

УДК 612.112.95

© Т. М. Комарова, Г. В. Брюхин, 2017

<https://doi.org/10.18499/2225-7357-2017-6-2-97-100>

ЛИЗОСОМАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПОТОМСТВА САМОК КРЫС С ХРОНИЧЕСКИМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ В ПЕРИОД НОВОРОЖДЕННОСТИ

Т. М. Комарова¹, Г. В. Брюхин²

¹НУЗ Дорожная клиническая больница на ст. Челябинск ОАО «РЖД», г. Челябинск, Россия

²ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Челябинск, Россия

Целью исследования явился анализ особенностей лизосомального аппарата моноцитов периферической крови новорожденного потомства крыс с экспериментальным хроническим поражением печени различного генеза.

Материал и методы. Исследование проведено на белых лабораторных крысах (самках) Вистар с экспериментальными моделями хронического токсического поражения печени, аутоиммунного гепатита, мезенхимального поражения печени. В каждой экспериментальной группе было по 7 новорожденных крысят из разных пометов. После инкубации монослоя фагоцитов в среде с акридиновым оранжевым изучали лизосомальную активность макрофагов с расчетом индекса лизосомальной активности и среднего цитохимического показателя. Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica v.6.0 (Statsoft, Inc.). Достоверность определяли при помощи критерия Манна–Уитни.

Результаты. У подопытных животных наблюдается снижение численности моноцитов и уменьшение их лизосомальной активности.

Выводы. Экспериментальное хроническое поражение печени различного генеза приводит к угнетению лизосомального аппарата моноцитов потомства самок крыс.

Ключевые слова: эксперимент, крысы Вистар, хроническая патология печени, моноциты, лизосомы.

© Т. М. Комарова¹, Г. В. Брюхин², 2017

¹Road Hospital the Station Chelyabinsk of JSC "Russian Railways", Chelyabinsk, Russia

²South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Lysosomal Activity of Peripheral Blood Monocytes in Neonate Posterity of Female Rats with Chronic Experimental Liver Disease

The aim of the study was to analyze the characteristics of peripheral blood monocytes' lysosomal apparatus in newborn posterity of rats with experimental chronic liver damage of various genesis.

Material and methods. The study was conducted on white laboratory Wistar female rats with experimental models of chronic toxic liver damage, autoimmune hepatitis and mesenchymal liver damage. There were 7 newborn rats from different broods in each experimental group. After incubation of a phagocytes monolayer in a medium with acridine orange the lysosomal activity of macrophages with the calculation of the index of lysosomal activity and the average cytochemical index was studied. Statistical processing was carried out with «Statistica v.6.0» (Statsoft, Inc.) program. Reliability was determined using the Mann–Whitney test.

Results. In experimental animals, a decrease in the number of monocytes was also observed, as well as their lysosomal activity.

Conclusions. Experimental chronic liver damage of various genesis in female rats leads to inhibition of the monocytes' lysosomal apparatus of their posterity.

Keywords: experiment, Wistar rats, chronic liver disease, monocytes, lysosomes.

Введение

Во всем мире все большее внимание уделяется охране репродуктивного здоровья, в связи с чем проблема сохранения здоровья женщин находится в центре внимания ученых и рассматривается в аспекте воспроизводства нового поколения. Согласно ряду клинических наблюдений и экспериментальных исследований [1, 2], хроническая патология гепатобилиарной системы матери обуславливает рождение физиологически незрелого потомства, характеризующегося, прежде всего,

снижением жизнеспособности, что может быть обусловлено нарушением неспецифической резистентности. Общеизвестно, что резистентность организма во многом определяется морфофункциональным состоянием системы мононуклеарных фагоцитов, в том числе моноцитов.

Цель настоящего исследования – анализ особенностей лизосомального аппарата моноцитов периферической крови новорожденного потомства матерей с экспериментальным хроническим поражением печени различного генеза.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на белых лабораторных крысах (самках) Вистар. Для достижения поставленной цели у половозрелых животных моделировали хроническое поражение печени различного генеза.

Для моделирования хронического токсического поражения печени (1-я опытная группа) использовали 40% масляной раствор четыреххлористого углерода (CCl₄), который вводили животным подкожно по 0.1 мл два раза в неделю в течение 2 месяцев [1].

Для воспроизведения хронического аутоиммунного гепатита животные (2-я опытная группа) подвергались длительной сенсибилизации гомологичным антигеном печени, приготовленным по общепринятой методике с адьювантом Фрейнда в нашей модификации [3]. Полный цикл иммунизации составил 4 месяца. За весь курс иммунизации животные получали около 400 мг печеночного антигена.

Для моделирования хронического мезенхимального поражения печени половозрелым 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.

В каждой экспериментальной группе было по 7 новорожденных крысят из разных пометов.

О развитии патологического процесса в печени экспериментальных животных судили на основании морфологических (очаговых бионекротических изменений гепатоцитов, периваскулярной лимфогистиоцитарной инфильтрации, гипертрофии и гиперплазии купферовских клеток, дискомплексации печеночных балок, расширения синусоидных капилляров), биохимических (повышения концентрации билирубина, аланин- и аспаратаминотрансфераз, лактатдегидрогеназы) и иммунологических (повышения титра печеночных аутоантител 1:320 и 1:640) изменений.

Активность лизосом в моноцитах изучали по методу, основанному на инкубации монослоя фагоцитов в среде, содержащей флюоресцирующий краситель – акридиновый оранжевый, который избирательно аккумулируется в лизосомах. Для определения активности лизосомального аппарата в цитоплазме моноцитов к полученному монослою добавляли 0.1 мл акридинового оранжевого в конечной концентрации 2 мкг на 1 мл на физиологическом растворе. После инкубации в течение 10 мин препарат исследовали под иммерсией в потоке сине-фиолетового света люминисцентного микроскопа «Люмам». Проводили подсчет 100 клеток. При этом определяли лизосомальную активность – число макрофагов, имеющих лизосомальные грану-

лы (акридинпозитивные клетки), от общего числа учтенных мононуклеаров. Кроме того, учитывали процентное содержание клеток с разной степенью лизосомальной активности с последующим определением среднего цитохимического показателя, отражающего среднюю лизосомальную активность одного моноцита периферической крови (индекс лизосомальной активности, средний цитохимический показатель).

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».

Результаты и их обсуждение

Общепризнано, что неспецифическая резистентность организма во многом определяется характером фагоцитарных свойств мононуклеаров, в том числе моноцитов периферической крови. В то же время эффективность фагоцитоза зависит от наличия в клетке лизосом [7, 8].

Прежде всего, нами установлено, что у новорожденных крысят матерей с хроническим поражением печени имеет место снижение содержания моноцитов в периферической крови. Так, если у интактных новорожденных крысят содержание моноцитов в 1 мл периферической крови составляет $0.7 \pm 0.06 \times 10^5$, то у крысят с токсическим, аутоиммунным и мезенхимальным повреждением печени этот показатель составил $0.52 \pm 0.04 \times 10^5$, $0.56 \pm 0.11 \times 10^5$ и $0.49 \pm 0.1 \times 10^5$ соответственно.

Снижение числа моноцитов в периферической крови может указывать на нарушение моноцитопоэза в костном мозге подопытных животных.

Анализ лизосомальной активности моноцитов периферической крови экспериментальных животных позволил выявить следующую закономерность. У крысят всех опытных групп лизосомальная активность моноцитов периферической крови в период новорожденности снижена по сравнению с группой контроля. Так, если у крысят контрольной группы содержание акридиноранжпозитивных клеток составило 62.83 ± 1.2 , то у подопытных крысят токсической, аутоиммунной и мезенхимальной групп исследуемый показатель составил 49.66 ± 1.5 , 46.0 ± 1.5 и 51.22 ± 1.8 ($p < 0.05$) соответственно.

Снижение лизосомальной активности в моноцитах периферической крови подопытных животных находится в полном соответ-

вии с результатами, полученными при анализе лизосомального индекса (средней лизосомальной активности). Так, установлено, что у интактных новорожденных крысят индекс лизосомальной активности моноцитов оказался существенно выше (1.25 ± 0.07) по сравнению с животными токсической, аутоиммунной и мезенхимальной групп (0.91 ± 0.05 ; 0.93 ± 0.06 и 0.79 ± 0.1) соответственно ($p < 0.05$).

Выводы

Полученные результаты убедительно свидетельствуют о снижении активности лизосомального аппарата моноцитов потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени различного генеза, что подтверждается как уменьшением числа акридинположительных клеток, так и снижением индекса лизосомальной активности. Выявленные изменения содержания моноцитов периферической крови и их лизосомальной активности у новорожденных крысят от матерей с экспериментальным поражением печени предположительно обусловлены нарушением процесса моноцитопоэза в костном мозге. Согласно данным исследователей, хроническая патология печени матери приводит к увеличению проницаемости гемато-плацентарного барьера [9], поражению печени у потомства [4, 5], угнетению поглотительно-секреторной и белково-синтетической функции органа и, как следствие, изменениям в структуре биологической мембраны лизосомального аппарата самих моноцитарных клеток [6].

Список литературы

1. Брюхин Г. В., Сизоненко М. Л. Роль экспериментального поражения печени матери в развитии физиологической незрелости потомства. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012; 11: 544–546.
2. Брюхин Г. В., Шопова А. В. Активность внеклеточных ловушек макрофагов различных компартментов у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени. Иммунология. 2013; 34 (6): 304–308.
3. Брюхин Г. В., Михайлова Г. И. Влияние экспериментального аутоиммунного процесса на структурно-функциональные изменения селезенки у потомства. Морфология. 1992; 5: 76–83.
4. Брюхин Г. В. Влияние хронических поражений гепатобилиарной системы матери на развитие, реактивность и резистентность потомства: дис. ... докт. мед. наук. Челябинск; 1994. 472.
5. Евченко Е. В. Роль иммунного компонента в поражении одноименного органа у потомства самок крыс с хронической экспериментальной патологией гепатобилиарной системы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Челябинск; 2001. 22.
6. Зайцева Л. Г., Бехало В. А., Васильев И. К. и др. Коррекция функциональной активности перитонеальных макрофагов мышей фоспрепилом

и гамавитом при введении высоких доз альфа-токсина *Staphylococcus aureus*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2005; 6: 51–57.

7. Маянский А. Н., Маянский Д. Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука. Сибирское отделение; 1989. 343.
8. Маянский Д. Н., Цырендоржиев Д. Д., Йонкер А. М. и др. Индукция гранулематозного воспаления печени неинфекционными частицами. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1990; 5: 45–48.
9. Савченков Ю. И., Лобынцев К. С. Очерки физиологии и морфологии функциональной системы мать – плод. М.: Медицина; 1980. 254.

References

1. Bryukhin G.V., Sizonenko M.L. Rol' eksperimental'nogo porazheniya pecheni materi v razvitii fiziologicheskoy nezrelosti potomstva [The role of experimental maternal liver damage in the development of physiological immaturity of the offspring]. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2012; 11: 544–546 (in Russian).
2. Bryukhin G.V., Shopova A.V. Aktivnost' vnekletochnykh lovushek makrofagov razlichnykh kompartmentov u potomstva samok krys s lekarstvennym porazheniem pecheni [The activity of traps formation of makrofages of different compartments of the posterity of female rats with medicinal liver defeat]. Immunologiya. 2013; 34 (6): 304–308 (in Russian).
3. Bryukhin G.V., Mikhaylova G.I. Vliyanie eksperimental'nogo autoimmunnogo protsessa na strukturno-funktsional'nye izmeneniya selezenki u potomstva [The influence of experimental autoimmune process on the structural and functional changes of the spleen in the offspring]. Morfologiya. 1992; 5: 76–83 (in Russian).
4. Bryukhin G.V. Vliyanie khronicheskikh porazheniy gepatobiliarnoy sistemy materi na razvitie, reaktivnost' i rezistentnost' potomstva: dis. ... dokt. med. nauk [Effect of chronic lesions of the hepatobiliary system of the mother on the development, the resistance and responsiveness of the offspring; the resistance and responsiveness of the offspring; Doct. Med. Sci. Diss.]. Chelyabinsk; 1994. 472 (in Russian).
5. Evchenko E.V. Rol' immunnogo komponenta v porazhenii odnoimennogo organa u potomstva samok krys s khronicheskoy eksperimental'noy patologiyey gepatobiliarnoy sistemy: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk [The role of the immune component in the defeat of the same name on the offspring of female rats with experimental chronic pathology of the hepatobiliary system: Cand. Biol. Sci. Diss. Abs.]. Chelyabinsk; 2001. 22 (in Russian).
6. Zaitseva L.G., Bekhalo V.A., Vasil'ev I.K. et al. Korrektsiya funktsional'noy aktivnosti peritoneal'nykh makrofagov myshey fosprepiplom i gamavitom pri vvedenii vysokikh doz al'fa-toksina *Staphylococcus aureus* [Correction of the functional activity of mouse peritoneal macrophages with Phosprenil and Gamavit, accompanied by high doses of *Staphylococcus aureus* α -toxin]. Zh Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 2005; 6: 51–57 (in Russian).
7. Mayanskiy A.N., Mayanskiy D.N. Ocherki o neytrifile i makrofage [Essays on neutrophils and

- macrophages]. Novosibirsk: Nauka. Siberian branch; 1989. 343.
8. Mayanskiy D.N., Tsyrendorzhiev D.D., Yonker A.M. et al. Induktsiya granulematoznogo vospaleniya pecheni neinfektsionnymi chastitsami [Induction of granulomatous liver inflammation of non-infectious particles]. Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. 1990; 5: 45–48 (in Russian).
9. Savchenkov Yu.I., Lobyntsev K.S. Ocherki fiziologii i morfologii funktsional'noy sistemy mat' – plod [Essays on physiology and morphology of

the functional system mother – fetus]. Moscow: Meditsina; 1980. 254 (in Russian).

Сведения об авторах

Комарова Татьяна Михайловна – врач-гастроэнтеролог НУЗ Дорожная клиническая больница на ст. Челябинск ОАО «РЖД». 454091, г. Челябинск, ул. Цвиллинга, 41. E-mail: t-komm@mail.ru

Брюхин Геннадий Васильевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. 454048, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.

Поступила в редакцию 16.09.2016 г.