

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА МАКРОФАГОВ ПОТОМСТВА САМОК КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ БИСФЕНОЛА А

Гумина А.А., Москвина А.О.

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия, e-mail: annagumina3@gmail.com

Для цитирования:

Гумина А.А., Москвина А.О. Адгезивные свойства макрофагов потомства самок крыс при хроническом воздействии бисфенола А. Морфологические ведомости. 2024;32(2):838. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2024.32\(2\).838](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2024.32(2).838)

Резюме. Бисфенол А является одним из самых часто встречающихся эндокринных дизрапторов, входящих в состав поликарбонатных пластиков, из которых изготавливается широкий спектр изделий для ежедневного использования (пищевые тары, детские игрушки, водосточные трубы, стоматологические материалы и другие). Известно, что иммунорезистентность организма во многом определяется активностью клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов. В связи с вышеуказанным, целью исследования явился анализ влияния бисфенола А на способность к адгезии и распадаванию макрофагов легкого, брюшной полости и моноцитов периферической крови. Исследование выполнено на половозрелых белых лабораторных самках крыс линии Wistar, которые в течение 45 дней ежедневно подвергались воздействию бисфенола А путем принудительного введения раствора под язык в дозе 15000 мкг/кг. Объектом исследования явилось их 60-ти дневное потомство на стадии ранней половой зрелости. Оценивалось содержание макрофагов, их способность к адгезии и распадаванию при разном времени инкубации. Под влиянием бисфенола А происходит угнетение адгезивных свойств мононуклеарных фагоцитов, о чем свидетельствует уменьшение числа адгезировавшихся клеток, в том числе моноцитов периферической крови на 28,7%, перитонеальных макрофагов на 34,6%, а альвеолярных макрофагов на 35,2. Также содержание адгезированных клеток при исследовании перитонеальных макрофагов, альвеолярных макрофагов и моноцитов периферической крови снижалось в опыте на 24,7%, 27,2% и 50,5%, соответственно. Бисфенол А через плацентарный кровоток проникает в кровь плода и оказывает негативное влияние на процесс гемопоэза, в том числе моноцитопоэза, что в конечном итоге обуславливает нарушение становления рецепторного аппарата тканевых и циркулирующих макрофагов. Таким образом, хроническое воздействие бисфенола А на организм самок крыс обуславливает изменение содержания макрофагов различных популяций у потомства, а также угнетает их способность к адгезии и распадаванию, что свидетельствует о несостоятельности рецепторного аппарата клеток.

Ключевые слова: макрофаги, адгезия, бисфенол А, потомство, крысы

Статья поступила в редакцию 15 ноября 2023
Статья принята к публикации 01 октября 2024

FEMALE RAT'S OFFSPRING MACROPHAGES' ADHESIVE PROPERTIES AT BISPHENOL A CHRONIC EXPOSURE

Gumina AA, Moskvina AO

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, e-mail: annagumina3@gmail.com

For the citation:

Gumina AA, Moskvina AO. Female rat's offspring macrophages' adhesive properties at bisphenol a chronic exposure. Morphologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter. 2024;32(2):838. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2024.32\(2\).838](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2024.32(2).838)

Summary. Bisphenol A is one of the most common endocrine disruptors found in polycarbonate plastics used to manufacture a wide range of everyday products (food containers, children's toys, drainpipes, dental materials, etc.). It is known that the body's immune-resistance is largely determined by the activity of cellular elements of the mononuclear phagocyte system. In connection with the above, the aim of the study was to analyze the effect of bisphenol A on the ability of lung and abdominal macrophages and peripheral blood monocytes to adhere and spread. The study was performed on mature white laboratory female Wistar rats, which were exposed to bisphenol A daily for 45 days by forced sublingual treatment of the solution at a dosage of 15,000 µg/kg. The object of the study was their 60-day-old offspring at the stage of early sexual maturity. The content of macrophages, their ability to adhere and spread at different incubation times were assessed. Under the influence of bisphenol A, the adhesive properties of mononuclear phagocytes are inhibited, as evidenced by a decrease in the number of adhered cells, including peripheral blood monocytes by 28.7%, peritoneal macrophages by 34.6%, and alveolar macrophages by 35.2. Also, the content of adhered cells in the study of peritoneal macrophages, alveolar macrophages and peripheral blood monocytes decreased in the experiment by 24.7%, 27.2% and 50.5%, respectively. Bisphenol A penetrates into the fetal blood through the placental bloodstream and has a negative effect on the process of hematopoiesis, including monocyte development, which ultimately causes a disruption in the formation of the receptor apparatus of tissue and circulating macrophages. Thus, chronic exposure of female rats to bisphenol A causes a change in the content of macrophages in various compartments of the offspring, and also inhibits their ability to adhere and spread, which indicates the failure of the receptor apparatus of cells.

Keywords: macrophages, adhesion, bisphenol A, offspring, rats

Article received 15 November 2023
Article accepted 01 October 2024

Введение. Одной из проблем современной биологии и медицины является нарушение функциональных систем организма под влиянием эндокринных дизрапторов, окружающих человека в повседневной жизни. На сегодняшний день остается не изученным опосредованное

влияние эндокринных дизрапторов на морфофункциональное становление систем жизнеобеспечения и иммунорезистентности потомства. Одним из наиболее распространенных дизрапторов в бытовой среде человека является бисфенол А, входящий в состав пластиковых пище-

вых тар, компонентов водосточных труб и иных производственных изделий [1-9]. На сегодняшний день существует недостаток информации по вопросу влияния бисфенола А на характеристики системы мононуклеарных фагоцитов у потомства.

Цель исследования: анализ влияния бисфенола А на способность к адгезии и распластыванию различных популяций макрофагов взрослого потомства крыс.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на половозрелых белых лабораторных самках крыс линии Wistar, которые в течение 45 дней ежедневно подвергались воздействию бисфенола А путем принудительного введения раствора под язык в дозе 15000 мкг/кг. Объектом исследования явилось их 60-ти дневное на стадии ранней половой зрелости потомство (10 крысят). Контрольную группу составили двухмесячные крысята интактных животных (10 крысят). Животные содержались в одинаковых условиях вивария Южно-Уральского государственного медицинского университета. Работа с лабораторными животными проводилась в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для эксперимента или в иных научных целях, от 18.03.1986. Животных выводили из эксперимента путем декапитации после предварительного наркоза трихлорметаном.

Для исследования использовали альвеолярные и перитонеальные макрофаги, а также моноциты периферической крови. Моноциты выделяли путем дифференциального центрифугирования с использованием градиента плотностей фиколл-урографина (1,077 г/см³) [10]. Перитонеальные макрофаги получали путем предварительного введения в брюшную полость теплого физиологического раствора и последующего сбора перитонеальной жидкости пастеровской пипеткой [11]. Альвеолярные макрофаги получали путем бронхоальвеолярного лаважа [12-16]. Предварительно, с помощью камеры Горяева определяли содержание перитонеальных макрофагов на 1 мл клеточной взвеси, альвеолярных макрофагов на массу органа и моноцитов перифериче-

ской крови на 1 мл клеточной взвеси. Для проведения адгезивного теста 0,5 мл клеточной суспензии в концентрации 10⁶ в 1 мл помещали в пластиковые чашки Петри диаметром 4 см и инкубировали при температуре 37°C в течение 30 и 60 минут. По истечении этого времени стекла промывали физиологическим раствором, оставшийся материал фиксировали этанолом и окрашивали по методике Романовского-Гимза. Затем с помощью световой микроскопии определяли показатель адгезии, т.е. суммарное число макрофагов, прикрепившихся к стеклу на стандартной площади в 10 произвольных полях зрения. Не распластанными клетками считались округлые клетки без отростков, а за распластанные принимались макрофаги неправильной формы с тем или иным количеством отростков и с расстоянием между ядром и клеточной оболочкой, превышающим радиус ядра [17-20]. Данный тест оценивали путем определения процентного отношения распластанных форм к общему числу прикрепившихся. Все полученные данные обрабатывались статистически с применением непараметрического критерия Манна-Уитни (U).

Результаты и обсуждение. Прежде всего был проведен анализ содержания макрофагов в каждой популяции, полученные результаты отражены на рис. 1. Как видно из рисунка, у подопытных животных наблюдается снижение содержания всех исследованных популяций макрофагов. При этом наиболее выраженное снижение содержания наблюдается для моноцитов периферической крови (на 51,7%) и альвеолярных макрофагов (на 46,3%), снижение перитонеальных мононуклеаров произошло всего на 32,7%. Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что прямое воздействие бисфенола А на организм матери обуславливает угнетение моноцитопоза у потомства и, как следствие, снижение разных популяций мононуклеарных фагоцитов.

Известно, что на поверхности клеточной оболочки мононуклеарных фагоцитов располагаются многочисленные рецепторы, имеющие важное значение для процессов адгезии, эндоцитоза,

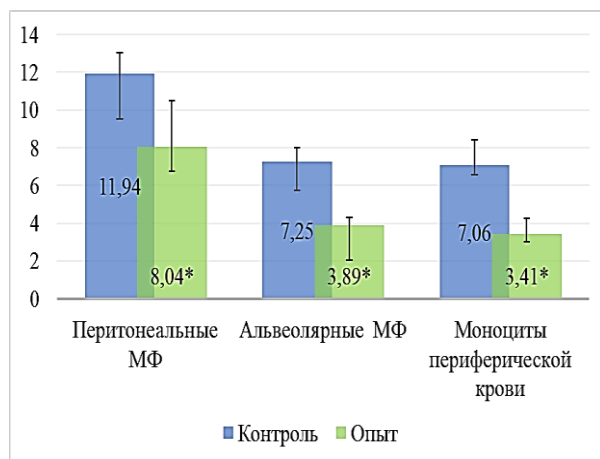


Рис. 1. Диаграмма концентрации макрофагов различных популяций у потомства крыс [95%ДИ]. Обозн.: * - различия статистически значимы ($p < 0,05$)

Таблица 1
Число адгезированных макрофагов различных популяций после 60 минут инкубации в % [ДИ]

Животные	перитонеальные	альвеолярные	крови
Контроль	94,4 [87,9÷97,1]	79,2 [65,9÷82,5]	70,94 [62,91÷71,11]
Опыт	71,0* [67,5÷79,1]	57,6* [53,5÷64,3]	35,2* [28,8÷43,4]

Примечание: * - результаты статистически значимы ($p < 0,05$)

межклеточных взаимодействий, восприятия регуляторных сигналов [21-22]. В связи с этим, в следующей серии нашего исследования был проведен анализ адгезивных свойств моноцитов с помощью нединамического метода. Полученные результаты отражены на рис. 2. Обращает на себя внимание тот факт, что у подопытных крысят под влиянием бисфенола А происходит угнетение адгезивных свойств мононуклеарных фагоцитов, о чем свидетельствует уменьшение числа адгезированных клеток, в том числе моноцитов периферической крови на 28,7%, перитонеальных макрофагов на 34,6%, альвеолярных макрофагов на 35,2%. Аналогичная закономерность была выявлена и при исследовании уровня адгезивных свойств макрофагов различных популяций при более продолжительном инкубировании в 60 минут, при котором отношение адгезированных клеток при исследовании пери-

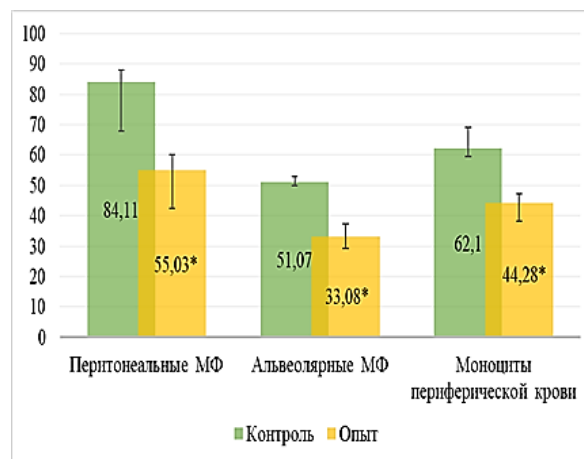


Рис. 2. Диаграмма числа адгезированных макрофагов различных популяций у потомства крыс после 30 минут инкубации в % с 95%ДИ. Обозн.: см. рис. 1

Таблица 2
Способность к расплыванию различных моноцитов после 30 минут инкубации в % [ДИ]

Животные	перитонеальные	альвеолярные	крови
Контроль	55,5 [53,5÷56,3]	61,5 [58,9÷63,1]	57,1 [52,9÷63,1]
Опыт	29,1* [25,9÷34,0]	35,7* [32,4÷40,8]	32,5* [30,3÷36,7]

Примечание: * - результаты статистически значимы ($p < 0,05$)

тонеальных макрофагов, альвеолярных макрофагов и моноцитов периферической крови снижалось в опыте на 24,7%, 27,2% и 50,5%, соответственно (таблица 1). Логич-

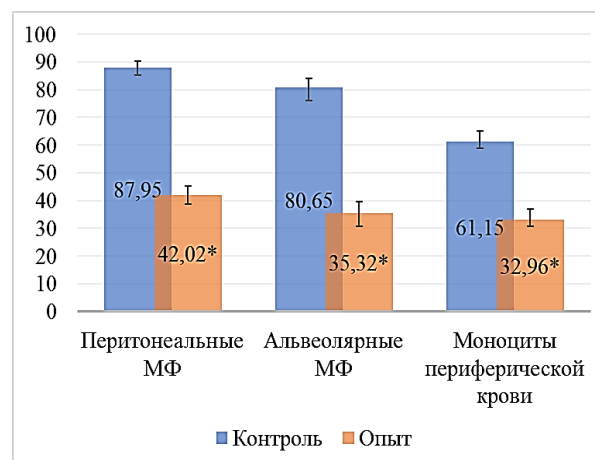


Рис. 3. Способность к расплыванию моноцитов различных популяций у потомства крыс после 60 минут инкубации в % с 95%ДИ. Обозн.: см. рис. 1

но предположить, что бисфенол А через плацентарный кровоток проникает в кровь плода и оказывает негативное влияние на процесс гемопоэза, в том числе моноцитопоэза, что в конечном итоге обуславливает нарушение становления рецепторного аппарата тканевых макрофагов.

Исследуя показатели распластывания, как одного из основных функциональных показателей клеток моноцитарно-макрофагального ряда, мы констатировали, что процентное отношение распластанных клеток к нераспластанным у животных опытной группы снижено по сравнению с контролем. Как видно из таблицы 2, после 30 минут инкубации способность к распластыванию у мононуклеаров опытных крысят статистически значимо снижалась. В частности, показатели перитонеальных макрофагов снизились на 47,5%, альвеолярных на 42,0%, а моноцитов периферической крови на 43,1%. Обращает на себя внимание, что различия между показателями распластывания мононуклеарных фагоцитов экспериментальных животных при 60-минутном ин-

кубирования увеличились. Из рис. 3 видно, что способность к распластыванию статистически значимо снижалась у опытных животных во всех популяциях клеток. Показатели распластывания перитонеальных макрофагов экспериментальной группы на 52,2% меньше, чем у контрольной, альвеолярных на 56,2% и периферической крови на 46,1%. Важно отметить, что при более длительной инкубации способность макрофагов к распластыванию у подопытных животных уменьшалась почти в 2 раза по сравнению с контрольной, что свидетельствует о нарушении функции распластывания мононуклеарных фагоцитов различных популяций у потомства самок крыс, подвергшихся хроническому воздействию бисфенола А.

Заключение. Таким образом, в результате проведенного экспериментального исследования установлено, что у потомства самок крыс, подвергшихся хроническому воздействию бисфенола А, наблюдается угнетение способности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов различных популяций к адгезии и распластыванию.

Литература References

1. Zholdakova ZI, Sinitsyna OO, Kharchevnikova NV. Sovremennoe sostoyanie voprosa o toksichnosti bisfenola a pri vozdeystvii v dozakh, blizkikh k priznannym bezopasnymi. *Toksikologicheskii vestnik*. 2012;4(115):19-25. In Russian
2. Ganichev PA, Markova OL, Eremin GB i dr. Vliyaniye bisfenola a na zdorov'e naseleniya. *Kratky literaturny obzor. Zdorov'e – osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniya*. 2020;15(1). In Russian
3. Khmel' ES, Lyalina AY, Bondarenko NA i dr. Vliyaniye bisfenola a na strukturu i funktsiyu vnutrennikh organov. *Azerbaydzhansky meditsinsky zhurnal*. 2022;4:151-158. In Russian
4. Ganesan S, Keating AF. Bisphenol A-induced ovotoxicity involves DNA damage induction to which the ovary mounts a protective response indicated by increased expression of proteins involved in DNA repair and xenobiotic biotransformation. *Toxicology Science*. 2016;152:169-180. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfw076>
5. Tomza-Marciniak A, Stepkowska P, Kuba J, Pilarczyk B. Effect of bisphenol A on reproductive processes: a review of in vitro, in vivo and epidemiological studies. *J Appl Toxicol*. 2018;38(1):51-80. <https://doi.org/10.1002/jat.3480>
6. Galloway T, Cipelli R, Guralnik J et al. Daily bisphenol A excretion and associations with sex hormone concentrations: results from the InCHI-ANTI adult population study. *Environ Health Perspect*. 2010;118(11):1603-1608. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002367>
7. Meeker JD, Ehrlich S, Toth TL et al. Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic. *Reprod Toxicol*. 2010;30(4):532-539. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.07.005>
8. Mendiola J, Jorgensen N, Andersson AM et al. Are environmental levels of bisphenol A associated with reproductive function in fertile men. *Environ Health Perspect*. 2010;118(9):1286-1291. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002037>
9. World Health Organization. Joint FAO/WHO expert meeting to review toxicological and health aspects of bisphenol A: final report, including report of stakeholder meeting on bisphenol A, 1-5 November 2010. Ottawa, Canada, 2011
10. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(1):23-35. <https://doi.org/10.1038/nri978>
11. Shopova AV. Issledovanie reaktsiy kislorodzavisimogo metabolizma fagotsitov razlichnykh kompartmentov u potomstva samok krys s lekarstvennoy patologiei pecheni. *Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2013;7(298):133-135. In Russian
12. Matichin AA, Katel'nikova AE, Kryshen' KL. Osobennosti otklona bronhoal'veolyarnogo lavazha u laboratornykh zhivotnykh. *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy*. 2019;4. <https://doi.org/10.29926/2618723X-2019-04-06>. In Russian
13. Golokhvost KS, Chayka VV. Al'veolyarny Makrofag (Kratky Obzor). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2011;18(2):23-26. In Russian
14. Jakovlev MJu, Zubairova DL, Krupnik AN. Al'veolyarnye makrofagi v fiziologii i patologii legkikh. *Arkhiv patologii*. 1991;53(4):3-8. In Russian
15. Borie R, Danel C, Debray MP. Pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respir Rev*. 2011;20(120):98-107
16. Carter JM, Corson N, Driscoll KE et al. A comparative dose-related response of several key pro- and antiinflammatory mediators in the lungs of rats, mice, and hamsters after subchronic inhalation of carbon black. *J Occup Environ Med*. 2006;48(12):1265-1278. <https://doi.org/10.1097/01.jom.0000230489.06025.14>

17. Ginhoux F, Jung S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nature reviews Immunology*. 2014;14(6):392-404
18. Ginhoux F, Guilliams M. Tissue-resident macrophage ontogeny and homeostasis. *Immunity*. 2016;44:439-449. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.024>
19. Mendiola J, Jorgensen N, Andersson AM et al. Are environmental levels of bisphenol A associated with reproductive function in fertile men. *Environ Health Perspect*. 2010;118(9):1286–1291. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002037>
20. El'chaninov AV, Fatkhutdinov TH. Makrofagi. Moskva: GEOTAR-Media, 2023.- 208s. In Russian. <https://doi.org/10.33029/9704-7780-9-EAM-2023-1-208>
21. Helmy KY, Katschke KJr, Gorgani NN et al. CRIg: A macrophage complement receptor required for phagocytosis of circulating pathogens. *Cell*. 2006;124: 915–927. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.12.039>
22. Mayansky AN, Mayansky DN. Ocherki o neytrofile i makrofage: nauchnoe izdanie. Novosibirsk: Nauka. Sibirskoe otделение, 1989.- 343s. In Russian

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Гумина Анна Андреевна, ассистент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; e-mail: annagumina3@gmail.com

Москвина Анастасия Олеговна, старший лаборант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, преподаватель медицинского колледжа, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; e-mail: moskvina.n.98@mail.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Anna A. Gumina, Assistant of the Histology, Embryology and Cytology Department, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia; e-mail: annagumina3@gmail.com

Anastasiya O. Moskvina, Senior Laboratorin of the Histology, Embryology and Cytology Department, Medical College Lecturer, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia; e-mail: moskvina.n.98@mail.ru