

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

пролиферативной активности: возросло количество митозов. Таким образом, показано, что один и тот же фактор может оказывать совершенно противоположные эффекты на различные в гистогенетическом и функциональном отношении типы клеток. Полученные данные могут представлять интерес к контексту понимания механизмов индукции фибропластических процессов при воспалении.

**ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ
МНОГОЯДЕРНЫХ
ФИБРОБЛАСТОВ ЛИНИИ
L929 МЫШИ СЗН**

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

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

К одному из компенсаторно-приспособительных механизмов, способствующих сохранению адаптационных возможностей организма при различных патологических процессах, относят молекулярно-клеточные механизмы, обуславливающие появление многоядерных клеток. Увеличение числа ядер или их пloidности в клетке рассматривается как один из клеточных механизмов, противостоящих повреждению ДНК в генетическом аппарате клетки. Многоядерность и полипloidия не исчерпывается только генетической устойчивостью. Увеличение пloidности клеток может приводить к усилению обмена веществ в клетках, способствуют увеличению их размеров и функциональных по-

тенций. Вместе с тем, биологическая сущность феномена «многоядерности» еще недостаточно изучена.

Исследовали закономерности активации Cas-3 в одноядерных и многоядерных фибробластах (Фб) линии L929 мыши СЗН при развитии апоптоза под действием H_2O_2 , использованной в качестве индуктора окислительного стресса, а также продукции основного фактора роста Фб – bFGF. При воздействии 1мМ в культурах Фб L929 отмечали нарастание числа Фб, специфически окрашенных на активную Cas-3 (иммуноцитохимическим методом). На 3-й час после внесения в среду H_2O_2 около 50% одноядерных и 70% многоядерных Фб содержали в своей цитоплазме активную Cas-3. Показано, что динамика нарастания уровня экспрессии активированной Cas-3 после воздействия H_2O_2 в одноядерных и многоядерных Фб имеют различия. Получены данные, указывающие на то, что активационные проапоптотические Cas-3-зависимые процессы, приводящие к апоптотической гибели Фб после активации Cas-3, в многоядерных Фб линии L929 развиваются медленнее, чем в одноядерных Фб. Вероятно, это обусловлено тем, что уровни экспрессии Cas-3 были сходными по величине в многоядерных и одноядерных Фб. Напротив, уровень экспрессии bFGF в многоядерных Фб был выше, чем в одноядерных Фб. Таким образом, показано, что уровни функциональной активности ядер в многоядерных клетках при индукции продукции в них проапоптотических и профибропластических факторов может быть различны.