

РАЗДЕЛ 3 – КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ PART 3 – SHORT ARTICLES

ЛОКОМОТОРНЫЕ И АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ ОТ МАТЕРЕЙ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

Брюхин Г.В.¹, Комарова Т.М.²

¹Южно-Уральский государственный медицинский университет, ²Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия, e-mail: bgenvas@mail.ru

LOCOMOTOR AND ADHESIVE PROPERTIES OF MONOCYTES OF THE PERIPHERAL BLOOD OF NEWBORN RATS FROM MOTHERS WITH EXPERIMENTAL LIVER LESION

Bryukhin GV¹, Komarova TM²

¹South Ural State Medical University, ²Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia, e-mail: bgenvas@mail.ru

Для цитирования:

Брюхин Г.В., Комарова Т.М. Локомоторные и адгезивные свойства моноцитов периферической крови новорожденных крысят от матерей с экспериментальным поражением печени// Морфологические ведомости.- 2017.- Том 25.- № 2.- С. 48-50. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.17\(25\).02.08](https://doi.org/10.20340/mv-mn.17(25).02.08)

For the citation:

Bryukhin GV, Komarova TM. Locomotor and adhesive properties of monocytes of the peripheral blood of newborn rats from mothers with experimental liver lesion. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2017 Jun 30;25(2):48-50. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.17\(25\).02.08](https://doi.org/10.20340/mv-mn.17(25).02.08)

Резюме: Исследована спонтанная и индуцированная миграционная активность моноцитов периферической крови потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени различного генеза в период новорожденности, а также их способность к адгезии и расплыванию. Установлено, что у подопытных животных имеет место угнетение как спонтанной, так и индуцированной миграционной активности моноцитов крови. Наряду с этим, выявлено снижение способности моноцитов подопытных крысят к адгезии и расплыванию.

Ключевые слова: моноциты крови, клеточная миграция, клеточная адгезия, патология печени

Summary. It was studied spontaneous and induced migration activity of monocytes of peripheral blood of the offspring of female rats with experimental chronic liver injury of various genesis in the neonatal period, as well as their ability for adhesion and spreading. It is established that in experimental animals are the inhibition of both spontaneous and induced migratory activity of monocytes. Along with this, showed a reduction in the ability of monocytes in experimental rats for the adhesion and spreading.

Key words: blood monocytes, cell migration, cell adhesion, liver pathology

Введение. Известно, что одним из ведущих показателей любого патологического процесса является характер миграционной активности тканевых макрофагов, в том числе и моноцитов периферической крови. Общеизвестно, что моноциты/макрофаги обладают локомоторными свойствами, в том числе спонтанной и хемотаксической миграцией, которая, в конечном итоге, определяет их полифункциональность. Ранее нами было установлено, что у самок крыс с экспериментальным поражением печени лекарственного генеза рождается потомство с депрессией клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов [1- 2].

Цель исследования - анализ спонтанной и хемотаксической миграции и адгезивных свойств моноцитов периферической крови новорожденных крысят от матерей с экспериментальным хроническим поражением печени различного генеза.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено на белых лабораторных крысах (самках) и их потомстве в период новорожденности. Для достижения поставленной цели у половозрелых крыс (самок) моделировалось хроническое поражение печени различного генеза. Для моделирования хронического токсического поражения печени (опытная группа 1) использовали 40% масляный раствор четыреххлористого углерода (CCl₄), который вводился животным подкожно по 0,1 мл два раза в неделю в течение 2-х месяцев (токсическая группа Т, 6 животных). Для воспроизведения хронического аутоиммунного гепатита животные (опытная группа 2) подвергались длительной сенсибилизации гомологичным антигеном печени, приготовленным по методу с адъювантом Фрейнда [3] в собственной модификации авторов [4]. Полный цикл иммунизации составил 4 месяца. За весь курс иммунизации животные получали около 400 мг печеночного антигена (аутоиммунная группа А, 7 животных). Для моделирования хронического поражения печени половозрелым животным самкам однократно внутривенно вводили 30,3 мг корпускулярной щелочной фосфатазы из кишки свиньи (Phosphatase alkaline, type XVIII from porcine intestine, Sigma-P1891, США) в 0,85% растворе NaCl (мезенхимальная группа М, 7 животных). О развитии патологического процесса в печени экспериментальных животных судили на основании морфологических (очаги некротических изменений гепатоцитов, периваскулярная лимфогистиоцитарная инфильтрация, гипертрофия и гиперплазия Купферовских клеток, дисконфлексация печёночных балок, расширение синусоидных капилляров), биохимических (повышение концентрации билирубина, аланин- и аспартатаминотрансфераз, лактатдегидрогеназы) и иммунологических (повышение титра печеночных аутоантител до 1:320 и 1:640) изменений. Группу сравнения составили новорожденные крысята от интактных животных (контрольная группа К, 8 животных).

Моноциты периферической крови экспериментальных животных получали путём дифференцированного центрифугирования в градиенте плотности фиколла-верографина [5]. Локомоторные функции моноцитов исследовали по методу Nelson et al. [6] с помощью агарозного геля. В лунки, вырезанные в агарозе, помещали моноциты

экспериментальных животных, которые проявляют способность спонтанно выходить и образовывать вокруг лунок равномерную кольцевую зону. Площадь этой зоны отражает спонтанную миграционную активность моноцитарных клеток. Для оценки хемотаксической активности клеток в центральную лунку помещали стандартный хемоаттрактант (супернатант активированных латексом нейтрофилов), в крайние лунки – среду 199, а в средние лунки помещали моноциты и инкубировали при 37°C в течение 18 часов. По площади ассиметричной зоны миграции, вытянутой в сторону хемоаттрактанта, судили о хемотаксической активности моноцитов. Высчитывался индекс хемотаксиса моноцитов, представляющий собой отношение величины миграции клеток к хемоаттрактанту к величине миграции клеток к среде 199 [7]. Адгезивные свойства моноцитов оценивали нединамическим методом, который основан на способности клеток прикрепляться к чистой стеклянной поверхности [8]. Для этого клеточную суспензию в объеме 0,1мл, содержащую 2×10^6 клеток, наносили на чистое предметное стекло и инкубировали во влажной камере при 37°C в течение 30 минут. Адгезивные свойства оценивали по количеству моноцитов, прикрепившихся к стеклу. Этот показатель выражали в процентах от числа всех клеток, нанесенных на стекло. Одновременно с этим проводили оценку распластывания моноцитов через 30 и 60 минут инкубации [9]. За распластанные принимались клетки неправильной формы с наличием отростков и расстоянием между ядром и наружной границей клетки, превышающим радиус ядра [10]. Результаты теста оценивали по количеству распластанных форм к общему числу прикрепившихся клеток в процентах. Полученные результаты обработаны на компьютере с использованием программы Statistica v.6.0 (Statsoft, Inc., USA). Учитывая небольшую выборку животных, достоверность полученных результатов определялась при помощи непараметрического метода – критерия Манна-Уитни. При проведении экспериментальных исследований были соблюдены национальные и международные правила и требования к проведению работ с использованием экспериментальных животных, на исследования получены соответствующие разрешения локальных этических комиссий учреждений, в которых работают авторы.

Результаты исследования и их обсуждение. Прежде всего, нами был проведен анализ локомоторных функций моноцитов периферической крови экспериментальных животных. При этом было установлено, что спонтанная миграционная активность моноцитов подопытных животных несколько снижена по сравнению с группой контроля. Так, если у интактных новорожденных крысят исследуемый показатель составил $1,98 \pm 0,05$, то у животных токсической и мезенхимальной групп он составил, соответственно $1,76 \pm 0,06$ и $1,71 \pm 0,05$. Исключение составили крысята аутоиммунной группы, у которых спонтанная миграционная активность практически не отличалась от контроля. В отличие от спонтанной миграции, хемотаксис моноцитов является целенаправленным процессом, основой индуктора которого является хемотаксическое вещество (хемоаттрактант). В качестве хемоаттрактанта нами использовался супернатант культуры нейтрофилов периферической крови [6]. Установлено, что у подопытных животных токсической, аутоиммунной и мезенхимальной групп индекс хемотаксиса моноцитов достоверно снижен, он составил соответственно $0,93 \pm 0,05$, $1,06 \pm 0,02$ и $0,85 \pm 0,11$, по сравнению с контролем ($1,68 \pm 0,03$).

Выявленное в ходе эксперимента снижение спонтанной миграционной и хемотаксической активности моноцитов периферической крови у потомства самок крыс с патологией печени различного генеза может быть связано с дефектом мембранного компонента клеток и рецепторного аппарата на их поверхности. Известно, что миграционные и адгезивные свойства макрофагов во многом определяются состоянием цитоскелета [11]. Необходимым условием для осуществления миграции клетки являются изменения цитоскелета [12], в том числе увеличение содержания F-актина [13]. Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что угнетение исследуемых показателей у подопытных животных связано с изменениями, происходящими в составе микрофиламентов, содержащих сократительные белки, в том числе актин, обеспечивающих процесс миграции как клеток, так и субклеточных структур.

В следующей серии нашего исследования был проведен анализ адгезивных свойств моноцитов периферической крови экспериментальных животных с помощью нединамического метода (таблица 1). Известно, что на поверхности плазмолеммы клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов имеются многочисленные рецепторы, принимающие участие в процессах адгезии, фагоцитоза, межклеточных взаимодействиях, восприятия регуляторных воздействий [14]. Вместе с тем, адгезия фагоцитирующих клеток к субстрату является одним из проявлений их активации. Адгезия необходима для осуществления всех стадий фагоцитоза, начиная от распластывания на поверхности объекта-мишени и заканчивая перевариванием субстрата [15, 16].

Таблица 1

Адгезивные свойства моноцитов периферической крови экспериментальных животных в % (M±m)

| Экспериментальная группа | Адгезия | | Распластывание | |
|--------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| | Через 30 минут | Через 60 минут | Через 30 минут | Через 60 минут |
| Контрольная (К) | $44,88 \pm 1,6\%$ | $22,6 \pm 0,8\%$ | $22,6 \pm 0,8\%$ | $47,3 \pm 0,8\%$ |
| Токсическая (Т) | $34,02 \pm 1,6\%^*$ | $10,6 \pm 0,2\%^*$ | $10,6 \pm 0,2\%^*$ | $30,2 \pm 0,8\%$ |
| Аутоиммунная (А) | $36,82 \pm 1,2\%^*$ | $18,8 \pm 0,6\%^*$ | $18,8 \pm 0,6\%^*$ | $31,2 \pm 1,3\%$ |
| Мезенхимальная (М) | $30,59 \pm 2,9\%^*$ | $14,7 \pm 0,9\%^*$ | $14,7 \pm 0,9\%^*$ | $27,9 \pm 2,4\%$ |

В результате проведенного исследования нами установлено, что у новорожденных крысят опытных групп процент моноцитов периферической крови, подвергшихся адгезии при 30-минутном культивировании, достоверно снижен по сравнению с контролем. Эти результаты находятся в полном соответствии с данными, полученными при исследовании способности моноцитов периферической крови экспериментальных животных к распластыванию. Как видно из таблицы 1, процент клеток, подвергшихся распластыванию через 30 и 60 минут культивирования, у подопытных животных снижен по сравнению с группой контроля.

Заключение. Таким образом, в результате проведенного авторами экспериментального исследования установлено, что у потомства животных с хроническим поражением печени различной этиологии, имеет место угнетение как

спонтанной, так и индуцированной миграционной активности моноцитов крови. Наряду с этим, выявлено снижение способности моноцитов потомства к адгезии и распластыванию.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Брюхин Г.В., Сизоненко М.Л. Роль экспериментального поражения печени матери в развитии физиологической незрелости потомства // Бюлл. экпер. биол.– 2012.– № 11 – С. 544-546.
2. Брюхин Г.В., Шолова А.В. Активность внеклеточных ловушек макрофагов различных компартментов у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени// Иммунология.– 2013.– Т. 34.- № 6.– С. 304-308.
3. Золотаревский Н.Б., Тугаринова В.Н., Дрозд Т.Н. К сравнительной характеристике экспериментального аутоиммунного гепатита и хронического гепатита человека/ В кн.: Морфологические основы клинической и экспериментальной патологии.- М.,1972.- С.161-167.
4. Брюхин Г.В., Михайлова Г.И. Влияние экспериментального аутоиммунного процесса на структурно-функциональные изменения селезенки у потомства// Морфология.- 1992.– Т. 102.- № 5.– С. 76-83.
5. Фримель Г. Иммунологические методы.- Пер. с нем.– М.: Медицина, 1987.– 472 с.
6. Nelson RD, Quie PG, Simmons RL. Chemotaxis under agarose: a new and simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *J. Immunol.* 1975;115(6):1650-1656.
7. Тоголян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы.– СПб.: Наука, 2000.– 231с.
8. Редчиц Е.Г., Гузева В.О. Адгезия нейтрофилов: патогенетические и методические аспекты// Лаб. дело.– 1991.– № 5.– С. 4-8.
9. Rollan H, Degre H. Effect of beta-interferon on in vitro spreading of mouse peritoneal macrophages. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*– 1982;820(6):389-395.
10. Вихоть Н.Е., Пастер Е.У. Факторы естественной резистентности/ В кн.: Иммунология: практикум.– Киев: Вища школа, 1989.– С. 265-297.
11. Ярилин А.А. Основы иммунологии.- М.: Медицина, 1999.– 608 с.
12. Мухамедова Н.М., Свиридов Д.Д., Карагодин В.П. и др. Липопроптеиды высокой плотности подавляют воспалительную реакцию моноцитов/ В кн.: Сборник научных трудов «Проблемы и перспективы современной науки» с материалами четвертой международной телеконференции «Фундаментальные науки и практика».– Томск, 2011.– Т. 3.- № 1.– С. 64-68.
13. Capo C, Meconi S, Sanguedolce MV et al. Effect of cytotoxic necrotizing factor-1 on actin cytoskeleton in human monocytes: role in the regulation of integrin-dependent phagocytosis. *Journal Immunol.* 1998;161:4301-4308.
14. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге.- Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1989.- 343с.
15. Helmy KY, Katschke KJ Jr, Gordani NN, Kjavina NM, Ellison JM et al. CR1g: a macrophage complement receptor required for phagocytosis of circulating pathogens *Cell.* 2006;124:915-927.
16. Луговская С.А. Структура и функции моноцитов и макрофагов// Клиническая лабораторная диагностика.– 1997.- № 9.– С. 10-16.

Конфликты интересов

Авторы настоящей статьи сообщают о том, что все правила редакции журнала, в том числе относящиеся к соблюдению этических требований и правил отплаты публикации, строго соблюдены и авторы подтверждают отсутствие каких-либо конфликтов интересов, связанных с опубликованием статьи, с исключительными и неисключительными авторскими правами на данную публикацию, связанных с её копированием, распространением и коммерческим использованием, включая интересы третьих лиц.

Авторская справка

Брюхин Геннадий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; e-mail: bgenvas@mail.ru
Комарова Татьяна Михайловна, аспирант кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии, Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия; e-mail: t-komm@mail.ru