азота, феррицианиды окисляют железо в геме до Fe3+, при этом нарушается транспорт O_2 и CO_2. Однако, эти нарушения обратимы и менее опасны, чем образование HbCO, поскольку железо легко превращается ферментами обратно в Fe2+.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мосур Е.Ю. Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ "HemoSpectr" № 2001610571, Омский государственный университет (Россия). 17.05.2001.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ МИКРОФЛЮОРИМЕТРИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Голосеев Ю.А., Демченко Е.Ю.,
Щербакова К.В.,Абакумова М.А.
Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт,
Волгоградский государственный м едицинский университет

По богатству и разнообразию возможностей флюоресцентный анализ не имеет себе равных и становится наиболее распространенным как в исследовательской работе, так и в практической деятельности. С помощью флюоресцентного анализа можно определять аминокислоты, белки, витамины, стероиды, неорганические, лекарственные и токсические вещества, ферменты. В основу метода флюоресцентного определения ферментативной активности положено измерение интенсивности свечения люминесцирующих продуктов распада флюорогенных субстратов под действием фермента. К настоящему времени из вестно свыше 50 ферментов обладающих соответствующими флюорогенными субстратами. Среди них такие ферменты как щелочная фосфатаза, β-галактозидаза, пероксидаза широко применяемые в иммуноферментном анализе для получения иммуноконъюгатов. Целью настоящего исследования явилась разработка метода количественной микрофлюориметрии для определения активности ферментов. В работе в качестве примера использовали щелочную фосфатазу (“Serva”, Германия). Концентрация фермента составляла 1мкг/мл. Флюорогенными субстратами служили: 3-метилфлюоресцеинфосфат (МФФ) и 4 - метилумбеллиферилфосфат (МУФ). Флюорогенными субстратами пропитывали фильтры GF/A Whatman (Англия) и вырезали из них штампом диски диаметром 9 мм. Изготовленные из боросиликатной стекломикрофибры фильтры обладают высокой химической стойкостью при низкой собственной флюоресценции. Исследуемый ферментсодержащий препарат в карбонатном буфере рН 9,8 объемом 20 мкл наносили на диски, помещали в чашку Петри и инкубировали 15 мин при 37°С. Активность щелочной фосфатазы оценивали по интенсивности люминесценции образующихся продуктов гидролиза субстратов: метилфлюоресцеина и 4-метилумбеллиферона. Интенсивность флюоресценции измеряли с помощью люминесцентного микроскопа "Люмам ИЗ” с фотометрической насадкой ФМЭЛ-I. При необходимости можно воспользоваться световым микроскопом с люминесцентной насадкой ЛН-120. Длина волны возбуждения составляла 490 и 365 нм, регистрации - 510 и 430нм для метилфлюоресцеина и 4-метилумбеллиферона соответственно. При использовании в качестве субстрата метилфлюоресцеина применяли светофильтры возбуждения ФС1-4, БЗ-28, и СЗС-24, запирающие светофильтры микроскопа - ЖС18 + ЖС19, для 4-метилумбеллиферона – УФС1-4, БЗ-28 и СЗС-24, увеличение объектива микроскопа х10, увеличение окуляра х10. В качестве источника излучения использовали ртутно-кварцевую лампу высокого давления ДРШ 250-3. Приемником флюоресценции служил фотоумножитель ФЭУ-79. Измерение проводили зондом диаметром 0,5 мм, который в комплекте с примененным объективом микроскопа обеспечивал фотометрирование участка объекта диаметром 50 мкм. Сигнал с фотонасадки измеряли цифровым вольтметром Щ1310. Контролем служили диски без фермента. Минимально определяемая концентрация фосфатазы, при которой специфическое свечение дисков с ферментом достоверно превышало уровень контроля вдвое характеризовала чувствительность метода. Сравнительный анализ определения щелочной фосфатазы с различными субстратами показал, что использование флюорогенного субстрата МУФ позволяло выявлять 4нг/мл, а флюорогенного субстрата МФФ- 15 нг/мл фермента. Время необходимое для определения фермента составляло 25-30 минут. Аналогичным образом можно определять активность β-галактозидазы и пероксидазы, используя в качестве флюорогенных субстратов 4-метилумбеллиферил-β-D-галактопиранозид и гомованилиновую кислоту. Таким образом, предложенный метод количественной микрофлюориметрии отличается простотой, высокой чувствительностью, требует минимальных объемов реагентов, что позволяет рекомендовать его для использования в лабораторной практике для определения активности ферментов.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ ЛИМФОИДНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЖЕЛУДКА ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ВАНН

Гусейнова С.Т.
Махачкала

Бальнеологические факторы по данным Ю.И. Бородина и соавт. (2004), Т.С.Гусейнова (2004) оказывают значительное влияние на строение и функции многих органов и систем. Однако до сих пор детальное изучение лимфоидных узелков желудка при воздействии сероводородных ванн не произведено. В связи с этим, мы на 30 белых крысах (15-контрольные, 15-экспериментальные) исследовали морфологические изменения лимфоидных узелков желудка в эксперименте с использованием современных анатомических и гистологических методов исследования.

Установлено, что при приеме сероводородных ванн у белых крыс в лимфоидных узелках достоверно ($p < 0,05$) увеличивается количество клеток лимфоидного в 1,44 раза, в том числе малые лимфоциты в 2,84 раза, средние лимфоциты в 1,60 раза, а большие