

Особенности миграционной активности перитонеальных макрофагов и моноцитов периферической крови у потомства самок крыс с хроническим поражением гепатобилиарной системы

З метою виявлення функціонального стану моноцитів периферичної крові та перитонеальних макрофагів нащадків тварин з хронічною патологією печінки різної етіології вивчені особливості спонтанної міграційної активності. Для виявлення гіперсенсibiliзації лімфоцитів до різних антигенів (печінкового та жовчного) вивчена вираженість реакції гальмування міграції макрофагів. Аналіз отриманих результатів дозволяє зробити висновок про гальмування спонтанної міграційної активності макрофагів у тварин з хронічною патологією гепатобіліарної системи, а також про наявність сенсibiliзації клітин — ефекторів до жовчного та, особливо, печінкового агентів.

Введение

Ранее нами было показано, что у самок крыс с хроническим поражением гепатобилиарной системы рождается потомство с нарушениями иммунного ответа по клеточному и гуморальному типам [2, 3] и неспецифической резистентности [1]. Вместе с тем, согласно современным представлениям [9, 11, 17, 18], в формировании специфических реакций иммунитета, а также неспецифической резистентности организма важную роль играет система мононуклеарных фагоцитов. При этом, способность макрофагов к активной миграции является одной из важнейших особенностей, обуславливающих их полифункциональность в организме [13]. Исходя из изложенного выше, мы предприняли попытку оценить особенности миграционной активности перитонеальных макрофагов и моноцитов периферической крови у потомства самок крыс с хроническим поражением гепатобилиарной системы различной этиологии.

Методика

Исследования проведены на белых лабораторных крысах линии Вистар, полученных из питомника АМН России «Рапполово». Использовали три адекватных экспериментальных модели хронического поражения печени: аутоиммунное, холестатическое и метатоксическое. Модель хронического аутоиммунного поражения печени создавалась длительной иммунизацией животных гомологичным антигеном печени [2]. Модель хронического холестатического поражения печени создавали за счет дозированного сужения общего желчного протока наложением лигатуры [16]. Модель хронического метатоксического поражения печени создавалась подкожным введением животным 0,1 мл 40 %-ного раствора четыреххлористого углерода в растительном масле дважды в неделю в течение 2 мес. О хроническом поражении печени судили на основании повышенного титра печеночных аутоантител (1 : 320, 1 : 640, 1 : 1280), увеличения в сыворотке фракции гамма-глобулинов, а также морфологических изменений (периваскулярных лимфогистиоцитарных инфильтратов, умеренной дистрофии гепатоцитов, расширения синусоидных капилляров, дисконфлексации печеночных балок и др.).

Всего исследовано потомство 50 intactных животных (контроль), а также 90 животных с моделью аутоиммунного, холестатического или метатоксического поражения печени (30 животных с каждой моделью)

в период раннего постнатального онтогенеза (на 15, 30 и 45-е сутки жизни). Эксперименты осуществляли согласно «Правилам проведения работ с использованием лабораторных животных».

В качестве макрофагов использовали перитонеальные фагоциты и моноциты периферической крови экспериментальных животных. Моноциты выделяли, используя градиент плотности фиколл — верографин, а фагоциты — из суспензии клеток брюшной полости, которую получали промыванием полости культуральной средой [5]. Во всех случаях предварительно проводили подсчет в камере Горяева числа кариоцитов, а также их жизнеспособность с помощью 0,2 %-ного водного раствора трипанового синего.

Особенности спонтанной миграционной активности моноцитов периферической крови и фагоцитов брюшной полости изучали под агарным покрытием по методу Nelson и соавт. [21]. Спонтанную миграционную активность оценивали длиной пути макрофага в зоне миграции, выраженной в миллиметрах, ее угнетение (УМА) — в относительных (%) единицах активности по следующей формуле:

$$\text{УМА} = [1 - (\bar{l}_i / \bar{l}_0)] \cdot 100 \%, \quad (1)$$

где $\bar{l}_i$ — среднее значение длины миграционного пути макрофага крысят экспериментальных животных с i -той моделью хронического поражения печени, $\bar{l}_0$ — то же крысят интактных животных.

Наряду с этим, изучали влияние тканевых антигенов на миграцию макрофагов в тесте подавления миграции (РТММ) [21]. В качестве специфических антигенов в реакции подавления миграции макрофагов использовали гомологичный печеночный антиген (35 мг/мл) и желчный антиген, изготовленный по общепринятой методике из тканей желчного протока (23,5 мг/мл) [6]. Инкубацию проводили при 37 °С в атмосфере, содержащей 5 % CO_2 , в течение 24 ч. Индекс торможения миграции макрофагов рассчитывали [5] по следующей формуле:

$$\text{ИТМ} = (\bar{l}_i / \bar{l}_0) \cdot 100 \%, \quad (2)$$

где $\bar{l}_i$ — среднее значение длины миграционного пути макрофага крысят экспериментальных животных при наличии i -того антигена, $\bar{l}_0$ — то же крысят интактных животных без антигена.

В различных иммунологических лабораториях до настоящего времени используются неоднозначные критерии оценки реакции торможения миграции макрофагов. В связи с этим индекс торможения миграции мы считали положительным при значении, составляющем не более 80 % [20], условно положительным при значении, составляющем 80 % — 100 % [15, 19] и отрицательным при значении, составляющем более 100 %. Полученные результаты обработаны статистически с использованием критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у потомства самок крыс с хроническим поражением гепатобилиарной системы происходит угнетение спонтанной миграционной активности изученных макрофагов. Исключение составляют только моноциты периферической крови 45-суточных крысят, рожденных от животных с холестатической моделью хронического поражения печени, у которых этот показатель несколько превышает таковой у крысят, рожденных от интактных животных (рис. 1). При этом, наибольшие значения относительного угнетения спонтанной миграции выявлены у крысят, рожденных от животных с метатоксической моделью поражения (таблица).

Угнетение спонтанной миграционной активности макрофагов у потомства самок крыс с хроническим поражением гепатобилиарной системы различной этиологии позволяет сделать вывод о снижении естественной резистентности их организма и функциональной способности системы мононуклеарных фагоцитов [8].

В настоящее время является общепризнанным, что одним из наиболее чувствительных и достоверных показателей наличия клеточной сенсibilизации является тест торможения миграции макрофагов [7,

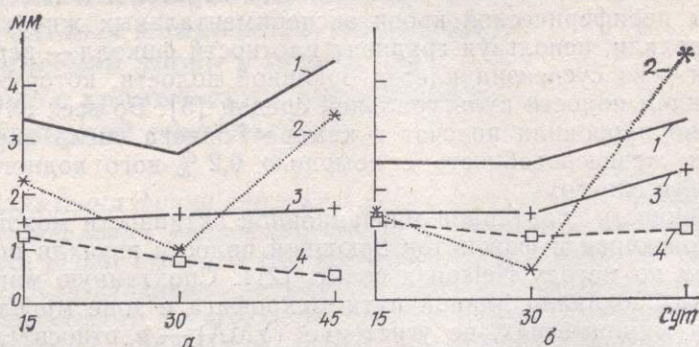


Рис. 1. Динамика (сут) спонтанной миграционной активности (мм) перитонеальных фагоцитов (а) и моноцитов периферической крови (б) у потомства самок крыс ($M \pm m$): 1 — интактных, 2 — с холестатической, 3 — аутоиммунной, 4 — метатоксической патологиями ($P < 0,05$ по сравнению с результатами, полученными у потомства интактных крыс).

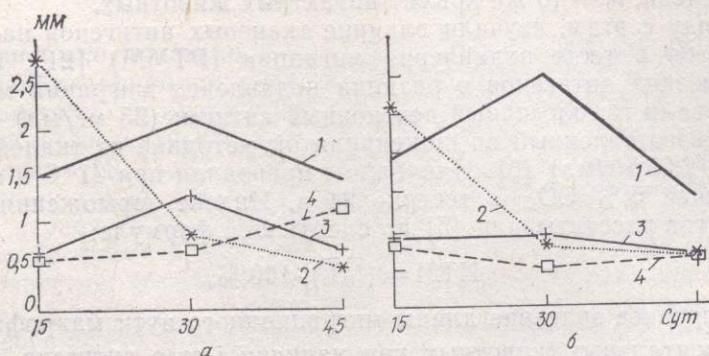


Рис. 2. Влияние печеночного гомологического антигена на динамику (сут) миграционной активности (мм) перитонеальных фагоцитов (а) и моноцитов периферической крови (б) у потомства самок крыс с хронической патологией гепатобилиарной системы ($M \pm m$). Остальные обозначения см. на рис. 1. Для результатов на а, 2 $P > 0,05$ по сравнению с результатами, полученными у потомства интактных крыс.

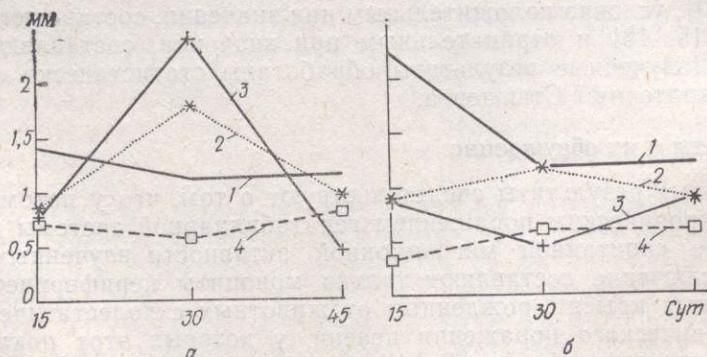


Рис. 3. Влияние желчного гомологического антигена на динамику (сут) миграционной активности (мм) перитонеальных фагоцитов (а) и моноцитов периферической крови (б) у потомства самок крыс с хронической патологией гепатобилиарной системы ($M \pm m$). Остальные обозначения см. на рис. 1. Для результатов на а, 2; б, 2, 4 $P > 0,05$ по сравнению с результатами, полученными у потомства интактных крыс.

12]. Как показали результаты проведенного исследования (рис. 2 и 3) индекс торможения миграции моноцитов периферической крови и перитонеальных фагоцитов потомства, полученного от контрольных живот-

ных, на всех сроках исследования оказался отрицательным. В то же время у потомства экспериментальных животных этот показатель для большинства сроков исследования оказался положительным или условно положительным, что может указывать на наличие специфической гиперсенсibilизации клеток-эффекторов реакции повышенной чувствительности замедленного типа, являющихся продуцентами фактора, подавляющего миграцию макрофагов [4, 8, 10]. При этом обращает на себя внимание, что наибольшая клеточная сенсibilизация к печеночному и желчному антигенам выявляется у потомства, полученного от экспериментальных животных с метатоксической моделью поражения печени.

Динамика относительного угнетения спонтанной миграционной активности макрофагов (% контрольной) в период раннего постнатального онтогенеза у потомства крыс с хроническим поражением печени.

Экспериментальная модель хронического поражения печени	15-е сутки жизни		30-е сутки жизни		45-е сутки жизни	
	Перитонеальные фагоциты	Моноциты крови	Перитонеальные фагоциты	Моноциты крови	Перитонеальные фагоциты	Моноциты крови
Аутоиммунное поражение	55,88	36,27	58,18	36,8	61,29	28,46
Холестатическое поражение	33,82	36,94	64,73	77,4	22,64	—
Метатоксическое поражение	63,235	42,812	71,53	54,0	89,13	61,52

Согласно современным представлениям, хронические заболевания печени сопровождаются нарушениями функционального состояния иммунной системы [8, 14]. Логично предположить, что в результате массивного проникновения через фетоплацентарный барьер из материнского организма печеночных аутоантител, циркулирующих иммунных комплексов, а также сенсibilизированных цитотоксических Т-лимфоцитов происходит нарушение иммунного гомеостаза плода, частным проявлением которого является угнетение спонтанной миграционной активности макрофагов, а также развитие гиперчувствительности к тканям печени.

Выводы

1. У потомства, полученного от самок крыс с хронической патологией гепатобилиарной системы наблюдается угнетение спонтанной миграционной активности перитонеальных фагоцитов и моноцитов периферической крови.

2. У потомства, полученного от самок крыс с хронической патологией гепатобилиарной системой наблюдается специфическая гиперсенсibilизация клеток-эффекторов реакции повышенной чувствительности замедленного типа к печеночному и желчному антигенам.

G. V. Bryukhin, A. Yu. Grachev

THE FEATURES OF MIGRATION ACTIVITY OF PERITONEAL MACROPHAGES AND MONOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD IN THE OFFSPRING OF FEMALE RATS WITH CHRONIC DAMAGE OF THE HEPATOBILIAR SYSTEM

It has been established that inhibition of spontaneous migration activity of blood monocytes and peritoneal macrophages takes place in the offspring of animals with chronic liver damage of different etiology. Besides, the enhancement of the migration inhibition reaction of the studied macrophages has been revealed.

Medical Institute, Ministry of Public Health of Russian Federation, Chelyabinsk