

УДК 612.02

СИСТЕМА МОНОНУКЛЕАРНЫХ ФАГОЦИТОВ КАК АДАПТАЦИОННЫЙ МАРКЕР

Шрамко Ю. И.

Организм человека подвергается воздействию различных факторов внешней среды, большинство из которых в настоящее время являются антропогенными. Поэтому особую актуальность приобретают вопросы, связанные как с возможной адаптацией организма человека к созданному им же «химическому окружению», так и вопросы влияния этого окружения на способность организма активно приспосабливаться к неблагоприятным факторам окружающей среды [1]. Одной из особенностей адаптогенного действия факторов окружающей среды является синхронная индукция пластического и биоэнергетического обмена в пограничных эпителиальных барьерах. Контактующие с внешним миром, эти ткани имеют генетически детерминированные клеточные механизмы защиты от воздействия факторов химической, биологической и физической природы [2]. Гематоальвеолярный барьер является вторым (после клеток ретикулоэндотелиальной системы печени) барьером на пути экзогенных веществ – ксенобиотиков [3]. Важнейшим компонентом этого барьера являются мононуклеарные фагоциты легких. Эти клетки являются частью системы мононуклеарных фагоцитов организма (СМФ) [4]. 70% легочных мононуклеаров происходит из моноцитов крови, а 30% – дифференцируются на месте из клеток предшественников [5].

В настоящее время приобретают большую актуальность вопросы влияния малых, не превышающих ПДК доз ксенобиотиков на организм. Это связано, во-первых, с развитием и усовершенствованием агротехнических технологий, приводящим к снижению доз применяемых ксенобиотиков, а, во-вторых, со снижением концентрации этих веществ при миграции их по пищевым цепям и частичном распаде в окружающей среде [6]. Влияние указанных концентраций, по мнению многих исследователей [7, 8, 9, 10] заключается как в усугублении обычной патологии, так и в адаптогенном воздействии. Данное воздействие оказывается, прежде всего, на клеточно- тканевые барьеры, одним из которых является система мононуклеарных фагоцитов легких.

Целью данного исследования являлось изучение типа адаптационных реакций у крыс при воздействии различных доз гексахлорциклогексана в хроническом эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проводился на 100 белых крысах линии «Wistar», половозрелых самцах массой тела 180-200 г. 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 [11]. Пестицид в виде водной суспензии вводился ежедневно перорально в течение 90 суток в следующих концентрациях:

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

2-я группа (25 особей): $1/100$ половинной летальной дозы (LD_{50}) – субтоксическая доза;

3-я группа (25 особей): $1/10LD_{50}$ – токсическая доза;

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

Изучение клеток СМФ проводилось в гистологических препаратах легких и мазках периферической крови. Забор материал проводился на 7-е, 30-е, 60-е и 90-е сутки после начала затравки, а также через 60 суток после ее прекращения с целью изучения последствий ГХЦГ. В каждом заборе материала использовалось по 5 животных из каждой группы. В гистологических препаратах проводили биометрию пневмоцитов 2 порядка и кариометрию альвеолярных макрофагов (методика [12]) и подсчет количества клеток в 100 альвеолах среза легкого. В мазках крови определяли абсолютное и относительное количество моноцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нашими исследованиями выявлен ряд особенностей изменения функционального состояния альвеолярных макрофагов, в том числе и характер их взаимодействия с сурфактантпродуцирующей системой легких (пневмоцитами 2 порядка) и синхронные изменения количества моноцитов периферической крови, что отражает целостный характер воздействия ксенобиотиков и реакцию иммунной системы в целом. Реакции исследуемых показателей носили дозозависимый характер и отличались фазным течением.

Начальная фаза изменений наблюдалась в течение первого месяца эксперимента и характеризовалась как «стадия тревоги» в развитии адаптационного синдрома. В этот период при воздействии дозы, не превышающей ПДК количество макрофагов в просвете альвеол было больше контрольных значений на 55,34% ($p<0,05$), что сопровождалось уменьшением размеров их ядер на 15,15% ($p<0,05$) по сравнению с контрольными цифрами. Размеры пневмоцитов 2 порядка превышали контрольные значения на 4,76% ($p<0,05$).

Вариационные кривые размеров имели два четко выраженных пика в районе 5,5 и 7 у.е. (рис. 1, 2). Это говорило о начавшемся притоке в альвеолы молодых клеток с большой вариабельностью размеров ядер. Увеличение абсолютного количества моноцитов периферической крови, а также рост их процентного содержания относительно других лейкоцитов говорили о напряжении адаптационных процессов в центральных органах иммунитета.

При введении субтоксической дозы в течение первого месяца количество макрофагов в просвете альвеол возросло на 4,65% ($p<0,01$), а количество моноцитов

в 1 мм^3 периферической крови – на 66,67% ($p < 0,05$). Синхронно с этим наблюдалось уменьшение размеров ядер макрофагов на 54,43% ($p < 0,05$) и пневмоцитов 2 порядка на 17,14% ($p < 0,01$). Вариационные кривые были компактны, однако их вершины были сдвинуты – у пневмоцитов на 1,5 у.е, а у макрофагов – на 4 у.е. влево от контрольных (рис.1,2).

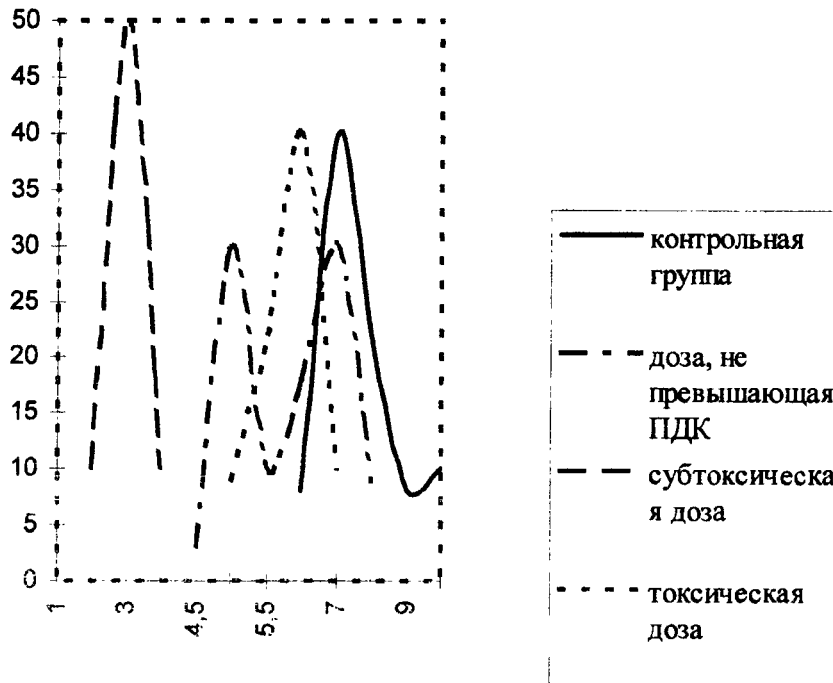


Рис. 1. Вариационные кривые размеров ядер альвеолярных макрофагов крыс при введении различных доз ГХЦГ (1 месяц опыта)

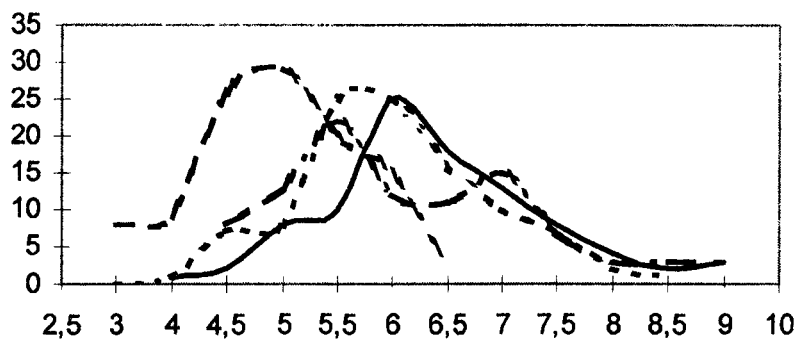


Рис. 2. Вариационные кривые размеров пневмоцитов 2 порядка крыс при введении различных доз ГХЦГ (1 месяц опыта)
Условные обозначения – см. рис. 1.

Под влиянием токсической дозы ГХЦГ количество макрофагов в просвете альвеол увеличилось в течение первого месяца на 72,37% относительно нормы ($p < 0,05$), что сопровождалось синхронным достоверным увеличением процентного содержания моноцитов в периферической крови на 89,47% по отношению к контрольным цифрам ($p < 0,01$). В тоже время биометрические показатели снизились: на 5,87% для пневмоцитов 2 порядка ($p < 0,001$) и на 15,51% для макрофагов ($p < 0,05$) (рис. 1, 2). Указанные изменения свидетельствовали об угнетении процессов синтеза в клеточном ядре, которые не компенсировались притоком мононуклеаров из периферической крови.

Следующая фаза изменений регистрировалась на протяжении второго месяца эксперимента. При воздействии дозы, не превышающей ПДК, в указанный период наблюдалось увеличение количества макрофагов в просвете альвеол на 71,20% ($p < 0,01$), сопровождающееся недостоверным увеличением количества моноцитов периферической крови. Напряженный синтез ядерной ДНК сменился в этот период его угнетением. Об этом свидетельствует уменьшение размеров ядер пневмоцитов 2 порядка на 8,17% ($p < 0,05$), а ядер макрофагов – на 18,84% ($p < 0,05$). Кривая размеров ядер макрофагов в этот период имела компактный вид, но пик ее был сдвинут относительно контрольного на 0,6 у.е. влево. Таким образом, преобладали макрофаги меньшего, чем у интактных животных размера, что говорило об истощении пула клеток-резидентов (рис. 3, 4).

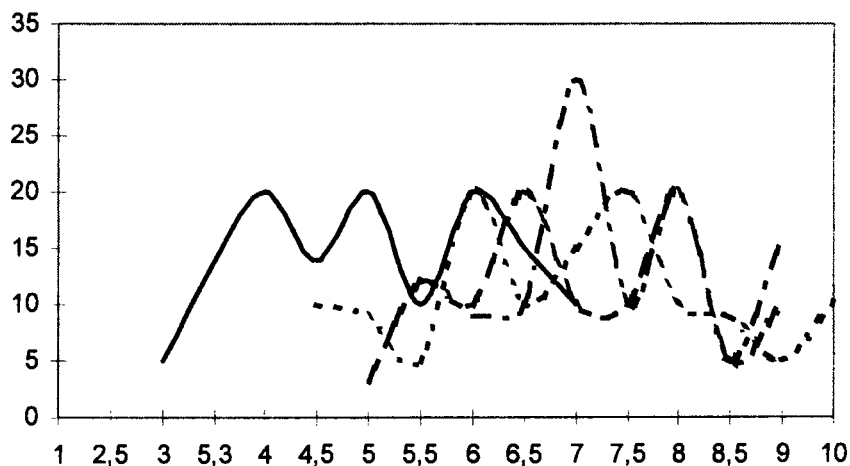


Рис. 3. Вариационные кривые размеров ядер альвеолярных макрофагов крыс при введении различных доз ГХЦГ (2 месяца опыта)
Условные обозначения – см. рис. 1.

При воздействии субтоксической дозы в течение второго месяца также наблюдалось увеличение количества макрофагов в просвете альвеол (на 155,92% ($p < 0,01$)) и недостоверное увеличение количества моноцитов крови. Процессы синтеза в клеточном ядре были активизированы, о чем свидетельствовало увеличение размеров ядер макрофагов на 13,68% ($p < 0,01$), а размеров пневмоцитов – на 39,12% ($p < 0,05$). Повышение синтеза ядерной ДНК сопровождалось усиленным

притоком клеток из интерстиция и периферической крови. Это отразилось на формах вариационных кривых, которые в этот период имели несколько вершин, были растянуты и сдвинуты вправо, то есть в сторону преобладания созревающих и зрелых клеток (рис. 3, 4).

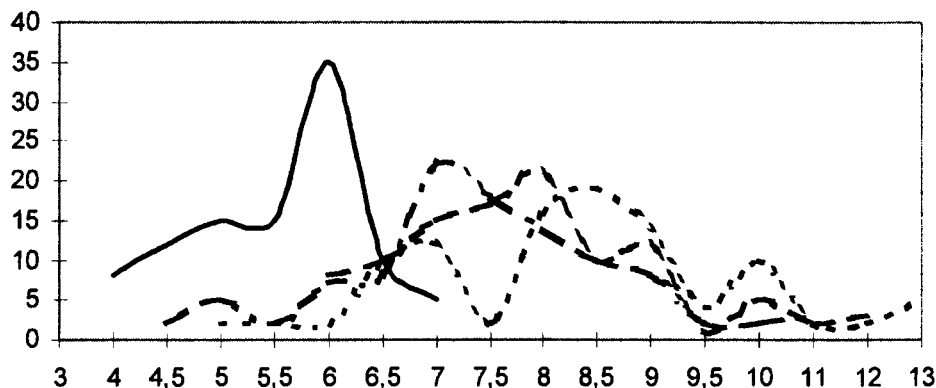


Рис. 4. Вариационные кривые размеров пневмоцитов 2 порядка крыс при введении различных доз ГХЦГ (2 месяц опыта)

Условные обозначения – см. рис. 1.

Влияние токсической дозы ГХЦГ в течение второго месяца можно охарактеризовать как фазу угнетения. Это подтверждалось уменьшением количества макрофагов в просвете альвеол, не достигая, однако, достоверных значений. Но, в то же время, увеличение количества моноцитов в 1 мм^3 крови на 92,00% от контроля ($p < 0,05$) не позволило изменениям принять необратимый характер. Подтверждение тому – напряженные процессы синтеза в клеточном ядре. Это положение подтверждается увеличением размеров ядер альвеолярных макрофагов на 31,62% ($p < 0,01$), а пневмоцитов – на 46,14% ($p < 0,05$). Вариационные кривые в этот период также отражали напряжение защитных сил легких – они были растянуты, сдвинуты вправо и имели несколько пиков (рис. 3,4).

Таким образом, в эту фазу воздействия ГХЦГ в альвеолах преобладали молодые клетки, появившиеся путем ускоренной дифференцировки из моноцитов крови.

Третий месяц эксперимента по отношению ко всем экспериментальным группам характеризуется как период угнетения иммунологических характеристик мононуклеарно-фагоцитарной системы.

При воздействии дозы, не превышающей ПДК количество макрофагов в просвете альвеол продолжало достоверно нарастать и на 90-е сутки эксперимента превышало контрольные цифры на 108,64% ($p < 0,05$). Но уменьшение размеров ядер макрофагов на 18,84% ($p < 0,05$), а пневмоцитов – на 8,17% ($p < 0,05$), а также недостоверное уменьшение содержания моноцитов в 1 мм^3 периферической крови указывают на дальнейшее истощение пула клеток-предшественников макрофагов, которое затрагивает на данном этапе уже и центральные органы иммунитета.

Субтоксическая доза ГХЦГ в этот же период привела к сходным изменениям: увеличению количества макрофагов в просвете альвеол на 148,26% ($p < 0,05$) и

возрастанию процентного количества моноцитов крови на 47,62% ($p < 0,05$). Размеры ядер альвеолярных макрофагов и пневмоцитов 2 типа практически не отличались от контрольных, хотя и не достигли достоверных значений (рис. 5, 6)

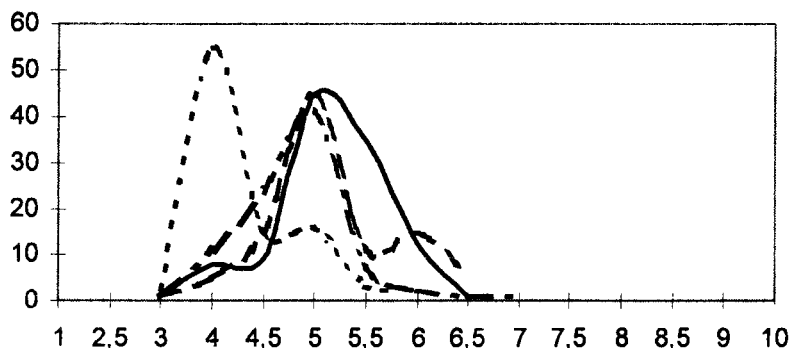


Рис. 5. Вариационные кривые размеров пневмоцитов 2 порядка крыс при введении различных доз ГХЦГ (3 месяц опыта)
Условные обозначения – см. рис. 1.

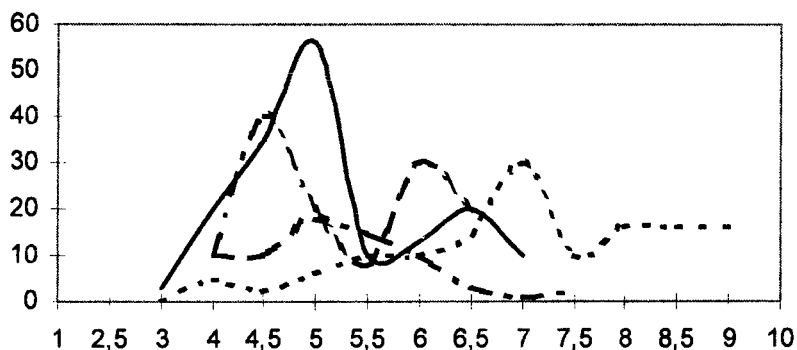


Рис. 6. Вариационные кривые размеров ядер альвеолярных макрофагов крыс при введении различных доз ГХЦГ (3 месяц опыта)
Условные обозначения – см. рис. 1.

Под влиянием токсической дозы в указанный период в периферической крови наблюдался относительный моноцитоз – до 104,76% от контроля ($p < 0,01$), однако, абсолютное количество моноцитов снизилось на 40,63% ($p < 0,05$), что указывало на угнетение неспецифического центрального иммунитета. Количество макрофагов в просвет альвеол незначительно превышало норму – на 1,69%, биометрические показатели также мало отличались от показателей контрольной группы.

Период последствий ксенобиотика (150-е сутки опыта) в группе, получавшей дозу, не превышающую ПДК, характеризовался синхронным нарастанием содержания макрофагов в альвеолах (на 164,58% больше, чем у интактных животных ($p < 0,05$)) и относительного количества моноцитов в крови (171,43% ($p < 0,05$) от контрольной группы) (рис. 7). Указанные изменения сопровождались

стабилизацией биометрических показателей. Оставаясь недостоверно меньше по размеру, ядра альвеолярных макрофагов стали зрелыми, на что указывал сжатый вид вариационной кривой (рис.7, 8).

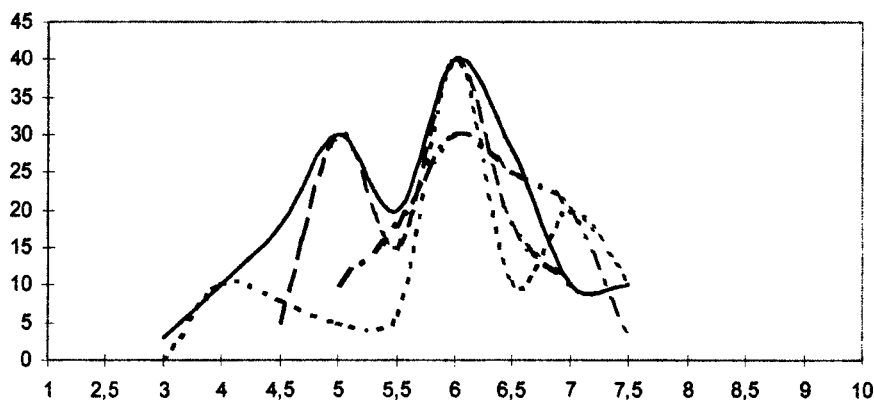


Рис. 7. Вариационные кривые размеров ядер альвеолярных макрофагов крыс при ведении различных доз ГХЦГ (5 месяц опыта)
Условные обозначения – см. рис. 1.

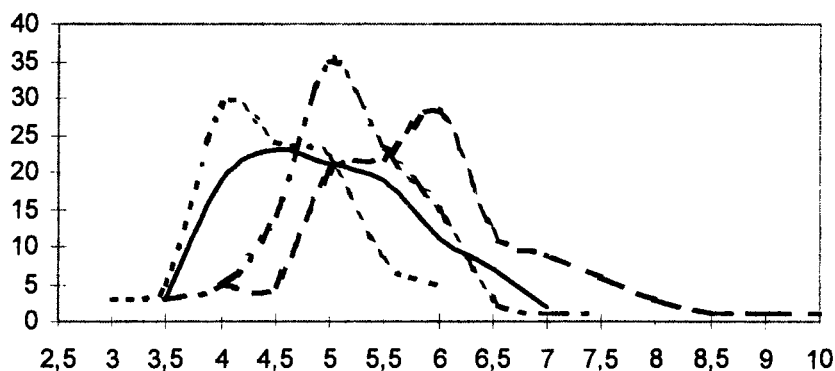


Рис. 8. Вариационные кривые размеров пневмоцитов 2 порядка крыс при введении различных доз ГХЦГ (5 месяц эксперимента)
Условные обозначения – см. рис. 1.

Похожие изменения происходили в указанный период и в группе, получавшей субтоксическую дозу ГХЦГ. Стабилизация размеров ядер макрофагов и пневмоцитов 2 порядка ($p < 0,05$) (рис.) сопровождалась увеличением количества макрофагов в просвете альвеол на 131,36% ($p < 0,05$) и относительного содержания моноцитов на 47,62% от контроля. У животных, получавших токсическую дозу ГХЦГ сохранялся статистически достоверный относительный моноцитоз, и продолжалась дальнейшая стабилизация биометрических показателей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Собственные результаты дают основание полагать, что не только большие, но и малые дозы ксенобиотиков оказывают влияние на такое важное звено неспецифической резистентности, как мононуклеарно – фагоцитарная система легких. Реакции последней на воздействие различных доз гексахлорциклогексана имеют фазный характер. Воздействия доз, не превышающей ПДК и субтоксической вызывают сходные изменения, отличающиеся лишь по срокам возникновения. Они выражаются в начальной мобилизации большого количества незрелых макрофагов и активизации процессов синтеза в ядрах указанных клеток. Указанные изменения в дальнейшем сменяются угнетением процессов в клеточном ядре и истощением иммунных возможностей организма в целом. Влияние токсической дозы выражалось в начальном угнетении процессов синтеза в клеточном ядре, которое не компенсировалось за счет притока клеток-предшественников. В дальнейшем угнетение распространяется и на центральные органы иммунитета. В дальнейшем не превышающая ПДК и субтоксическая дозы формируют комплекс морфофункциональных сдвигов, обеспечивающих физиологически обоснованный адаптационный процесс и предотвращающих необратимые повреждения. Однако сохраняющаяся биометрическая нестабильность дает основание полагать, что ГХЦГ в указанных концентрациях при длительном введении оказывает угнетающее влияние на защитные механизмы легких.

Таким образом, физиологические реакции в пограничных тканевых барьерах могут служить маркерами стадий адаптационного процесса

Список литературы

1. Мартемьянов В.И. Стресс: адаптивный и негативный аспекты // 4 Всесоюзная конференция «Эндокринная система организма и вредные факторы окружающей среды». Ленинград, 15-19 сентября 1991 г.: Тезисы докладов/ – Ленинград, 1991. – С.151.
2. Яковлева Е.И., Горбунова Л.В., Невмятулли А.Л. Изменение азрогематического барьера и состояние нейтрофилов в сосудах легких при развитии респираторного дистресс-синдрома. – Сосудисто-гканевые отношения при гипоксии. – Нижний Новгород, 1991.– С.61- 69.
3. Казачков В.И., Гасимова Э.М., Морфофункциональное состояние макрофагов печени крыс при эмбриотоксических воздействиях химических соединений // Сб. научн. трудов «Методология фундаментальных исследований в гигиене окружающей среды» – Москва, 1989. –С.22-23.
4. Громыхина Н.Ю., Крымская Л.Г., Козлов В.А. Роль макрофагов в процессе формирования регуляторных связей между иммунной, нервной и эндокринной системами в ходе иммунного ответа //Успехи физиологических наук. – 1993. – т.24.1. – С.5-6.
5. Van Furth R. Macrophagien review //Pathol. Res. Pract. – 1982. – 175, № 4. – P.38-39.
6. Zahm Shelia Hoar, Blair Aaron Pesticides and nonchogking lymphomas //Cancer Res. – 1994. – V.52, N 19. – P.5485-5488.
7. Алексашина З.А., Будников Д.А., Колесников В.С. и др. Гигиеническая оценка химической нагрузки, получаемой населением за счет пестицидов //Загрязнение окружающей среды: проблемы токсикологии и эпидемиологии: Тез. докл. Международной конференции. – М. – Пермь, 11-19мая 1993. – С. 148-199.
8. Добротина Н.А., Казацкая Ж.А., Копылова Г.Е. Дозозависимый эффект влияния некоторых современных пестицидов на иммунную систему человека в эксперименте // 1 Съезд иммунологов России. Новосибирск, 23-25 июня, 1992 г.: Тез. докл / Новосибирск, 1992. – С.139.
9. Астаикулов К. М., Аннамухамедов М. Б., Астанкулов Р.С. и др. Сравнительная оценка показателей физической нагрузки пестицидами организма людей, проживающих в зонах

интенсивного и малой интенсивности использования пестицидов //Здравоохранение Туркменистана. – 1990. – № 3. – С.26-30.

10. Mally F.B., Tongler B., De Week A.L. Prolonged oxidant generation by antigen-recognizing human peripheral blood mononuclear cells //Zentralbl. Hyg. und Umweltmed. – 1991. – 1224, 4. – P.365.
11. Павлов А.В. Справочник по пестицидам.– Киев:Урожай.1986. – 432 с.
12. Хватов Б.П., Шаповалов Ю.Н. Ранний эмбриогенез человека и млекопитающих. – Симферополь, 1969. – С.42-57.

Поступила в редакцию 07.10.2003 г.