

ХАРАКТЕРИСТИКА ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ ОТ МАТЕРЕЙ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

БРЮХИН Г.В., КОМАРОВА Т.М.

THE CHARACTERISTICS OF THE PHAGOCYTOTIC ACTIVITY OF MONOCYTES OF THE PERIPHERAL BLOOD OF NEWBORN RATS FROM MOTHERS WITH THE EXPERIMENTAL LIVER DAMAGE

BRYUKHIN GV, KOMAROVA TM

¹Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии (зав. кафедрой – профессор Г. В. Брюхин) ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск; ²кафедра микробиологии, иммунологии и общей биологии (зав. кафедрой – профессор А. Л. Бурмистрова) ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Челябинск

Анализ особенностей фагоцитарной способности моноцитов периферической крови у новорожденного потомства самок крыс с хроническим поражением печени токсического и аутоиммунного генеза с использованием микросфер латекса и золотистого стафилококка (*St.aureus*) позволил установить угнетение их поглощительной и киллинговой активности.

Ключевые слова: поражение печени, крысы, мать, потомство, фагоцитоз

The analysis of features of phagocytosis ability of monocytes of peripheral blood at newborn posterity of females of rats with chronic damage of a liver of toxic and autoimmune genesis with use of microspheres of latex and golden staphylococcus (*St.aureus*) has allowed to establish oppression of their absorbing and killing activity.

Key words: damage of a liver, rat, mother, posterity, phagocytosis

Введение. Актуальность настоящего исследования определяется повсеместным ростом заболеваемости печени, в том числе у женщин фертильного возраста. Ранее нами [1, 2] было показано, что у самок крыс с экспериментальным хроническим поражением гепатобилиарной системы рождается потомство с нарушением морфофункционального становления систем жизнеобеспечения, в том числе репродуктивной, эндокринной, пищеварительной, кроветворной. Учитывая, что резистентность организма во мно-

гом определяется функциональным состоянием лейкоцитарных и макрофагальных клеток, представляет особый интерес изучение особенностей фагоцитарной активности моноцитов периферической крови у потомства самок крыс с хроническим поражением печени различного генеза.

Цель исследования – анализ особенностей поглощительной и киллинговой активности моноцитов периферической крови у потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени различного генеза в период новорожденности.

Материал и методы исследования. Исследование проведено на белых лабораторных крысах. Для достижения поставленной цели у половозрелых крыс (самок) моделировалось хроническое поражение печени различного генеза.

Для моделирования токсического алкогольного поражения печени осуществлялось поение животных 15% этиловым спиртом в условиях свободного доступа в течение 5 месяцев. При этом воду животные не получали [3].

Для воспроизведения хронического аутоиммунного гепатита животные (опытная группа 2) подвергались длительной сенсибилизации гомологичным антигеном печени, приготовленным по общепринятой методике с адьювантом Фрейнда [4] в нашей модификации [5]. Полный цикл иммунизации составил 4 месяца. За весь курс иммунизации животные получали около 400 мг печеночного антигена.

О развитии патологического процесса в печени экспериментальных животных судили на основании морфологических (очаговые бионекротические изменения гепатоцитов, периваскулярная лимфогистиоцитарная инфильтрация, гипертрофия и гиперплазия купферовских клеток, дискомплексация печеночных балок, расширение синусоидных капилляров), биохимических (повышение концентрации билирубина, аланин- и аспартатаминотрансфераз, лактатдегидрогеназы) и иммунологических (повышение титра печеночных аутоантител 1:320 и 1:640) изменений.

Таблица 1

Активность и индекс фагоцитоза частиц латекса моноцитов периферической крови

Группа экспериментальных животных	Фагоцитарный показатель	Фагоцитарный индекс
Контрольная (К)	82,1 + 1,2	10,16 + 0,3
Токсическая (Т)	70,8 + 2,5*	4,52 + 0,5*
Аутоиммунная (А)	72,5 + 1,3*	4,36 + 0,4*

Примечание: * - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

Для оценки поглотительной активности моноцитов периферической крови подопытных крысят использовали биологически инертные, стандартизированные по размеру частицы монодисперсного латекса с диаметром 1,2-1,5 мкм, который в концентрации 10 частиц /1мл (0,02 мл взвеси) добавляли на предметные стекла к монослою клеток. Затем инкубировали в течение одного часа при 37 °С. После чего подсчитывали фагоцитарный показатель (процент фагоцитирующих клеток) и фагоцитарный индекс (число частиц латекса, поглощенных 100 клетками в перерасчете на 1 моноцит).

При определении фагоцитов и внутриклеточного киллинга микроорганизмов моноцитарными клетками периферической крови в качестве тестовой культуры использовали живую суточную культуру клинического бактериального штамма *St.aureus* (штамм ATCC 25923). В этом случае поглотительную и бактерицидную способность моноцитов изучали с помощью общепринятого метода с использованием акридинового оранжевого [6]. Для оценки фагоцитарной и микробицидной способности моноцитов подсчитывали фагоцитарный показатель (процент фагоцитирующих клеток), фагоцитарный индекс (количество клеток *St.aureus*, поглощенных 100 моноцитами в перерасчете на одну клетку) и киллинг (количество убитых микроорганизмов, поглощенных 100 клетками в перерасчете на один моноцит).

Полученные результаты обработаны на компьютере с использованием программы Statistica v.6.0 (Statsoft, Inc.). Учитывая небольшую выборку

животных, достоверность полученных результатов определялась при помощи непараметрического метода – критерия Манна-Уитни.

При проведении экспериментальных исследований были соблюдены «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР от 12.08.1977 № 755).

Результаты исследования и их обсуждение. Общеизвестно, что фагоцитарные свойства макрофагальных клеток определяются, прежде всего, поглотительной и киллинговой активностью [7, 8, 9]. Поглотительную способность моноцитов периферической крови мы оценивали в двух тестах с использованием микросфер латекса и золотистого стафилококка (*St.aureus*).

Прежде всего, нами установлено, что фагоцитарная активность (фагоцитарный показатель) моноцитов периферической крови у новорожденных крысят всех подопытных групп снижен по сравнению с группой сравнения. Кроме того, у подопытных животных имеет место достоверное снижение фагоцитарного индекса.

Наибольший интерес, на наш взгляд, представляют данные, полученные с использованием золотистого стафилококка (*St.aureus*), поскольку они отражают не только поглотительную, но и переваривающую способность моноцитов периферической крови экспериментальных животных. Полученные результаты отражены в таблице №2.

Как видно из таблицы №2, фагоцитарная активность (фагоцитарный показатель) моноцитов периферической крови подопытных животных по отношению к золотистому стафилококку (*St.*

Таблица 2

Бактерицидная активность (внутриклеточный киллинг золотистого стафилококка) моноцитов периферической крови экспериментальных животных

Группа экспериментальных животных	Фагоцитарный показатель	Фагоцитарный индекс	Киллинг <i>St.aureus</i>
Контрольная (К)	81,5+0,9	3,17+0,2	39,08+1,23
Токсическая (Т)	43,8+0,9*	2,06+0,09*	21,35+1,1*
Аутоиммунная (А)	43,3+0,7*	2,0+0,37*	22,10+0,9*

Примечание: * - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

aureus) снижен по сравнению с группой контроля. Наряду со снижением поглотительной активности у моноцитов периферической крови подопытных крысят происходит достоверное уменьшение фагоцитарного индекса.

Результаты данной серии исследования находятся в полном соответствии с данными, полученными при использовании микросфер латекса. Как видно из таблицы 2, у подопытных животных нарушение поглотительной активности моноцитов периферической крови сочетается с выраженным угнетением их бактериоцидных свойств, о чем свидетельствует снижение киллинговой активности на 43%–45%.

Выводы. Полученные результаты позволяют констатировать, что хроническая экспериментальная патология печени самок крыс обуславливает угнетение фагоцитарных свойств моноцитов периферической крови, о чем свидетельствует снижение их поглотительной и киллинговой активности. Ранее нами [1, 2] было показано, что у самок крыс с экспериментальным хроническим поражением гепатобилиарной системы рождается потомство со сниженной жизнеспособностью, на что указывает высокий процент мертворождаемости и смертности в различные сроки постнатального онтогенеза. Логично предположить, что нарушение функционального состояния моноцитов периферической крови у потомства самок крыс с хроническим поражением печени обуславливает снижение уровня их неспецифической резистентности.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать заключение, что одним из патогенетических звеньев развития физиологической незрелости потомства самок крыс с хронической патологией печени является депрессия функционального состояния моноцитов периферической крови.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Брюхин, Г.В. Роль экспериментального поражения печени матери в развитии физиологической незрелости потомства / Г.В. Брюхин, М.Л. Сизоненко // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2012. – № 11. – С. 544-546.
2. Брюхин, Г.В. Активность внеклеточных ловушек макрофагов различных компартментов у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени / Г.В. Брюхин, А.В. Шопова // *Иммунология*. – 2013. – Т. 34, № 6. – С. 304-308.
3. Ласьков, Д.С. Особенности морфофункциональных характеристик сперматозоидов у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени алкогольного генеза / Д.С. Ласьков, Г.В. Брюхин, М.Л. Сизоненко и др. // *Проблемы репродукции*. – 2014. – №2. – С. 18-22.

4. Золотаревский, Н.Б. К сравнительной характеристике экспериментального аутоиммунного гепатита и хронического гепатита человека / Н.Б. Золотаревский, В.Н. Тугаринова, Т.Н. Дрозд // *Морфологические основы клинической и экспериментальной патологии*. М., 1972. – 1972. – С. 161-167.

5. Брюхин, Г.В. Влияние экспериментального аутоиммунного процесса на структурно-функциональные изменения селезенки у потомства / Г.В. Брюхин, Г.И. Михайлова // *Морфология*, 1992. – №5. – С. 76-83

6. Фримель Г. Иммунологические методы: Пер. с нем. / Г. Фримель. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.

7. Маянский, А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – 2-е изд., перераб. и доп. – Новосибирск: «Наука». Сибирское отделение, 1989. – 343с.

8. Маянский, Д.Н. Индукция гранулематозного воспаления печени неинфекционными частицами / Д.Н. Маянский, Д.Д. Цырендоржиев, А.М. Йонкер, Я. Коудстаал, М. Дж. Хардонк // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, 1990. – №5. – С. 45-48.

9. Фрейдлин, И.С. Некоторые морфологические и функциональные характеристики моноцитов периферической крови человека, культивируемых *in vitro* / И.С. Фрейдлин, С.В. Немировский, Т.А. Рудакова // *Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях*. Омск. - 1976. - в. 4. - С. 13-14.

Авторская справка:

1. Брюхин Геннадий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 454048, г. Челябинск, ул. Тарасова, д. 38, кв. 41, тел. +79222375820

2. Комарова Татьяна Михайловна, аспирант кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный университет», 454128, г. Челябинск, ул. 40-летия Победы д. 52, кв. 497, тел +79222317690, Email: t-komm@mail.ru