

## ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО И ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ЗВЕНА ПОТОМСТВА САМОК КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

Брюхин Г. В., Комарова Т. М.

ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России,  
Челябинск, Россия

В исследовании произведен анализ особенностей фагоцитарной способности моноцитарных клеток костного мозга и моноцитов периферической крови у потомства самок крыс с хроническим поражением печени токсического генеза с использованием микросфер латекса и золотистого стафилококка (*St. aureus*). Исследование было проведено на белых лабораторных крысах и их потомстве в различные периоды постнатального онтогенеза. Токсическое поражение печени моделировалось введением тетрахлористого углерода половозрелым самкам. Оценивали поглотительную способность клеток моноцитарного ростка костного мозга и моноцитов периферической крови. В монослое клеток производился подсчет фагоцитарного показателя и фагоцитарного индекса. В ходе исследования установлено угнетение поглотительной и киллинговой активности клеток моноцитарного ростка костного мозга и моноцитов периферической крови экспериментальных животных.

*Ключевые слова:* поражение печени, крыса, мать, потомство, фагоцитоз

Ранее нами было установлено, что экспериментальное поражение печени различного генеза матери обуславливает нарушение морфофункционального становления систем жизнеобеспечения потомства [1]. Одним из факторов, определяющих реактивность и резистентность организма, является система мононуклеарных фагоцитов, основным компонентом которой является моноцит.

В связи с этим, целью настоящего исследования явился анализ особенностей поглотительной и киллинговой активности моноцитарных клеток костного мозга и периферической крови потомства самок крыс с хроническим токсическим поражением гепатобилиарной системы.

**Материалы и методы.** Исследование было проведено на белых лабораторных крысах и их потомстве в различные периоды постнатального онтогенеза. Для достижения поставленной цели у половозрелых самок крыс моделировалось токсическое поражение печени. Для воспроизведения токсического гепатита (опытная группа) мы использовали 40 % масляный раствор тетрахлористого углерода, вводимый

подкожно в течение 8 недель половозрелым самкам. О развитии токсического поражения печени экспериментальных животных судили на основании морфологических (очаговые некротические изменения гепатоцитов, периваскулярная гистиоцитарная инфильтрация, декомпенсация печеночных балок, гипертрофия и гиперплазия купферовских клеток, расширение синусоидных капилляров), биохимических (повышение уровня общего билирубина, АЛТ, АСТ, лактатдегидрогеназы) и иммунологических (повышение титра печеночных аутоантител 1: 280 и 1: 560) изменений.

В качестве объекта исследования изучались клетки моноцитарного ростка костного мозга и моноциты периферической крови. Исследуемые клетки выделяли с помощью метода, основанного на седиментации их в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урографина (плотностью 1,077г/см<sup>3</sup>). Метод получения монослоя клеток основан на способности мононуклеаров адгезироваться на чистой стеклянной поверхности. Поглотительная активность клеток моноцитарного ростка костного мозга и моноцитов периферической крови

оценивалась с использованием биологически инертных стандартизированных по размеру частиц монодисперсного латекса с диаметром 1,2-1,5 мкм, который в определенной концентрации добавляли к монослою клеток на предметные стекла. После инкубации при 37 °С в течении 60 минут производился подсчет фагоцитарного показателя (процент фагоцитирующих клеток) и фагоцитарного индекса (число частиц латекса, поглощенных 100 клетками в перерасчете на 1 моноцитарную клетку). При изучении внутриклеточного киллинга микроорганизмов моноцитами 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 использованием акридинового оранжевого.

Работа с экспериментальными животными проводилась в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР от 12.08.1977 № 755).

Полученные цифровые данные обрабатывали с использованием программы SPSSStatistics 17.0 (Statsoft, Inc.) Учитывая небольшую выборку животных, достоверность полученных результатов определяли при помощи непараметрического метода – критерия Манна-Уитни.

**Результаты.** Поглотительная способность и киллинговая активность являются основными фагоцитарными свойствами макрофагальных клеток [2].

Поглотительная способность моноцитарных клеток костного мозга экспериментальных животных оценивалась нами с использованием микросфер латекса. Установлено, что у интактных животных фагоцитарный показатель монобластов, промоноцитов и моноцитов костного мозга после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости. Так, если у интактных животных в период новорожденности фагоцитарный показатель монобластов составил  $7,8 \pm 0,9$ , то у половозрелых животных исследуемый показатель достигает  $12,1 \pm 0,9$ . При этом, фагоцитарный показатель промоноцитов костного мозга также увеличивается с  $29,8 \pm 0,6$  до  $39,3 \pm 1,1$ , как и фагоцитарный показатель моноцитов костного мозга с  $81,3 \pm 0,9$  до  $96,4 \pm 1,2$ . Аналогичная закономер-

ность выявлена и у подопытных животных. Обращает на себя внимание, что на всех сроках фагоцитарный показатель клеток моноцитарного ростка костного мозга подопытных крысят достоверно снижен по сравнению с контролем.

Другим показателем, отражающим уровень поглотительной способности клеток, является фагоцитарный индекс. Установлено, что фагоцитарный индекс монобластов костного мозга у интактных крысят после рождения постепенно снижается до минимального значения к началу периода полового созревания (с  $5,53 \pm 0,6$  до  $5,04 \pm 0,9$ ), а затем увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости ( $5,59 \pm 0,6$ ). Фагоцитарный индекс промоноцитов интактных животных также увеличивается с  $7,02 \pm 0,4$  в период новорожденности до  $8,03 \pm 0,4$  в период половой зрелости. При этом фагоцитарный индекс моноцитов костного мозга в период постнатального развития практически не изменяется и колеблется в пределах  $10,21 \pm 0,7$  и  $11,23 \pm 0,4$ .

Фагоцитарный индекс монобластов животных токсической группы после рождения постепенно увеличивается к периоду полового созревания с  $2,03 \pm 0,4$  в период новорожденности до  $3,43 \pm 0,6$  в период полового созревания и достигает максимального значения в период половой зрелости  $4,22 \pm 0,9$ . Аналогичная закономерность выявлена при исследовании фагоцитарного индекса промоноцитов, который также после рождения ( $2,65 \pm 0,7$ ) увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости  $4,21 \pm 0,3$  ( $p \leq 0,05$ ). Наиболее выраженные изменения фагоцитарного индекса у подопытных животных выявлены у моноцитов. Так, если фагоцитарный индекс животных токсической группы в период новорожденности составил  $4,03 \pm 0,5$ , а к 60-му дню постнатальной жизни достигает  $6,04 \pm 0,6$  ( $p \leq 0,05$ ). При этом, на всех сроках исследования фагоцитарный индекс клеток моноцитарного ростка костного мозга у подопытных животных токсической группы снижен по сравнению с группой контроля.

Таким образом, анализ результатов первой серии исследования позволяет сделать заключение, что у животных токсической группы имеет место нарушение фагоцитарной активности клеток моноцитарного ростка, о чем свидетельствует снижение фагоцитарного показателя и фагоцитарного индекса. Логич-

но было предположить, что выявленные изменения отразятся также на функциональной активности моноцитов периферической крови экспериментальных животных. Исследование функциональных особенностей моноцитов периферической крови экспериментальных животных позволило констатировать, что хроническая токсическая патология печени матери обуславливает угнетение фагоцитарных свойств моноцитов периферической крови потомства. Так, фагоцитарный показатель у интактных крысят в период новорожденности составляет  $82,1 \pm 1,2$ , затем исследуемый показатель постепенно увеличивается и достигает максимального значения в период половой зрелости  $97,2 \pm 1,4$ . Аналогичная закономерность выявлена и у моноцитов периферической крови животных токсической группы, у которых исследуемый показатель также после рождения постепенно увеличивается с  $70,8 \pm 2,5$  до  $85,9 \pm 1,2$  ( $p \leq 0,05$ ).

Поглотительная способность моноцитов периферической крови оценивалась в двух тестах с использованием микросфер латекса и золотистого стафилококка (*St. aureus*). Нами установлено, что фагоцитарная активность моноцитов периферической крови у крысят подопытной группы снижена по сравнению с группой контроля на всех сроках исследования. Кроме того, у подопытных животных имеет место достоверное снижение фагоцитарного индекса. Не только поглотительную, но и переваривающую способность моноцитов периферической крови экспериментальных животных отражают данные, полученные с использованием золотистого стафилококка. В этой серии исследований установлено снижение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови подопытных животных по отношению к золотистому стафилококку в сравнении 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. Таким образом, у подопытных животных нарушение поглотительной активности моноцитов пери-

ферической крови сочетается с выраженным угнетением их бактерицидных свойств, о чем свидетельствует снижение киллинговой активности на 43%-45%.

**Заключение.** Логично предположить, что стресс материнского организма, обусловленный моделированием хронической патологии гепатобилиарной системы, сопровождается комплексом нейрогормональных сдвигов в организме плода, которое можно квалифицировать как пренатальное стрессовое состояние [3]. Вместе с тем, хроническое поражение печени в условиях эксперимента сопровождается развитием оксидативного стресса [4]. Можно предположить, что формирующийся пренатальный стресс обуславливает нарушение морфофункционального становления различных функциональных систем, в том числе кроветворной и, как следствие, формируется дисфункция моноцитов центрального и периферического звена. Эти предположения находятся в полном соответствии с данными литературы, свидетельствующими о негативном влиянии окислительного стресса на макрофаги [5].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брюхин Г.В. Роль экспериментального поражения печени матери в развитии физиологической незрелости потомства / Г.В. Брюхин, М.Л. Сизоненко // Бюлл. экперим. биол. и мед. – 2012. – Т. 154. – № 11. – С. 544-547.
2. 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.
3. Резников А.Г. Эндокринологические аспекты стресса / А.Г. Резников // Международный эндокринологический журнал. – 2007. – № 4(10). – С. 11-17.
4. Сизоненко М.Л. Особенности свободнорадикального окисления липидов в семенниках у потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени / Г.В. Брюхин, М.Л. Сизоненко // Пробл. репродукции. – 2014. – Т. 20, № 3. – С. 7-9
5. Архипов С.А. Разнонаправленные аспекты  $H_2O_2$  на макрофаги и фибробласты в условиях моделирования окислительного стресса / С.А. Архипов, В.А. Шкурупий, М.В. Зайковская, Е.С. Ахраменко, Д.А. Ильин // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 8. – С. 76-77

## FAGOTSITARNY ACTIVITY OF MONOCYTES OF THE CENTRAL AND PERIPHERAL LINK OF POSTERITY OF FEMALES OF RATS WITH EXPERIMENTAL DAMAGE OF THE LIVER

Bryukhin G. V., Komarova T. M.

*South Ural State medical University, Chelyabinsk, Russia*

In a research the analysis of features of fagotsitarny ability of monocyte-derived cells of marrow and monocytes of peripheral blood at offspring of females of rats with chronic damage of a liver of toxic genesis with use of microspheres of latex and golden staphylococcus is made (*St. aureus*). The research has been conducted on white laboratory rats and their posterity during various periods of post-natal ontogenesis. Toxic damage of a liver was modelled by introduction of tetrachloride carbon to mature females. Estimated absorbing ability of cages of a monocyte-derived sprout of marrow and monocytes of peripheral blood. In a monolayer of cages calculation of a fagotsitarny indicator and fagotsitarny index was made. In the course a research oppression of absorbing and Killing activity of cages of a monocyte-derived sprout of marrow and monocytes of peripheral blood of experimental animals is established.

*Key words:* damage of a liver, rat, mother, offspring, phagocytosis

---

## К ПАТОГЕНЕЗУ НАРУШЕНИЙ СПЕРМАТОГЕНЕЗА У ПОТОМСТВА МАТЕРЕЙ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Брюхин Г. В., Сизоненко М. А.

*ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России,  
Челябинск, Россия*

Изучена роль аутоиммунного компонента в нарушении генеративной функции потомства самок крыс с хроническим поражением печени различного генеза. С помощью иммуногистохимических методов уставнолено, что у подопытных крысят имеет место угнетение пролиферативной и усиление апоптотической активности сперматогенного эпителия, повышение титра антиспермальных антител и изменение концентрации провоспалительных цитокинов. Полученные результаты позволяют считать, что иммунный компонент является одним из патогенетических звеньев нарушения фертильности экспериментальных животных.

*Ключевые слова:* эксперимент, поражение печени, потомство, апоптоз, пролиферация, сперматогенез, антиспермальные антитела

Одной из актуальных проблем современной медицины является проблема мужского бесплодия, рост которого отмечается повсеместно [1]. Остается практически не изученной роль пренатального стресса, в том числе обусловленного патологией гепатобилиарной системы матери, в нарушении морфофункционального становления мужской репродуктивной системы потомства и полового поведения в целом.

Исходя из этого, целью настоящего исследования явился анализ роли аутоиммунного компонента в нарушении генеративной функции семенников потомства самок крыс с хроническим поражением печени различного генеза.

**Материал и методы исследования.** Работа выполнена на белых лабораторных крысах – самках и их потомстве в период полового созревания. Для достижения поставленной цели