мг/кг 20Е; III - вводили соответствующий объем 0,9% NaCl (чистый для инъекций, производство ЗАО «Верофарм», Воронеж), в котором растворяли 20Е. Через 12 ч крыс под легким хлороформным наркозом декапитировали. Кровь стабилизировали гепарином (раствор для инъекций 5000 ЕД в 1 мл, -Московского эндокринного завода) в разведении 1:1 в 0,9% NaCl. Подсчет лейкоцитов и определение лейкоцитарной формулы вели по общепринятым методам (Меньшиков, 1987). Фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов определяли методом дрожжевого фагоцитоза (Bianka, 1991; Vetvica, 1996). Результаты статистически обрабатывали, достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента (Лакин, 1990). Показано, что у интактных самок общее количество лейкоцитов ниже (P<0,2), чем у самцов за счет нейтрофилов и моноцитов, количество эозинофилов и лимфоцитов наоборот выше. Общее количество лейкоцитов в крови крыс (самок и самцов) при действии 20Е практически не изменяется. Однако наблюдается достоверное с пониженной надежностью (0,05<P<0,1) повышение общего числа гранулоцитов на 34% у самок и 36% у самцов за счет повышения (P<0,2) доли нейтрофилов на 35% у самок и 29% у самцов, в основном за счет палочкоядерных на 82% у самок (P<0,2) и 43% у самцов (P<0,3) и эозинофилов на 27% у самок и в 2,2 раза у самцов (P<0,05) по сравнению с интактными. Это свидетельствует об и активации неспецифических реакций защиты организма животного. Наряду с этим наблюдается снижение числа агранулоцитов у самок (0,05<P<0,1) и у самцов (P<0,05) за счет снижения (P<0,05) лимфоцитов у самок и самцов (0,05<P<0,1), что характеризует вторую стадию защитной реакции клеток белой крови. При этом заметно повышается (P<0,1) количество моноцитов у самок, тогда как у самцов эти изменения незначительны. Инъекции 0,9% NaCl повышают общее количество лейкоцитов в крови крыс за счет гранулоцитов на 38% у самок (P<0,3) и 41% у самцов (P<0,1), прежде всего нейтрофильных на 45% у самок (P<0,3) и 38% у самцов (P<0,1), в основном палочкоядерных - в 2,2 (P<0,01) раза у самок (у самцов не изменяются вовсе) и сегментоядерных клеток на 48% у самцов (P<0,05) по сравнению с интактными. Получается, что эффект 0,9% NaCl сходен в целом с эффектом 20Е, но оказывается более выраженным. Это справедливо и в отношении доли агранулоцитов: она снижается с 84,2 до 76,58% (78,75% при введении 20Е) у самок и с 82,14 до 74,08% (75,0% при введении 20Е) у самцов. По-видимому, такая реакция параметров белой крови связана с неспецифической реакцией организма на введение 0,9% NaCl, действующего как раздражитель (стрессор). Присутствие в растворе всего 0,3% 20Е несколько сдвигает показатели к их исходным величинам у интактных. Через 12 ч после введения 20Е незначительно повышается фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов у самок и с вероятностью более 80% у самцов, что может говорить о повышении активности элементов защитной системы крови. Инъекции же 0,9% NaCl практически не изменяют фагоцитарную активность клеток у самок и, более того, снижают с вероятностью более 70% у самцов по сравнению с исходным уровнем. То есть, действие 20Е действительно отлично от действия своего растворителя (0,9% NaCl). Таким образом, раствор 20Е (содержащий только 0,3% вещества и 99,7% NaCl) вызывает тенденцию к нормализации картины белой крови крыс и повышает фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов, что свидетельствует о его адаптогенном действии. Эффект 20Е не сводится к эффекту NaCl.

Работа поддержана грантом: Б0084/1318 ФЦП “Интеграция” и КЦФЕ МО РФ (А03-2.12-491).

ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДЗАВИСИМОГО МЕТАБОЛИЗМА НЕЙТРОФИЛОВ И МОНОЦИТОВ ПРИ НЕКОТОРЫХ ДИФФУЗНЫХ БОЛЕЗНЯХ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Романова Н.В.
Государственная медицинская академия, Ярославль

Активация кислородзависимого метаболизма циркулирующих фагоцитов (преимущественно нейтрофилов) продемонстрирована при ряде ревматических заболеваний, в том числе при диффузных болезнях соединительной ткани (ДБСТ), в том числе при системной красной волчанки (СКВ). В значительно меньшей степени изучен оксидативный стресс лейкоцитов при кожных формах красной волчанки (ККВ). При очаговой и системной склеродермии (ОСД, ССД) исследования в этом направлении выполнены единичными исследователями с крайне противоречивыми результатами. В доступной литературе мы не нашли работ, касающихся развития при красной волчанке и склеродермии оксидативного стресса в нейтрофилах и моноцитах, являющихся ключевыми клетками острого и хронического воспалительного процесса.

Нами исследован кислородзависимый метаболизма нейтрофилов (НФ) и моноцитов (МН) с помощью тестов люминолзависимой и люцигенинзависимой хемилюминесценции, отражающих соответственно продукцию высокотоксичных активных форм кислорода (АФК) в системе миелопероксидазы и менее токсичного супероксиданиона, а также уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) у 48 больных СКВ, у 22 – ККВ, у 24 больных системной склеродермией (ССД), у 19 – ограниченной склеродермией (ОСД) и у 22 здоровых донора.

У больных СКВ по данным тестов люцигенин- и люминолзависимой хемилюминесценции кислородзависимый метаболизм как НФ, так и МН, был увеличен, характеризуясь выработкой широкого спектра АФК (в том числе высокотоксичных, с мощным гистодеструктивным действием) на фоне увеличения уровня ЦИК. Гиперпродукция супероксиданиона НФ у больных СКВ коррелировала с уровнем ЦИК. В отличие от СКВ, у больных ККВ оксидативный стресс по обоим тестам затрагивал только НФ при более низкой частоте обнаружения ЦИК. Стимулированные тесты хемилюминесценции либо соответствовали контролю, либо были снижены. Коэффициенты активации фагоцитов при обеих формах красной волчанки, как правило, были уменьшены (в большей степени

при СКВ), свидетельствуя о снижении резервных функций МН и НФ. Было установлено достоверное увеличение люминолзависимой спонтанной хемилюминесценции НФ, коэффициента активации люцигенинзависимой ХЛ НФ и уровня ЦИК в развитии более высокой активности СКВ. Хроническое течение СКВ ассоциировалось с более низкими показателями индуцированной люцигенинзависимой ХЛ МН по сравнению с подострым течением. Уровень ЦИК при хроническом течении СКВ, в отличие от острого течения, был снижен.

У больных ОСД установлено избирательное повышение люминолзависимого теста спонтанной хемилюминесценции НФ на фоне увеличения уровня циркулирующих иммунных комплексов. При ССД повышение кислородзависимого метаболизма затрагивало показатели спонтанной люцигенинзависимой и люминолзависимой ХЛ как НФ, так и МН. Уровень циркулирующих иммунных комплексов при ОСД и ССД был повышен, частота обнаружения ЦИК была выше при ССД, однако связей между уровнями ЦИК и развитием оксидативного стресса циркулирующих фагоцитов по данным корреляционного анализа не было отмечено. Индуцированная ХЛ циркулирующих фагоцитов и коэффициенты активации клеток при ССД были достоверно снижены. Отличия в кислородзависимом метаболизме циркулирующих фагоцитов при ОСД и ССД касались выработки более широкого спектра активных форм кислорода и увеличения спонтанной люминолзависимой ХЛ МН при ССД. Нарастание активности процесса при ССД не сопровождалось изменениями метаболического статуса НФ и МН.

Выполненные исследования демонстрируют, с одной стороны общность феномена оксидативного стресса циркулирующих фагоцитов при ДБСТ и, в то же время, его различия в зависимости от формы, активности и течения заболевания. Гиперпродукция АФК фагоцитами в этой ситуации может вызывать деструкцию тканей при СКВ, а также влиять через изменения функций макрофагов на процессы склерогенеза при склеродермии. Характер и степень выраженности оксидативного стресса НФ и МН зависят, прежде всего, от системности патологического процесса, проявляясь наиболее ярко при системных формах ДБСТ. С учетом полученных данных целесообразно использовать методы оценки кислородзависимого метаболизма циркулирующих фагоцитов в качестве дополнительных тестов для диагностики кожных и системных форм красной волчанки и склеродермии, активности и течения СКВ.

СПОСОБНОСТЬ ЦИСПЛАТИНА ПОГЛОЩАТЬСЯ ОПУХОЛЯМИ И ТКАНЯМИ

Смышляева Е.А, Колпакова Н.А.
Томский политехнический университет

Существует большое число комплексных соединений платины, применяющихся при лечении различных форм онкологических заболеваний, например, цисплатин. В литературе практически отсутствуют исследования, посвященные способности цисплатина поглощаться различными опухолями и тканями. Не исследованы также пути выведения препарата из организма. Проведение исследований сдерживается отсутствием высокочувствительных методов для аналитического контроля биологических объектов, содержащих цисплатин в органах, тканях, опухолях и крови онкологических больных. Метод ИВ использован нами для определения содержания платины в биологически активных материалах. Концентрации определяемых этим методом элементов варьируются очень широко – от 10^{-2} до 10^{-8} %. Работа осуществлялась совместно с НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН г. Томска.

Суть метода. Платина из пробы переводится в раствор, который затем помещается в стаканчик для полярографирования. Опускаются электроды: рабочий электрод – импрегнированный графитовый электрод; электрод сравнения – хлоридсеребряный. В течение определенного времени (время электролиза) платина концентрируется на поверхности электрода вместе со ртутью, которая заранее вводится в анализируемый раствор (металл-активатор). Ток окисления металла-активатора, осажденного совместно с платиной, пропорционален содержанию платины в анализируемой пробе. Содержание платины находится методом добавок. Оптимальные условия определения платины методом ИВ: ртутно-графитовый электрод, фон- 1М HCl; потенциал предварительного электролиза –0,6 В.

Нами проводилось изучение способности полиакриламидного геля, пропитанного цисплатином, накапливать и выделять цисплатин в окружающие ткани[1]. Для этого была проведена серия экспериментов по определению платины в различных органах живого организма. Объектами исследования служили образцы опухоли, регионарных лимфатических узлов, периферической крови и легочной ткани у больных раком легкого III стадии. Изучалась степень накопления платины, вводимой в виде препарата цисплатин в биологические ткани больных раком легкого III стадии во время сеанса интраоперационного облучения и распределение платины по организму. Оценка распределения платины по тканям у больных раком легкого, прошедших курс химиотерапии, проводилась в околоопухолевых тканях и крови онкологических больных. Анализ объектов исследования показал, что при внутривенном введении цисплатина наибольшая концентрация платины содержалась в опухолевой ткани (29.9 ± 0.081 мг/кг), затем в регионарных лимфатических узлах (3.7 ± 0.247 мг/кг) и наименьшее количество в легочной ткани (1.7 ± 0.117 мг/кг) и периферической крови (0.8 ± 0.086 мг/кг). Полученные результаты содержания платины в исследованных объектах, позволили скорректировать дозу введения препарата, подтвердить предположение о правильности разработанной схемы внутривенного введения цисплатина, которая обеспечивает адресное поступление радиосенсибилизатора в опухоль и позволяет добиться максимального насыщения препаратом опухолевых клеток, в сравнении с легочной тканью и

[1] Полиакриламидный гель используется в качестве имплантанта при раке груди.