3±1,3*	53,2±6,1	36,4±3,2	24,4±5,4
4. Введение ЦФ и Стимфорте	37,2±2,3**	25,3±6,7**	22,3±3,3**	4,4±1,2**

Примечание. * – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); ** – статистически значимые различия по сравнению с действием ЦФ ($p < 0,05$).

при соотношении клетки-эффекторы/мишени 1:10, 1:5 и 1:2 (табл. 3). Однако данные показатели не достигают контрольных цифр, а при соотношении клетки-эффекторы/мишени 1:1 оказываются значительно ниже контрольных значений и даже ниже показателей, полученных при 4-кратной инъекции циклофосфана (табл. 3).

При комбинированном введении циклофосфана со стимфорте через сутки после инъекций иммуномодулятора появляются признаки восстановления структуры исследуемых органов. Существенно восполняется количество в них клеточных элементов, нормализуется взаимоотношение стромальных структур и клеток лимфоидного ряда (рис. 5, 6; см. цветную вклейку, стр. 2). Однако в исследуемые сроки в долях тимуса не отмечается четкого разделения на корковое и мозговое вещество (рис. 5). В лимфатических фолликулах белой пульпы селезенки не наблюдается разграничения зон, красная пульпа имеет разрыхленный характер (рис. 6).

Обсуждение

Наиболее часто применяемый в клинической практике противоопухолевый препарат — циклофосфан — известен как сильный иммунодепрессант и наиболее часто используется для получения иммуносупрессии у мышей. Миело- и лимфосупрессивный эффекты ЦФ были описаны еще в середине 60-х годов прошлого столетия [10, 15]. Супрессивное действие ЦФ проявляется уже в терапевтических дозах, которые для мышей составляют более 10 мг/кг веса, а для человека — более 5 мг/кг. ЦФ в дозе 20 мг/кг вызывает уменьшение числа мононуклеарных лейкоцитов у мышей, причем количество Т-лимфоцитов уменьшается на 50% процентов. По данным Qin, ЦФ при ежедневном введении по 20 мг/кг в течение 7 дней вызывает снижение пролиферативной активности спленоцитов [16]. Высокодозная химиотерапия в максимально переносимых дозах (200 мг/кг) вызывает резкое снижение (на 90%) количества Т-лимфоцитов [14]. Среди эффектов ЦФ — резкое снижение костномозговых Т-клеток вплоть до 10-х суток [3], снижение количества незрелых миелоидных и эритроидных элементов [4]. В малых терапевтических дозах алкилирующие химиотерапевтические агенты, напротив, оказывают иммуностимулирующее действие за счет угнетения Т-супрессорной субпопуляции [14].

Разработанная в нашем исследовании модель индуцированной иммуносупрессии с помощью 4-кратного введения циклофосфана в дозе 100 мг/кг веса мышей, во-первых, подтверждает лимфо- и иммуно-супрессивное действие цитостатика (снижение числа Т- и В-лимфоцитов,

макрофагов, NK и их киллерной активности), во-вторых, позволяет изучить на данном фоне возможности корректирующего влияния исследуемого иммуномодулирующего препарата — стимфорте.

В ряде исследований показано, что иммуномодуляторы различной природы способны восстанавливать количественный и субпопуляционный состав лимфоидных клеток после действия цитостатиков [8]. В существующих подходах применяются различные цитокины, чаще всего — колониестимулирующие факторы GM-CSF и G-CSF, сокращающие длительность нейтропении, но при этом, как было показано авторами, не влияющие на состояние здоровья и продолжительность жизни больных [16]. Некоторые исследования продемонстрировали положительное действие потенциала цитокинов, которые обычно используются для коррекции иммунной системы. Например, интерлейкин-2 в сочетании с G-CSF не только нормализовали число нейтрофилов, но и повышали количество, а также активность эффекторов противоопухолевого иммунитета — NK- и Т-лимфоцитов [18].

Полученные в исследовании данные показывают, что введение стимфорте на фоне индуцированной иммуносупрессии вызывает увеличение количества мононуклеарных лейкоцитов в селезенке экспериментальных мышей почти в два раза, но в течение нескольких суток исследования их число не восстанавливается до контрольных цифр. Субпопуляционный состав лимфоцитов также не достигает соответствующих показателей, характерных для интактных животных. Однако количество эффекторов врожденного ($F4/80^+$ клетки) и адаптивного ($CD4^+$, $CD19^+$ клеток) иммунитета через сутки оказывается значительно выше у животных, получивших после 4-кратного введения цитостатика инъекцию иммуномодулирующего препарата. Восстановление количественного и качественного состава мононуклеарных лейкоцитов у животных при введении стимфорте отражается на морфологической характеристике лимфоидных органов, которая приближается к норме под влиянием изученного иммуномодулятора.

Заключение

Лимфо- и иммуносупрессивный эффекты, вызванные введением циклофосфана у экспериментальных животных, могут быть снижены при применении иммуномодулирующего препарата стимфорте. Это проявляется в увеличении количества МЛ в селезенке мышей, в восстановлении структуры центральных и периферических лимфоидных органов, субпопуляционного состава МЛ и их цитотоксических свойств после инъек-

ции стимуляторе на фоне индуцированной циклофосфаном иммуносупрессии.

Список литературы

1. Ванько Л.В., Сухих Т.Г. Естественная цитотоксическая активность клеток костного мозга и селезенки мыши в процессе регенерации после воздействия циклофосфамида // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 1983. Т. XXVI. — № 12. — С. 84-86.
2. Дерябин П.Г., Исаева Е.И., Мальдов Д.Г., Ильичев А.В., Пичугина Л.В., Львов Д.К. Действие препарата стимуляторе на инфекцию, вызванную вирусом гепатита С генотипа 1b // Вопросы вирусологии. — 2009. — № 2. — С. 17-20.
3. Жданов М.М., Дыгай А.М., Минакова М.Ю., Гольдберг Е.Д. Участие процессов связывания кроветворных клеток со стромальными элементами костного мозга и восстановлении гемопоэза цитостатических миелосупрессиях // Гематол. и трансфузиол. — 1998. — Т. 43, № 4. — С. 14-17.
4. Запускалова О.Б. Морфофункциональное состояние лимфоидной ткани через 1 месяц после введения циклофосфана в эксперименте // Механизмы патологических реакций. — 1988. — Т. 5. — С. 35-38.
5. Запускалова О.Б., Богдашин И.В., Новицкий В.В. Коррекция диуцифоном нарушений иммунитета, вызванных введением цитостатических препаратов // Иммунология. — 1990. — № 6. — С. 24-27.
6. Ильичев А.В., Бельков А.П., Мальдов Д.Г., Асташин Е.И. Секретция гранул нейтрофилов человека под действием формилпептида и препарата стимуляторе // Иммунология. — 2009. — № 3. — С. 159-161.
7. Стеценко О.Н., Борзова Н.В., Линднер Д.П., Иванова А.С. Влияние иммуномодулятора полиоксидония на восстановление костного мозга, поврежденного действием гидрокортизона и циклофосфана // Иммунология. — 2005. — № 6. — С. 27-32.
8. Cho W.C., Leung K.N. In vitro and in vivo immunomodulating and immunorestorative effects of *Astragalus membranaceus* // J. Ethnopharmacol. — 2007. — Vol. 113 (1). — P. 132-141.
9. Chuang Y.H., Lian Z.X., Yang G.X., Shu S.A., Moritoki Y., Ridgway W.M., Ansari A.A., Kronenberg M., Flavell R.A., Gao B., Gershwin M.E. Natural killer T cells exacerbate liver injury in a transforming growth factor beta receptor II dominant-negative mouse model of primary biliary cirrhosis // Hepatology. — 2008. — Vol. 47 (2). — P. 571-580.
10. Dietrich F.M., Dukor P. The immune response to heterologous red cells in mice. IV. Induction of unresponsiveness to weakly immunogenic red cells by cyclophosphamide and cortisone acetate // Clin. Exp. Immunol. — 1968.
11. Goodman L.S., Gilman A. The Pharmacological Basis of Therapeutics (eds A.G. Gilman, L.S. Goodman, L.S. Rall, F. Murad). — Macmillan, New York, 1975. — Chapter 55. — P. 1255.
12. Hirakata Y., Furuya N., Tateda K., Yamaguchi K. A protective role for lymphocytes in cyclophosphamide-induced endogenous bacteraemia in mice // J. Med. Microbiol. — 1995. — Vol. 43. — P. 141-147.
13. Mackova N., Suliova J. Repair processes of haemopoiesis after applying cyclophosphamide. I. Morphological changes in the bone marrow, spleen and thymus // Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch. — 1986. — Vol. 113 (5). — P. 596-604.
14. Motoyoshi Y., Kaminoda K., Saitoh O., Hamasaki K., Nakao K., Ishii N., Nagayama Y., Eguchi K. Different mechanisms for anti-tumor effects of low- and high-dose cyclophosphamide // Oncol Rep. — 2006. — Vol. 16, N 1. — P. 141-146.
15. Murphy G.P., Brede H.D., Weber H.W., van Zyl J.J., Schoonees R., Groenewald J.H., van Zyl J.A., de Klerk J.N., van Heerden P.D., Retief C.P. Renal allotransplantation in the baboon with chemical immunosuppression. // S. Afr. Med. J. — 1968. — Vol. 17, Suppl. — P. 26-37.
16. Qin C.G., Huang K.X., Xu H.B. Effect of *Misgurnus anguillicaudatus* polysaccharide on immune responses of splenocytes in mice // Acta Pharmacol Sin. — 2002. — Vol. 23 (6). — P. 534-538.
17. Sefc L., Psenak O., Sykora V., Sulk K., Necas E. Response of hematopoiesis to cyclophosphamide follows highly specific patterns in bone marrow and spleen // J. Hematother Stem Cell Res. — 2003. — Vol. 12 (1). — P. 47-61.
18. Vinod G., Arun P., Santanu J. Lymphoid tissue in toxicity studies: An over view // Journal of immunology and immunopathology. — 2009. — Vol. 11, issue 2. — P. 125-138.

поступила в редакцию 05.02.2011

отправлена на доработку 12.02.2011

принята к печати 09.03.2011

ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «ДЕЙСТВИЕ СТИМФОРТЕ НА МОНОНУКЛЕАРНЫЕ ЛЕЙКОЦИТЫ И ЛИМФОИДНЫЕ, ОРГАНЫ МЫШЕЙ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ЦИКЛОФОСФАНА» (АВТОРЫ: МАЛЬДОВ Д.Г., ИЛЬИЧЕВ А.В., ЛЕБЕДИНСКАЯ Е.А., ФАДЕЕВА Е.В., ЛЕБЕДИНСКАЯ О.В., АХМАТОВА Н.К., ЧЕТВЕРТНЫХ В.А., ГОДОВАЛОВ А.П., МЕЛЕХИН С.В., КИСЕЛЕВСКИЙ М.В.) (с. 133-138)

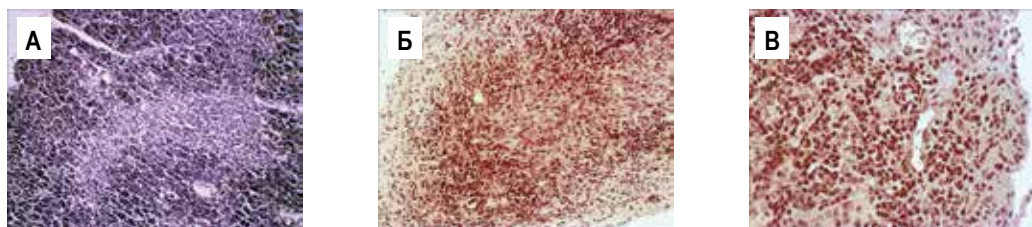


Рисунок 1. Тимус intactной (А) и экспериментальных (Б, В) мышей (через сутки после 4-кратного введения циклофосфана)

Примечание. А — окр. гематоксилином и эозином; Б, В — окр. по Ван Гизону; А — ув. 100; Б — ув. 200; В — ув. 400.

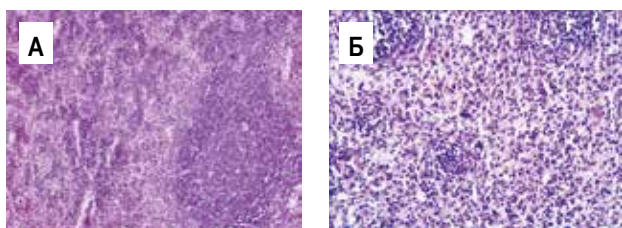


Рисунок 2. Селезенка intactной (А) и экспериментальной (Б) мышей (через сутки после 4-кратного введения циклофосфана)

Примечание. Окр. гематоксилином и эозином; ув. 200.

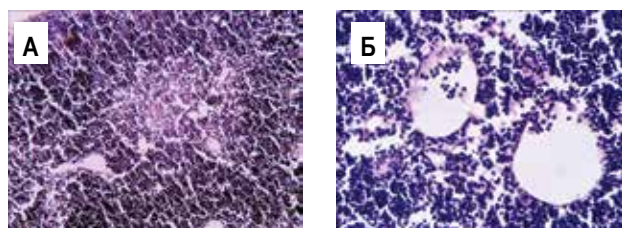


Рисунок 3. Тимус мышей через сутки после 2-кратного введения стимуфорте

Примечание. Окр. гематоксилином и эозином; А — ув. 200; Б — ув. 400.

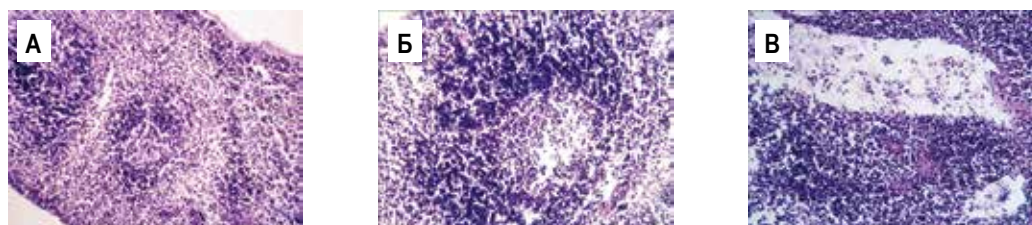


Рисунок 4. Селезенка мышей через сутки после 2-кратного введения стимуфорте

Примечание. Окр. гематоксилином и эозином; А — ув. 100; Б, В — ув. 200.



Рисунок 5. Тимус мыши через сутки после 2-кратного введения стимуфорте на фоне иммуносупрессии, индуцированной 4-кратным введением циклофосфана

Примечание. Окр. альциановым синим; ув. 200.

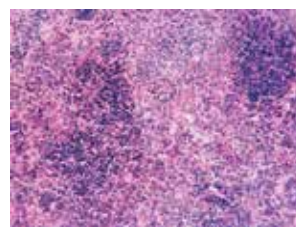


Рисунок 6. Селезенка мыши через сутки после 2-кратного введения стимуфорте на фоне иммуносупрессии, индуцированной 4-кратным введением циклофосфана

Примечание. Окр. метиловым зеленым и пиронином; А — ув. 100.