

**ВЛИЯНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ
СРЕДНЕМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПЕПТИДОВ НА ЦИТОХИМИЧЕСКУЮ
АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ**

Тверская государственная медицинская академия, Россия

В настоящий момент наименее изученным вопросом является внутриклеточное содержание среднемолекулярных пептидов и их влияние на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с сепсисом. Данные пептиды неоднозначно влияют на функциональную активность клеток, в том числе и лейкоциты периферической крови [1–3]. Внутриклеточное накопление этих метаболитов влияет как на клеточный геном, так и на функцию оргanelл клеток.

Целью данного исследования явилось изучение накопления пептидов среднемолекулярной массы в клетке и их влияние на тест восстановления нитросинего тетразолия в темно-синий формазан (НСТ) при респираторном взрыве и содержания катионных белков в цитоплазме нейтрофильных гранулоцитов.

Забор крови проводился на 1-е и 7-е сутки в 2 группах пациентов. Основную группу составили 40 больных с сепсисом на фоне перитонита, пневмонии, менингита. Группу сравнения составили 29 здоровых доноров. Средний возраст пациентов обеих групп составил $44 \pm 4,5$ года. Группы были сопоставимы по полу. У пациентов проводился забор венозной крови в гепаринизированные пробирки, которые в дальнейшем использовались для постановки NST-теста и выделения нейтрофильных гранулоцитов с последующим определением в них концентрации среднемолекулярных пептидов. NST-тест проводился при инкубации 100 мкл гепаринизированной крови и 100 мкл 0,2 % раствора нитросинего тетразолия в забуференном физиологическом растворе в течение 30 минут с последующим приготовлением окрашенных микропрепаратов. Рассчитывался средний цитохимический коэффициент (СЦК) по стандартной методике [4]. Для изучения содержания катионных белков из периферической крови на предметных стеклах изготавливались мазки, которые высушивались и фиксировались в 5 % растворе сульфосалициловой кислоты. В дальнейшем микропрепараты окрашивались в 0,1 % растворе бромфенолового синего в боратном буфере с pH 8,2 и докрашивались 1 % водным раствором сафранина (по Шубичу). В клетках рассчитывался средний цитохимический коэффициент [4].

Исследование внутриклеточного содержания среднемолекулярных пептидов производилось после выделения лейкоцитарной взвеси из гепаринизированной крови методом отстаивания и последующего отделения лимфоцитов на градиенте плотности фиккол-верографин с плотностью 1077 г/мл. В дальнейшем, нейтрофильные гранулоциты трёхкратно отмывали в забуференном физиологи-

ческом растворе. К 0,1 мл плотного клеточного осадка приливали 0,9 мл дистиллированной воды и ресуспендировали. Далее, к образцам добавляли 0,5 мл 10 % раствора трихлоруксусной кислоты, центрифугировали 30 минут при 3000 об/мин. К 0,5 мл полученного супернатанта приливали 4,5 мл дистиллированной воды. Образцы фотометрировали на спектрофотометре «Юнико» при длине волны 254 нм, с длиной оптического пути 10 мм против дистиллированной воды.

Результаты: у пациентов основной группы в 1-е сутки наблюдения отмечалось возрастание СЦК восстановления солей тетразолия до $2,0 \pm 0,3$ усл. ед., что свидетельствует об увеличении функциональной активности клеток в период острофазового ответа. В группе сравнения данный показатель соответствовал нормальным значениям и составлял $0,9 \pm 0,1$ усл. ед. Содержание катионных белков у пациентов основной группы было $1,19 \pm 0,1$ усл. ед, в группе сравнения соответствовало норме и равнялось $1,23 \pm 0,1$ усл. ед. Значение уровня внутриклеточного содержания среднемолекулярных пептидов у пациентов основной группы составляло $0,265 \pm 10$ ед. оптической плотности. В группе сравнения данный показатель был ниже и составлял $0,100 \pm 5$ ед. оптической плотности. В дальнейшем, к 7-м суткам наблюдения у пациентов с сепсисом СЦК нитросинового теста увеличивался до $2,4 \pm 0,4$ усл. ед., что в 2,6 раза больше, чем в контрольной группе здоровых доноров. Также продолжал снижаться СЦК содержания катионных белков в клетках до $1,0 \pm 0,1$ усл. ед. Одновременно с этим возрастает концентрация внутри клеток пептидов со средней молекулярной массой до $0,680 \pm 30$ ед. оптической плотности, что в 2,5 раза больше в сравнении с пациентами второй группы.

Таким образом, можно сделать вывод, что увеличение внутриклеточного содержания среднемолекулярных пептидов приводит к усилению респираторного взрыва в нейтрофильных гранулоцитах и уменьшению содержания катионных белков, что является проявлением острофазового ответа, сепсиса и служит лабораторным критерием диагностики данных процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Изменение функциональной активности нейтрофилов и внутриклеточного содержания среднемолекулярных пептидов у пациентов с сепсисом* / О. Б. Поздняков [и др.] // Современные тенденции в образовании и науке : сб. науч. тр. Тамбов, 2013. Ч. 9. С. 94–96.
2. *Winchester, J. F.* Extracorporeal strategies for the removal of middle molecules / J. F. Winchester, P. F. Audia // *Semin. Dial.* 2006. Vol. 19, № 2. P. 110–114.
3. *Практикум по иммунологии* / И. А. Кондратьева [и др.]. М. : Академия, 2004. 272 с.
4. *Справочник по лабораторным методам исследования* / Л. А. Данилова [и др.]. СПб. : Питер, 2003. 736 с.