

УДК 612.02

## КИНЕТИКА МОНОНУКЛЕАРНО-ФАГОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ ЛЕГКИХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ МАЛЫХ ДОЗ КСЕНОБИОТИКОВ

*Шрамко Ю.И.*

Роль лейкоцитов в защите организма известна еще со времен работ Мечникова в 1892 г. Каждый вид лейкоцитов имеет свои характерные особенности и свою уникальную роль в этой защите, но детали и механизмы исполнения лейкоцитами их функций пока изучены неполно [1]. Основными жизненными процессами для выполнения этих функций являются пролиферация, созревание, хранение и выход из крови в ткани и в очаги повреждения – процессы, называемые кинетикой лейкоцитов. Они различны у каждой из систем лейкоцитов. Однако эти системы постоянно взаимодействуют между собой в процессе защиты организма. Одной из подобных систем является мононуклеарно- фагоцитарная система легких. Ее<sup>3</sup> составляют бронхиальные и альвеолярные макрофаги, а также нейтрофилы и лимфоциты [2]. Нашими работами [3-5] была показана ключевая роль альвеолярных макрофагов в защитных реакциях дыхательной системы при пероральном введении малых доз ксенобиотиков. Указанный путь попадания в организм, наряду с малыми дозами в настоящее время является доминирующим в структуре антропогенных загрязнений. Но вопросы взаимодействия иммунокомпетентных клеток внутренней среды легких в условиях хронического перорального поступления малых доз ксенобиотиков остается малоизученным и требует дальнейшего исследования. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение кинетики мононуклеарнофагоцитарной системы крыс при хроническом воздействии малых доз ксенобиотиков.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводился на 100 белых крысах линии «Wistar», половозрелых самцах массой тела 180- 200г. В качестве ксенобиотика использовался хлорорганический пестицид гексахлорциклогексан (ГХЦГ), обладающей средней токсичностью, высокой устойчивостью во внешней среде и способностью к кумуляции в организме человека и животных. Пестицид в виде водной суспензии вводился ежедневно перорально в течение 90 суток в следующих концентрациях:

1-я группа (25 особей): доза, не превышающая предельно допустимую концентрацию (ПДК) (0,02 мг\кг);

2-я группа (25 особей): 1\100 половинной летальной дозы (ЛД<sub>50</sub>)- субтоксическая доза;

3-я группа (25 особей): 1\10ЛД<sub>50</sub> - токсическая доза;

4-я группа (25 особей) использовалась в качестве контрольной и получала дистиллированную воду.

Мононуклеарно-фагоцитарная система легких изучалась в гистологических препаратах - проводился подсчет абсолютного количества клеток в 100 альвеолах среза легкого. Подсчитывались альвеолярные макрофаги (М), нейтрофилы (Н) и лимфоциты (Л). Также проводились вычисления относительного количества указанных клеток – процентное содержание каждого типа клеток относительно их общего количества. Забор материал проводился на 7-е, 30-е, 60-е и 90-е сутки после начала введения препарата, а также через 60 суток после его прекращения с целью изучения последствий ГХЦГ. В каждом заборе материала использовалось по 5 животных из каждой группы.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В дозе, не превышающей ПДК, первый этап изменений характеризовался поступлением возрастающего количества М в альвеолы (с  $10,70 \pm 0,32$  на 7-е сутки до  $20,33 \pm 0,12$  ( $p < 0,01$ ) на 60-е сутки). Процентные отношения М, Н и Л к общему количеству клеток оставались в этот период стабильными и незначительно отличались от таковых в контрольной группе (рис. 1, 2).

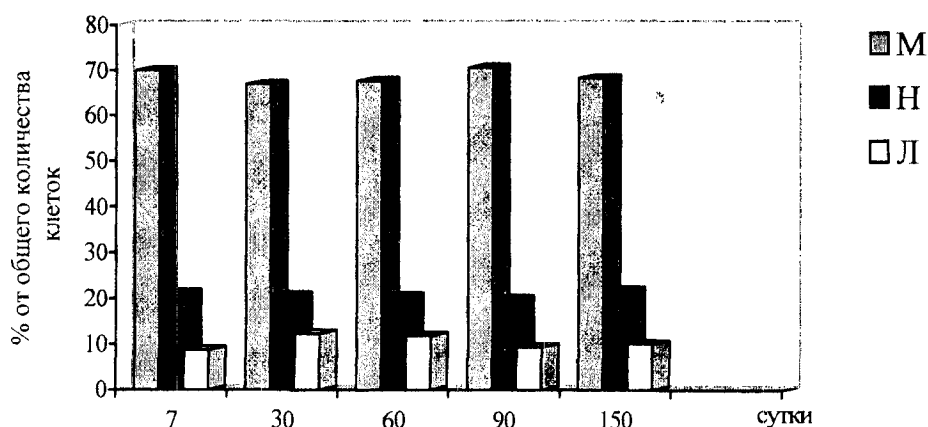


Рис. 1. Динамика процентного соотношения клеток альвеолярной стенки в контрольной группе, где М – моноциты, Н – нейтрофилы, Л – лимфоциты.

Данный этап может быть охарактеризован как период экстенсивной адаптации, приводящий к истощению центральных органов иммунитета. Подтверждением последнего положения явилось развитие второго этапа изменений на 3- месяце эксперимента, когда, наряду с продолжающимся увеличением количества М ( $24,64 \pm 0,11$ ;  $p < 0,05$ ) наблюдалось достоверное снижение количества Н и Л (как абсолютного, так и относительного). Таким образом, тенденция к нарушению гомеостаза, наметившаяся на предыдущем этапе, еще более усилилась. В период последствий ГХЦГ (150-е сутки) в дозе, не превышающей ПДК, наблюдался дальнейший рост абсолютного числа М ( $31,22 \pm 0,42$ ;  $p < 0,05$ ). Но это увеличение сопровождалось изменением процентных соотношений клеток в просвете альвеол (табл. 1).

КИНЕТИКА МОНОНУКЛЕАРНО-ФАГОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ ЛЕГКИХ

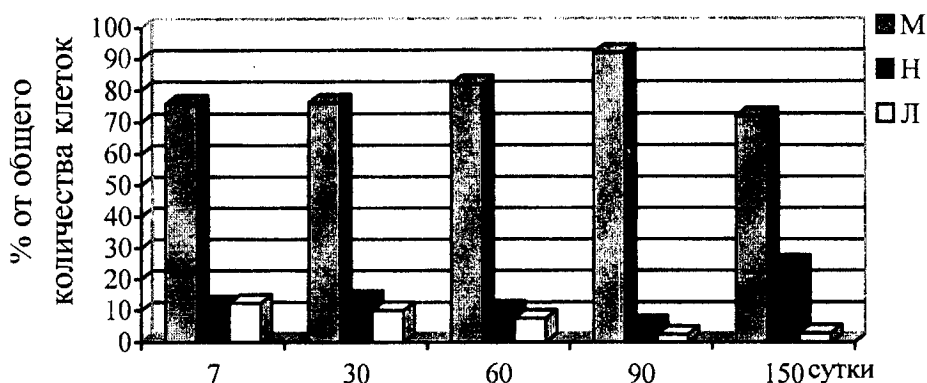


Рис. 2 Динамика процентного соотношения клеток альвеолярной стенки при воздействии дозы гексахлорциклогексана, не превышающей ПДК. Обозначения те же, что и на рис. 1.

Таблица 1.

Клеточный состав просвета альвеол в различные сроки воздействия определенных доз гексахлорциклогексана (абсолютное количество клеток в 100 альвеолах среза легкого)

Сутки опыта	Клетки	Контроль	Дозы		
			Не прев. ПДК	1/100 ЛД50	1/10 ЛД50
7	М	11,35±0,31	10,70±0,32	9,78±0,12	24,33±0,10*
	Н	3,42±0,40	1,67±0,47*	10,17±1,26***	1,92±0,56*
	Л	1,42±0,31	1,75±0,54	2,08±0,40	1,50±0,49
30	М	11,33±0,24	17,60±0,10*	18,13±0,22**	19,53±0,30*
	Н	3,50±0,45	3,17±0,43	10,81±1,13***	3,17±0,40
	Л	2,10±0,39	2,33±0,45	3,45±1,09	1,82±0,38
60	М	11,83±0,10	20,33±0,12**	30,25±0,32*	11,56±0,12
	Н	3,58±0,44	2,60±0,45	29,85±1,04***	3,27±0,32
	Л	2,08±0,26	1,88±0,18	20,75±0,45***	1,82±0,17
90	М	11,81±0,10	24,64±0,11*	29,32±0,10*	12,01±0,08
	Н	3,33±0,40	1,55±0,20***	15,08±1,37***	3,64±0,58
	Л	1,58±0,23	0,64±0,30*	10,67±0,31***	2,00±0,23
150	М	11,80±0,10	31,22±0,42*	27,30±0,20*	15,31±0,22*
	Н	3,75±0,33	10,83±0,71***	3,08±0,52	33,17±2,19***
	Л	1,75±0,22	1,42±0,19	2,00±0,30	1,83±0,21

Примечания: достоверность различий: \* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p< 0,001 относительно значений в контроле.

Особенно это коснулось нейтрофилов - их процентная доля составила в этот период 24, 90 %, что приближается к показателям контрольной группы и

свидетельствует о восстановлении популяции клеток «первой линии защиты» эпителиальной выстилки альвеол.

Полученные данные свидетельствуют о напряжении адаптивных реакций в легких под действием дозы, не превышающей ПДК. На это указывал приток в альвеолы клеток-резидентов М из интерстициального пула. Но, в то же время, адаптационные возможности организма оставались сохраненными, что выражалось в повышении процентной доли нейтрофилов в восстановительный период.

При введении субтоксической дозы ГХЦГ первую фазу изменений наблюдали, начиная с 7-х суток эксперимента (таблица 1). Возник резкий дисбаланс в процентном соотношении М/Н, который выражался в отчетливом преобладании нейтрофилов среди клеток мононуклеарно-фагоцитарной системы легких (46,16 %), тогда как М составляли 44,39 % (в контрольной группе-70 %). Этот период может быть охарактеризован как «стадия тревоги» в развитии общего адаптационного синдрома. На 60-е сутки зарегистрирована вторая волна изменений. Она выражалась в том, что абсолютное количество М, Н и Л резко увеличилось и стало почти что равным, а их процентное содержание составило 30,25 %, 29,85 % и 20,75 % соответственно ( $p < 0,001$ ). Известно, что макрофаги путем синтеза и секреции различных цитокинов участвуют в регуляции гемопоэза [1]. По-видимому, приток в альвеолы большого количества макрофагов вследствие имевшегося на предыдущем этапе местного нейтрофилеза и связанного с ним повышенного синтеза цитокинов - стимуляторов кинетики макрофагов вызвал, в свою очередь, хемотаксис в просвет альвеол остальных компонентов мононуклеарно-фагоцитарной системы (рис.3).

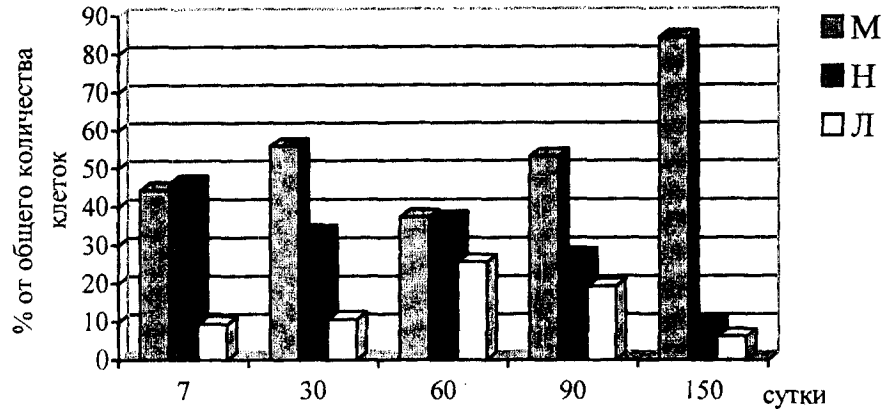


Рис. 3 Динамика процентного соотношения клеток альвеолярной стенки при воздействии субтоксической дозы гексахлорциклогексана. Обозначения те же, что и на рис. 1.

В восстановительном периоде (150-е сутки) абсолютное и относительное количество М продолжало оставаться повышенным, но количественные показатели Н и Л приблизились к таковым в группе интактных животных.

Таким образом, «нейтрофильная фаза борьбы» [6] в течение 1-го месяца воздействия ксенобиотика вызвала увеличение количества М, а затем и Л. Подобная

## КИНЕТИКА МОНОНУКЛЕАРНО-ФАГОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ ЛЕГКИХ

реакция при более длительном воздействии, возможно, приведет к истощению центральных органов иммунитета.

В целом, воздействие субтоксической дозы привело к развитию реакции активации с хорошим восстановительным потенциалом, хотя и носящим экстенсивный характер.

Эффект воздействия ГХЦГ в токсической дозе в полной мере проявился лишь в период последствия ксенобиотика (табл. 1). На 150-е сутки наблюдалось достоверное увеличение абсолютного количества М, но, в то же время, относительное количество последних было ниже контрольных цифр в 2,4 раза. Одновременно наблюдалось наивысшее за весь период наблюдений содержание в альвеолах нейтрофилов с преобладанием их процентного содержания над процентным содержанием М в 2,17 раза (рис. 4).

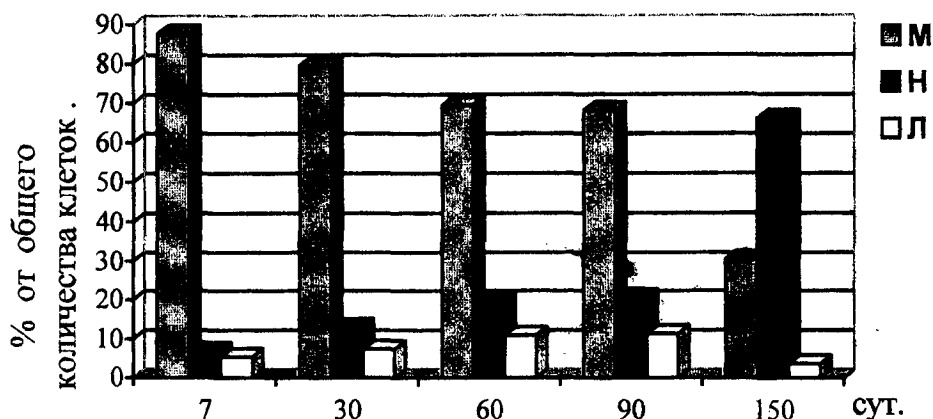


Рис. 4. Процентное соотношение клеток альвеолярной стенки при воздействии токсической дозы гексахлорциклогексана. Обозначения те же, что и на рис. 1.

Таким образом, кумулятивное воздействие ГХЦГ в токсической дозе вызвало уменьшение поступления М и увеличение содержания полиморфноядерных лейкоцитов в альвеолах легких, что, по-видимому, вызвало угнетение синтеза хемотаксических факторов нейтрофилами.

Нами показана специфика кинетики клеток мононуклеарно-фагоцитарной системы легких при адаптации организма к малым дозам ксенобиотиков. Реализация ответной реакции на любой повреждающий фактор, наряду с общими механизмами, имеет ряд особенностей [7]. В частности, она зависит от силы раздражителя, что подтверждается и нашими исследованиями. Полученные данные свидетельствуют о том, что реакция иммунной системы возникает вне зависимости от дозы ксенобиотика и подчиняется классическим механизмам развития общего адаптационного синдрома. Следовательно, длительное поступление ксенобиотиков в организм в любых дозах оказывает негативное воздействие на основные регуляторные системы организма и ведет к развитию дистресса и болезни.

### ВЫВОДЫ

1. Доза, гексахлорциклогексана не превышающая ПДК, вызывает мобилизацию защитных сил организма, хотя эта мобилизация носит специфический характер и выражается нарастающим увеличением количества моноцитов в сочетании с уменьшением содержания полиморфноядерных лейкоцитов и лимфоцитов. Подобная кинетика говорит об экстенсивном характере иммунного ответа.

2. Влияние субтоксической дозы гексахлорциклогексана было наиболее бурным и выразилось в резкой стимуляции притока клеток мононуклеарно-фагоцитарной системы в просвет альвеол.

3. Эффект токсической дозы гексахлорциклогексана также привел к увеличению клеточности альвеолярной стенки, но уже в период последствия препарата.

### Список литературы

1. Козинец Г.И., Макарова В.А. Исследование крови в клинической практике. – М.: Триада X, 1997. – С.133-151.
2. Романова Л.К. Физиологическая регенерация альвеолярных макрофагов // Архив патологии. – 1991. – №11. – С.22-27.
3. Шпак С.И., Зинченко С.А., Шрамко Ю.И. Функционально-метаболические характеристики легочных макрофагов и нейтрофилов крови при хроническом воздействии ксенобиотиков // Влияние антропогенных факторов на структурные преобразования органов, тканей, клеток человека и животных. Материалы 2-й Всероссийской конференции: – Саратов, 1993. – С. 97.
4. Шрамко Ю.И. Малые дозы пестицидов как преморбидный фактор // Здоровье: сущность, диагностика и оздоровительные стратегии: Международная конференция. Польша, Криница Горска (10-12 мая 1999 г.), 1999. – С. 187-190.
5. Шрамко Ю.И. Система мононуклеарных фагоцитов как адаптационный маркер // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – 2003. – Т. 16 (55), № 4. – С. 130-138.
6. Schilling V. Praktische Blutlebre. – Fischer, Jena, 1952. – 12 p.
7. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.Л. Адаптационные реакции и резистентность организма. – Ростов-на-Дону : Изд-во Ростовского ун-та, 1990. – 224 с.

*Поступила в редакцию 22.09.2005 г*