Биологические науки

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОФЕНОТИПА ЛИМФОЦИТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОРАЖЕННОЙ ОПУХОЛЬЮ ПЕЧЕНИ У МЫШЕЙ

Кузовлев[1] Е.Н., Лебединская[2] О.В., Ахматова[3] Н.К., Доненко[1] Ф.В., Шубина[1] И.Ж., Макашин[3] А.И., Киселевский[1] М.В., Семенов[3] Б.Ф.
[1]ГУ Российский научный онкологический центр им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва
[2]ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия МЗ РФ»
[3]ГУ НИИ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва

Введение. В исследованиях последних лет было показано, что при метастатическом поражении печени паренхиме этого органа инфильтрируются лимфоцитами, которые экспрессируют на своей поверхности маркеры Т-лимфоцитов(CD3, CD4,CD8) и натуральных киллеров (CD16,CD56). Эти печень - ассоциированные лимфоциты, получившие название НК-Т-клеток, обладали высокой цитотоксической активностью и были способны оказывать антиметастатичекое действие.

Цель работы — изучение иммунофенотипа печень-ассоциированных лимфоцитов у мышей с имплантированной опухолью CaO-1.

Материалы и методы

Выделение мононуклеарных лимфоцитов (МНЛ) печени и селезенки. Для проведения экспериментов in vitro на 14 сут. после имплантации опухоли у животных выделяли селезенку и печень, из которых получали клеточную суспензию. Гепатоциты и эритроциты отделяли от МНЛ путем центрифугирования при 50g в течение 5 минут. МНЛ выделяли с помощью центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографин («ПанЭко», плотность 1.088 г/см^3). Клетки отмывали 2 раза средой 199 и ресуспендировали в полной культуральной среде (ПКС) — RPMI 1640 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2мМ глютамина, стрептомицина с пенициллином по 5000 МЕ/мл.

Получение клеток из опухолевого узла печени. Из опухолевого узла получали суспензию клеток, которую затем дважды отмывали в растворе Хенкса и ресуспендировали в ПКС.

Определение иммунофенотипа. Определение иммунофенотипа (экспрессии поверхностных молекул) МНК проводили при помощи моноклональных антител против соответствующих антигенов (“Caltag Laboratories”, США), результаты учитывали методом проточной цитофлюорометрии на проточном цитометре FACScan (“Becton Dickinson”, США). На МНК исследовались уровни экспрессии дифференцировочных антигенов с использование двойной метки CD3-FITC и NK1.1-PE. Гейт (окно) популяции клеток устанавливали на основе комбинации прямого и бокового светорассеяния и размера клеток. При учете результатов подсчитывали 10000 событий в гейте.

Флюоресцентная микроскопия. Определение экспрессии поверхностных маркеров проводили при помощи CD3-FITC и NK1.1-PE моноклональных антител (МкАт) (фирмы Caltag Laboratories, США). МНК инкубировались с МкАт в течение 30мин при 4°С. Затем дважды отмывались в фосфатном буфере путем центрифугирования в течение 10 мин при 100 g. Полученную взвесь клеток наносили на предметные стекла, покрытые полизином. Прижизненную флюоресцентную микроскопию клеток выполняли с использованием люминесцентного микроскопа Axioplan 2, а также цифровой системы регистрации и анализа изображения Axiovision 4.2 (фирма Zeizz, Германия). На МНК исследовали интенсивность экспрессии Т-клеточного антигена CD3 маркера НК-клеток.

Результаты и обсуждение.

Проведение иммунофлюоресцентного анализа показало, что мононуклеарные лейкоциты (МНЛ), выделенные из пораженной опухолью печени, экспрессируют на своей мембране антигены Т - лимфоцитов (CD3) и маркеры НК. В популяции МНЛ селезенки в отличие от печени выявлялись только CD3+ Т-лимфоциты и практически отсутствовали НК+-клетки. Лимфоциты, выделенные из пораженной опухолью печени, образуют две субпопуляции, в одной из которых обнаруживаются практически только Т-лимфоциты (35%), а в другой-НК (18%). Содержание НКТ, несущих одновременно маркеры Т-клеток и НК, в обеих исследованных субпопуляциях колеблется от 1 до 3%. Лимфоциты селезенки интатктых и зараженных опухолью мышей экспрессируют на своей поверхности только CD3+лимфоциты, а содержание НК не превышает 2,5 %.

Согласно данным, полученные в настоящей работе печень-ассоциированные лимфоциты представлены двумя субпопуляциями, каждая из которых преимущественно содержит НК или Т-клетки и лишь небольшое количество лимфоцитов может быть отнесено к НКТ. Таким образом, печень-ассоциированные лимфоциты имеют свои характерные особенности иммунофенотипа и, очевидно, играют важную роль в формировании местного противоопухолевого иммунитета.

ПУТИ ИЗУЧЕНИЯ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ СОСТАВА И СВОЙСТВ СЛЮНЫ

Уразаева Ф.Х., Уразаев К.Ф., Ларина М.В.
Стерлитамакская государственная педагогическая академия, Стерлитамак

Все больший интерес ученых в последние годы привлекает исследование состава и свойств ротовой жидкости человека в норме и патологии (Ф.Х. Камилов, С.В. Чуйкин, Т.С. Чемикосова, 2001; Л.М. Лукиных, С.М. Толмачева, Нижний Новгород, 2004; А.И. Воложин, Г.В. Вершинин, 2004 и др.). Целенаправленные исследования проводятся по возможности использования смешанной слюны как биологической жидкости, получаемой неинвазивным методом, для

характеристики ряда биологических констант, определяемых в плазме крови (И.В. Григорьев, А.А. Чиркин, 1998). Решающее значение в обеспечении гомеостаза имеют содержащиеся в слюне иммуноглобулины (особенно IgA), биологически активные факторы, эффекты которых сходны с действием ряда гормонов белковопептидной природы. Кариесрезистентность твердых тканей зуба зависит от буферной емкости слюны и ее водородного показателя pH. Слюна представляет собой раствор, пресыщенный соединениями кальция и фосфора, однако они не выпадают в осадок, поскольку основу слюны составляют образованные из них мицеллы, соединяющие значительное количество воды. По современным представлениям слюна является коллоидной системой, состоящей из мицелл фосфата кальция (Е.В. Боровский, В.К. Леонтьев, Москва, 1991). Одним из интересных свойств слюны является ее микрокристаллизация, обнаруженная П.А. Леусом (1977), которая имеет особенности в зависимости от состояния организма и полости рта.

Велико значение очищающей функции слюны и содержание в ней неспецифических и специфических факторов иммунитета. Муцины и мукоиды слюны, благодаря высокому содержанию нейраминовой и N-ацетиламиновой кислот способны вызывать связывание микроорганизмов и вирусов. В слюне содержится группа бактерицидных ферментов, таких как лизоцим, бактериолизин, лейкин, лактоферрин, протеазы, ДНК-азы, РНК-азы и др.

В слюне содержится ряд гормонов и биологически активных веществ, часть которых секретируется из плазмы крови, а часть синтезируется, образуется (инкретируется) слюнными железами. К ним относятся андрогены, эстрогены, глюкокортикоиды, инсулин, инсулиноподобный белок, паротин, эритропоэтин, факторы роста нервов, эпидермальный фактор роста, тимотропный фактор и др.

В 1987-1989г.г. возникли новые представления о структуре и механизме ее воздействия на органы полости рта (В.К. Леонтьев, Г.К. Писчасова, М.Г. Галиулина, Т.Л. Пилат, 2002). В отличие от традиционно существующего мнения о слюне как ионно-белковом истинном водном растворе, в котором находится сложный комплекс белков и различных ионов, в настоящее время получены данные, позволяющие представить слюну как структурированную систему. Основу слюны составляют мицеллы, связывающие большое количество воды, в результате чего все водное пространство слюны оказывается связанным и поделенным между ними.

Имеется много фактических данных, подтверждающих правильность такого представления. Во-первых, необычно высокая вязкость слюны при незначительном содержании в ней белка (0,2-0,4%) свидетельствует о высокой степени структурированности этой биологической жидкости. Во-вторых на это же указывает зависимость свойств слюны от pH и ионного состава. В-третьих, одновременное присутствие в слюне несовместимых ионов возможно только при ее мицеллярном строении. В-четвертых, в слюне имеются все условия для мицелирования, например, для образования ядер мицелл. В-пятых, в слюне наблюдаются процессы, характерные для мицелированных систем: высокая лабильность, агрегирование, выпадение в осадок в виде зубного налета и др.

Новые представления о структуре слюны требуют дальнейшего изучения, так как раскрытие сущности этого процесса может открыть совершенно новые подходы к диагностике, профилактике и лечению стоматологических заболеваний и поддержанию физиологического гомеостаза не только полости рта, но и всего человеческого организма.

В психологии анализ телесности как культурно-опосредованного феномена имеет большое значение для понимания психосоматической проблемы, изучаются феномены психосоматических расстройств и нормы и их психологические механизмы развития. Современная психодинамическая теория рассматривает заболевание как результат нарушения биологических и социальных механизмов адаптации к общеприродной и социальной среде. Изучение большого числа случаев заболеваний привело Ф. Данбар к выводу о том, что у больных одной нозологии есть общие личностные черты. Концепция констеляции личностных черт открыла широкую дорогу исследованиям личностных профилей психосоматических больных, она реализуется у разных авторов. Большой теоретический и экспериментальный материал накоплен о системном квантовании физиологических процессов и структурно-организованных коллоидах межклеточного вещества - мицеллах, которые могут играть роль голографического информационного экрана в организме (К.В. Судаков, Г.Ц. Агаянц, Ю.Е. Вагин, С.М. Толпыго, Е. А.Умрюхин, 1997).

Целью наших исследований мы ставим изучение зависимости состава и свойств смешанной слюны пациента от его личностного профиля и показателей электроэнцефалографии. Для этого в условиях клинической лаборатории определяются показатели pH ротовой жидкости, ее буферная емкость, микрокристаллизация и насыщенность ионами кальция. Личностные качества обследуемых определяются методом тестирования.

Показатели гомеостаза организма исследуются неинвазивным методом изучения состава свойств ротовой жидкости, которые играют важную роль в кариесорезистентности твердых тканей зуба, а психологические механизмы адаптации - путем объективного психологического тестирования и изучения данных ЭЭГ. Данные наших исследований представляют практический интерес как для профилактики самого распространенного заболевания на планете - кариеса зубов, так и для изучения искажения психосоматических функций как реакции организма на неблагополучное состояние в полости рта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Е.В. Боровский, В.К. Леонтьев. Биология полости рта. – М.: Медицина, 1991. - С. 182 – 186.

2. А.В. Скальный, И.А. Рудаков Биоэлементы в медицине. – М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. - С.46 –53.

3. Камилов Ф.Х., Чемикосова Т.С., Чуйкин С.В. иохимия тканей ротовой полости. – Уфа: Изд. Башкирского государственного медицинского университета, 1998. –С. 5-39.