*Гомеостаз и эндоэкология***ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛЕКТИНА КЛЕЩЕВИНЫ**

Ахматова Н.К.¹, Лебединская О.В.²,
Киселевский М.В.¹, Шехмаметьев Р.М.²,
Лебединская Е.А.², Мелехин С.В.²
¹ ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва
² ГОУ ВПО ПГМА Росздрава, Пермь

Лектины - сложные белки, обладающие сахаросвязывающей активностью. Высокая специфичность углеводов рецепторной зоны клеток или молекулярной структуры к лектину, то есть комплементарность, лежит в основе многих важных биологических процессов: каталитическое действие, токсический эффект и т.д. Обычно в исследовательских целях применяют лектины растительного происхождения.

Цель работы - изучение влияния лектина клещевины (ЛК) на цитотоксическую активность мононуклеарных лейкоцитов (МЛ) периферической крови здоровых доноров в условиях культурального роста.

МЛ выделены из стабилизированной гепарином периферической крови 20 здоровых доноров. Кровь, разведенную средой 199, центрифугировали в градиенте плотности фиколла-урографина. Мононуклеарные лейкоциты, образовавшие интерфазное кольцо, собирали пипеткой и трехкратно отмывали в среде 199. Для дальнейшего использования в эксперименте культивировали клетки эритробластного лейкоза К-562 и колоректального рака Colo в среде RPMI-1640 с добавлением глутамина, 5% эмбриональной телячьей сыворотки и гентамицина.

При исследовании влияния лектина клещевины на цитотоксическую активность МЛ крови человека предварительно определяли прямое цитотоксическое действие ЛК на клетки линии К-562 и Colo и на мононуклеарные лейкоциты путём введения в культуры различных концентраций препарата (от 0,05 до 0,25 мг/мл). Для выявления цитотоксической активности МЛ использовали тест восстановления 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил) 2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ-тест), являющимся одним из основных методов оценки жизнеспособности и пролиферативной активности клеток. Цитотоксическую активность МЛ определяли на линиях К-562 и Colo. Опухолевые клетки (1×10^6 в 1 мл) инкубировали в культуральной среде с обработанными лектином клещевины МЛ в соотношении 1:5 в микропланшетах (используемые концентрации ЛК - 0,01–1,0 мг/мл). Затем в лунки добавляли витальный краситель МТТ и по оптической плотности, измеряемой на мультискане MS, рассчитывали процент лизиса опухолевых клеток (процент цитотоксичности).

Было выяснено, что ЛК практически не вызывал разрушения мононуклеарных лейкоцитов в концентрации ниже 0,2 мг/мл. Однако жизнеспособность опухолевых клеток обеих линий понижалась в среднем до 80% уже при введении минимальных доз препарата (0,05–0,15 мг/мл).

Выявлено значительное повышение цитотоксичности МЛ в большей степени по отношению к лейкоцитным клеткам К-562 и в меньшей - к клеткам опухоли Colo в присутствии, в основном, низких концентраций ЛК (0,01–0,1 мг/мл). Введение же в культуры МЛ более высоких доз лектина клещевины (от 0,1 до 1,0 мг/мл) приводило к резкому падению цитотоксической способности лимфоцитов. Вероятно, это обусловлено чрезмерной активацией иммунокомпетентных клеток и увеличением секреции ими цитокинов, особенно фактора некроза опухолей, который в высоких концентрациях вызывает явления апоптоза клеток.

Таким образом, только подбор оптимальных доз лектина клещевины может способствовать повышению цитотоксической активности мононуклеарных лейкоцитов периферической крови человека в условиях культурального роста.

НАРУШЕНИЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОТОКСИКОЗА

Бармин В.В., Забазнов В.М.
*Волгоградский государственный
медицинский университет*

Эндоотоксикоз первоначально рассматривался как острый процесс, завершающийся формированием полиорганной недостаточности, основу тяжести которой составляет дефицит функции печени, почек, легких, сердца и головного мозга. В последнее время детально изучена патология, связанная с хроническим воздействием эндогенных токсических соединений. В этой ситуации, помимо классических перечисленных мишеней, тканевому повреждению подвергаются практически все органы и ткани. Развитие репаративной регенерации и компенсации при этом сопровождается развитием процессов, описываемых термином «патологическое ремоделирование».

Цель работы – показать изменения естественного обновления (ремоделирования) костной ткани крыс в условиях хронической эндоотоксичности.

Исследование проводили на 22 белых лабораторных крысах. Методика эксперимента включала в себя воспроизведение хронической эндоотоксичности введением малых доз липополисахарида *S. typhimurium* в течение 15, 30 и 60 суток и морфологическое исследование внутренних органов и костной ткани. Фрагменты кости после фиксации в растворе 4 %-ного нейтрального формалина подвергали декальцинации в растворе ЭДТА, дополнительно применяли окраску по Маллори. Оцифрованные изображения получали с помощью комплекса микроскопа «Micros», камеры «Pixer» и персонального компьютера. Количественную обработку результатов осуществляли с использованием принципов системной стереометрии [Автандилов Г.Г., 2002], для определения профиля оптических свойств костной ткани использовали оригинальные программы «Polosa» и «Radiana», разработанные