

тонеальных клеток (ПК) мышей. Эксперименты проводили *in vitro* на клетках перитонеального трансудата мышей линии BALB/c, стимулированных полным адьювантом Фрейнда.

Пролиферативную активность ЭК оценивали на 3, 5 и 7-е сутки культивирования перитонеальных клеток (ПК) по количеству клеток с морфологическими признаками митозов, а также по экспрессии в ядрах ЭК маркера пролиферации Ki-67 (белка, экспрессирующегося на всех стадиях клеточного цикла, кроме стадии G₀). На 3-5-е сутки культивирования в культурах ПК мышей, стимулированных ПАФ, выявлялись крупные эпителиоидные клетки трех типов: везикулированные, плазмцитоидные и фибробластоподобные. Доминировали плазмцитоидные клетки. Большая их часть на 7-е сутки культивирования формировали кластеры, состоящие из 5-7 и более (до 50) однотипных клеток полигональной формы, плотно прилегающих друг к другу. В каждом из кластеров выявлены ЭК с иммуноцитохимической окраской ядер на Ki-67: 10-15% от всех ЭК, содержащихся в одном кластере. В всех 2-ядерных клетках каждое из ядер экспрессировало Ki-67. Выявлены ЭК с крупными ядрами, окрашенными на Ki-67 с морфологическими признаками, характерными для эндомитозов. При этом классические митотические фигуры не были обнаружены. Таким образом, исходя из полученных данных, можно поставить вопрос о необходимости изучения возможности индукции пролиферативных процессов в популяциях ЭК при гранулематозном воспалении на моделях *in vivo*.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА МАКРОФАГОВ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ФИБРОБЛАСТОВ В СМЕШАННЫХ КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК

**С.А. Архипов, В.А. Шкурупий,
Е.С. Ахраменко, Д.А. Ильин,
М.В. Зайковская**

*Научный центр клинической и
экспериментальной медицины СО
РАМН
Новосибирск, Россия*

Изучение межклеточных и клеточно-матриксных механизмов, реализующихся в процессе хронического воспаления, сопровождающегося развитием фиброза и нарушением паренхиматозно-стромальных отношений, необходимо для разработки средств лечения и профилактики этого процесса. В связи с этим возникает необходимость в разработке новых экспериментальных моделей для изучения механизмов взаимодействия между клетками иммунной системы и соединительной ткани при индукции фибропластических процессов. В рамках этого направления проводили изучение взаимосвязи апоптоза макрофагов (Мф) и пролиферативной активности фибробластов (Фб) при совместном культивировании Мф и Фб.

Исследовали апоптоз и пролиферативную активность Фб (перевиваемой линии L929 мышей СЗН) в сингенной системе *in vitro* при совместном инкубировании с перитонеальными Мф мышей линии СЗН. Оценку апоптоза клеток проводили по цитоморфологическим критериям, а также посредством идентификации клеток, экспрессирующих маркер индукции апоптоза – активированную каспазу-3 (Cas-3). Пролиферативную активность Фб оценивали по количеству клеток с морфологическими признаками мито-

зов, а также по экспрессии в ядрах Фб маркера пролиферации Ki-67 (белка, экспрессирующегося на всех стадиях клеточного цикла, кроме стадии G₀). В контрольных культурах Мф и Фб наблюдали лишь единичные клетки с признаками экспрессии маркера необратимой индукции апоптоза – активированной Cas-3. Относительная численность Фб, Мф в состоянии апоптоза в смешанных культурах возросла в несколько раз относительно аналогичного показателя в соответствующих контролях (отдельно в культурах Фб и Мф) на 1 сутки культивирования. В дальнейшем отмечена обратная корреляционная связь между уровнем индукции апоптоза Мф в смешанных культурах и пролиферативной активностью Фб. На 3-и сутки культивирования в культурах в количественном отношении доминировали Фб. Таким образом, установлено, что в процессе развития апоптоза Мф продуцируют факторы стимулирующие пролиферативную активность Фб.

**РАЗНОНАПРАВЛЕННЫЕ
ЭФФЕКТЫ H₂O₂ НА МАКРОФАГИ
И ФИБРОБЛАСТЫ В УСЛОВИЯХ
МОДЕЛИРОВАНИЯ
ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА
IN VITRO**

**С.А. Архипов, В.А. Шкурупий,
М.В. Зайковская, Е.С. Ахраменко,
Д.А. Ильин**

*Научный центр клинической и
экспериментальной медицины СО
РАМН
Новосибирск, Россия*

К одному из способов экспериментального моделирования апоптоза, развивающегося при окислительном стрессе, относят индукцию апоптоза воздействием на клетки H₂O₂. Извест-

но, что в высоких концентрациях H₂O₂ выполняет роль сильного окислителя, вызывающего повреждение нуклеиновых кислот и белков, что может приводить к гибели клеток в зоне воспаления по механизму некроза и апоптоза. В зоне воспаления клетки разных типов подвергаются воздействию многочисленных факторов, влияющих на их жизнеспособность. Часть клеток быстро повреждается в результате развития некроза, значительная масса клеток гибнет путем развития апоптоза. В этом контексте возникает необходимость понимания механизмов, лежащих в основе биологического "выбора" организмом различных путей гомеостазирования различных типов клеток, включающего деструктивные процессы (некроза, приводящего к разрушению тканей, апоптоза - возможного регулятора воспалительного ответа), репаративных процессов или фиброгенеза.

Моделирование окислительного стресса осуществляли с помощью H₂O₂, добавленной в среду 2-сут фибробластов (Фб) линии L929 мыши С3Н или 2-сут культуру перитонеальных макрофагов (Мф) этой же линии мышей. Индукцию апоптоза Фб и Мф оценивали по морфологическим признакам и по экспрессии активированной каспазы-3. Внесение в культуральную среду H₂O₂ в конечной концентрации 10 мМ вызывало некроз у всех Мф и Фб уже через 1 час после воздействия. При внесении в культуральную среду H₂O₂ в концентрации 1 мМ наблюдали характерные морфологические признаки апоптоза в культурах Фб и Мф. При снижении в культуральной среде концентрации H₂O₂ до 100 мкМ повреждающее воздействие на Мф сохранялось: выявлялись апоптотически измененные Мф. Напротив, при использовании этой же концентрации в культуре Фб отмечались признаки стимуляции их