

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

у взрослых половозрелых животных моделировалось хроническое поражение печени.

Моделирование алкогольного поражения печени осуществляли путем ежедневного в течение 2-х месяцев внутрижелудочкового введения 15% раствора этилового спирта. Эту группу (алкогольная группа – «Ал»-группа) составили 5 крысят из 5 пометов.

Лекарственное поражение печени создавалось путем двукратного интрагастрального введения половозрелым самкам крысам парацетамола УФБ в дозе 250 мг на 1 кг массы тела [2]. Эту группу (лекарственная группа – «Л1»-группа) составили 5 крысят из 4 пометов.

Для создания мезенхимального поражения печени была использована щелочная фосфатаза из бычьей сыворотки («Sigma-P5521», США), которую вводили самкам до беременности раствор щелочной фосфатазы, содержащего 20ЕД активности [3]. Эту группу (мезенхимальная группа – «М»-группа) составили 5 крысят из 5 пометов.

Группу контроля (контрольная группа – «К»-группа) составили 5 крысят из 4 пометов.

Хроническое поражение гепатобилиарной системы у самок крыс верифицировали на основании морфологических, иммунологических и биохимических критериев.

Пролиферативную и апоптотическую активность сперматогенного эпителия оценивали с помощью иммуногистохимических реакций с использованием маркера клеточной пролиферации Ki-67, маркера проапоптотической активности CPP32 (Caspase-3).

Содержание антиспермальных антител в сыворотке крови определялось методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы Sperm-antibody-ELISA, Bioserv на ИФА-фотометре Multiskan (Германия).

Для оценки уровня медиаторов межклеточного взаимодействия (IL-1 β , IL-2, IL-8, TNF- α производства «BIOSOURCE 2», США) в сыворотке крови использовали метод иммуноферментного анализа. Методика постановки реакции и оценка полученных результатов проводились в соответствии с рекомендациями фирм-изготовителей реагентов (цитокины – «FlowCytomix Multiple Analyte Detection» (Австрия). Детекцию результатов исследования (медиаторов межклеточного взаимодействия) осуществляли на проточном цитометре «Navius» фирмы «Beckman Coulter» (США). В ходе статистического анализа рассчитывали

показатели описательной статистики (среднее арифметическое, ошибка среднего) и проводили сравнение средних значений. С учетом небольшого количественного состава групп экспериментальных животных для оценки достоверности результатов использовались непараметрические методы (коэффициент Манна-Уитни).

Результаты и их обсуждение. Анализ концентрации провоспалительных цитокинов позволил установить, что у подопытных крысят имеет место изменение цитокинового профиля. Так, если у интактных животных уровень концентрации IL-1 β составил $78,8 \pm 3,33$, то у крысят алкогольной, лекарственной и мезенхимальной групп он составил соответственно $85,14 \pm 3,26$ ($p \geq 0,05$); $98,81 \pm 8,44$ ($p \leq 0,05$); $52,96 \pm 3,52$ ($p \leq 0,05$). Аналогичная закономерность выявлена и в динамике изменения TNF- α , концентрация которого составила $39,24 \pm 2,22$ ($p \leq 0,05$) (Ал-группа), $21,23 \pm 4,24$ ($p \leq 0,05$) (Л-группа) и $31,12 \pm 5,03$ ($p \leq 0,05$) (М-группа), в то время как в группе сравнения исследуемый показатель составил всего $10,41 \pm 3,33$. У интактных животных уровень концентрации IL-2 составил $49,33 \pm 6,71$, а у крысят Ал-группы, Л-группы и М-группы составил соответственно $18,28 \pm 1,52$ ($p \leq 0,05$); $37,8 \pm 5,14$ ($\geq 0,05$); $18,98 \pm 7,22$ ($p \leq 0,05$).

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о том, что в иммунологические события, сопровождающие процесс сперматогенеза, вовлечен ряд цитокинов.

С целью определения пролиферативной активности сперматогенных клеток подопытных животных проводилось определение Ki 67⁺ клеток. Установлено угнетение пролиферативной активности сперматогенных клеток у подопытных крысят алкогольной ($9,74 \pm 1,37$, ($p \leq 0,05$)), лекарственной ($9,16 \pm 0,74$, ($\leq 0,05$)) и мезенхимальной ($12,53 \pm 0,29$, ($\leq 0,05$)) по сравнению с группой сравнения ($12,42 \pm 0,29$). Для определения количества клеток, вступивших в апоптоз, выявлялся специфический маркер активного апоптоза – Caspase-3 (CPP32). Установлено, что у подопытных крысят число сперматогенных клеток с регистрируемой апоптотической активностью превышает таковое в контроле. Так, если у интактных животных интенсивность иммуногистохимической реакции составила 2,8, то у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени различного генеза исследуемый показатель колебался в пределах 5,5-8,7 у.е. Таким образом, полученные

результаты свидетельствуют о том, что апоптоз занимает особое место в патогенезе выявленных нарушений сперматогенеза.

В ходе комплексного экспериментального исследования было произведено определение уровня антиспермальных антител в сыворотке крови животных. Установлено, что у животных всех опытных групп уровень антиспермальных антител превышает значения в контроле. Так уровень антиспермальных антител у интактных крысят составил $3,67 \pm 0,41$, в то время как у животных алкогольной группы данный показатель составляет $4,46 \pm 0,26$ ($\leq 0,05$), лекарственной – $4,61 \pm 0,15$ ($\leq 0,05$) и мезенхимальной группы – $4,64 \pm 0,07$ ($\leq 0,05$). Увеличение титра антиспермальных антител у подопытных животных свидетельствует о роли аутоиммунного компонента в патогенезе нарушения фертильности.

Ранее нами было установлено, что у потомства самок крыс с хроническим поражением печени имеет место развитие окислительного стресса в семенниках [4]. Логично, что окислительный стресс в тестикулярной ткани оказывает непосредственное влияние на процессы пролиферации и дифференцировки сперматогенных клеток, индуцирует их апоптоз. Вместе с тем не вызывает сомнений участие окислительного стресса различной этиологии в развитии тестикулярной дисфункции [5]. Выявленное изменение уровня провоспалительных цитокинов, обусловленное развитием воспалительного процесса в мужском репродуктивном тракте, может свидетельствовать также

о нарушении регуляции процесса сперматогенеза. Эти результаты находятся в полном соответствии с данными, свидетельствующими о повышении титра антиспермальных антител. В целом полученные результаты убедительно свидетельствуют о том, что в патогенезе генеративной функции семенников потомства самок крыс с хроническим поражением печени важную роль играет иммунный компонент.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кулаков В.И. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / В.И. Кулаков. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 616с.
2. Венгеровский А.И. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических веществ / А.И. Венгеровский, И. В. Макарова, А.С. Саратиков // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, М.: Медицина, 2005. – С. 683-691.
3. Маянский Д. Н. Индукция гранулематозного воспаления печени неинфекционными частицами / Д. Н. Маянский, А. М. Цырендоржиев, А. М. Йонкер // Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 1990. – № 5. – С. 45-49.
4. Брюхин Г. В. Особенности свободнорадикального окисления липидов в семенниках у потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени / Г. В. Брюхин, М. Л. Сизоненко // Проблемы репродукции, 2014. – № 3. – С. 7-9
5. Шевантаева О. Н. Роль окислительного стресса в патогенезе нарушений сперматогенеза у крыс в постреанимационном периоде / О. Н. Шевантаева, К. Н. Конторщикова, Ю. И. Косюга // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 3. – С. 27-30.

TO THE PATHOGENESIS OF SPERMATOGENESIS DISORDERS OF THE POSTERITY OF MOTHERS WITH EXPERIMENTAL DEFEAT OF THE HEPATOBILIARY SYSTEM OF VARIOUS GENESIS

G. V. Brukhin, M. L. Sizonenko

*The South Ural State Medical University of Health Ministry,
Chelyabinsk, Russia*

The role of the autoimmune component in the posterity generative function disruption of female rats with chronic liver injury of various genesis was studied. Using immunohistochemical methods it was established that in experimental rats there are inhibition of proliferative and increased apoptotic activities of spermatogenic epithelium, an increase in the titer of antisperm antibodies and a change in the concentration of proinflammatory cytokines. The obtained results allow to consider that the immune component is one of the pathogenetic links of the impairment of the experimental animals fertility.

Key words: experiment, liver defeat, posterity, apoptosis, proliferation, spermatogenesis, anti-sperm antibodies