

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ИММУННЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ

И.А.Жукова,¹М.В. Анисович,²В.Ю.Афонин²

¹УО «Белорусский педагогический университет имени Максима Танка», Беларусь, e-mail: irinazhukova7@gmail.com

²ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» Беларусь, e-mail: farmacia@it.org.by

Цель исследования заключалась в получении новых данных о молекулярно-клеточных изменениях, лежащих в основе нарушений работы иммунной и выявлении маркеров патологических изменений.

У одних и тех же животных с промежутком в месяц был произведен прижизненный забор крови из хвостовой вены для молекулярно-биологических исследований. Молекулярно-биологические показатели измеряли методом проточной цитофлуориметрии, используя лазерный проточный цитометр (США), с его помощью на основании гистограмм распределения содержания ДНК в клетках изучали основные показатели клеточного цикла (распределение клеток по стадиям), частоту клеток с микроядрами и генетический апоптоз в популяциях клеток. Постановку культуры лимфоцитов периферической крови крыс выполняли полумикрометодом. Подготовительные работы и постановку культуры клеток выполняли в стерильных условиях. Во флаконы из-под пенициллина разливали по 0,5 мл цельной крови крыс, добавляли 6,0 мл культуральной среды RPMI 1640, 1,5 мл сыворотки крупного рогатого скота и 0,1 мл фитогемагглютинаина (ФГА). Культивирование проводили при +37° С в течение 48 часов (в боксе, термостат).

Установлено, что в конце апреля у животных независимо от линии количество клеток белой и красной крови достоверно выше, чем в конце мая. Только количество моноцитов остается на одном уровне, причем в оба срока наблюдения у линии WKY их больше, хотя и недостоверно. Если в апреле не наблюдалось достоверных различий между линиями по количеству клеток крови, то в мае было отмечено, что скорость затухания процессов эритропоэза у линии WKY сильнее и количество эритроцитов а, следовательно, гемоглобина достоверно меньше, чем у крыс линии SHR. Эти данные могут свидетельствовать о более гибкой и пластичной реакции крыс линии WKY на процессы весенней активации пролиферации. Например, известно высокая чувствительность больных артериальной гипертензией к изменению погодных факторов [1], а реакция крыс гипертензивной линии SHR на смену сезонов года в виварных условиях ранее не изучалась.

Подтверждением различий естественных сезонных альтераций в процессах кроветворения у этих двух линий животных являются данные проточной цитометрии. Так независимо от линии животных (объединенные данные) отмечается достоверное снижение к маю процента апоптотических клеток и клеток на стадии деления G2/M, при этом наблюдается достоверное увеличение клеток с микроядрами. Клетки с микроядрами, как маркеры повреждения ДНК, могут иметь апоптотическую природу и свидетельствовать о смене механизма клеточной гибели, и/или являться результатом накопления клеток с нарушением генетического материала в отдаленные сроки при нарушениях репарации ДНК на фоне предыдущей активации пролиферации.

Необходимо отметить, что в наблюдаемые сроки процент апоптоза и клеток с микроядрами в крови крыс линии SHR был выше, а в апреле на фоне повышенной пролиферации гибель клеток у крыс этой линии более чем в два раза был выше, чем у линии крыс WKY. Это является фактом элиминации неэффективных клеток, содержащих повреждения ДНК, что в условиях стимуляции кроветворения приводит к кле-

точному дефициту и снижению адаптивного потенциала. Так при проведении исследования гибели клеток *ex vivo* в условиях их инкубации в течение 24 часов при 50⁰С было установлено, что интенсивность гибели лейкоцитов крови крыс SHR достоверно выше, чем у животных линии WKY. Инкубация клеток в термостате при температуре 37⁰С в течение 4 часов приводила также к гибели клеток, которая проявлялась в виде увеличения как апоптотических клеток, так и клеток с микродрями. При этом, гибель протекала на стадии S, где происходило накопление клеток на фоне достоверного уменьшения клеток на стадии покоя G1, однако различий между линиями в данном случае не отмечалось. Все это указывает на то, что лейкоциты изучаемых линий животных отличаются в своей реакции на неблагоприятные факторы не целиком, а только в отдельных механизмах гибели и дифференцировки, что неудивительно, т.к. линия SHR создана на основе линии WKY.

Установлено, что молекулярно-биологические показатели периферической крови крыс линии SHR и WKY значительно колеблются на протяжении года. У крыс линии SHR процент апоптоза достигает пика 13,69±2,08% и 12,41±1,90% 2 раза в год в конце апреля и в начале сентября. Причем, тогда как у крыс линии WKY уровень апоптоза одинаково низок и стабилен и в апреле и в мае, у крыс линии SHR процент погибших лейкоцитов достоверно снижается на 64% и в мае не отличается от показателя крыс линии WKY. В начале сентября у крыс линии SHR уровень апоптоза снова достоверно увеличивается и затем незначительно снижается к концу ноября. У крыс линии WKY процент погибших клеток незначительно увеличивается к осени.

Пролиферация лейкоцитов у животных обеих линий SHR и WKY увеличена в начале сентября, о чем говорит достоверное увеличение числа клеток на стадии синтеза S и уменьшение клеток на стадии G1/G0, и к ноябрю возвращается к предыдущим значениям. Микродря в лейкоцитах периферической крови крыс SHR и WKY в ноябре встречались, по меньшей мере, в 4 раза чаще, чем в любое другое время года, достигая 22,08±1,65 и 22,27±2,34 соответственно для гипертензивных и здоровых животных. Клетки с микродрями, как маркеры повреждения ДНК, могут иметь апоптотическую природу и свидетельствовать о смене механизма клеточной гибели, и/или являться результатом накопления клеток с нарушением генетического материала в отдаленные сроки при нарушениях репарации ДНК на фоне предыдущей активации пролиферации.

Полученные данные могут свидетельствовать о более гибкой и пластичной реакции крыс линии WKY на смену сезонов года. Например, известно о высокой чувствительности больных артериальной гипертензией к изменению погодных факторов [1]. Реакция крыс гипертензивной линии SHR на смену сезонов года в условиях вивария ранее не изучалась. Полученные результаты подтверждают необходимость учитывать циркадные ритмы иммунной системы при лечении больных с артериальной гипертензией. При назначении лекарств может оказаться предпочтительней варьировать дозу лекарства или назначать дополнительные средства в период ослабления иммунной системы.

В результате впервые показаны различия в динамике процесса кроветворения у изучаемых линий животных, отмечено наличие признаков его неэффективности у крыс линии SHR, что выражается в высокой чувствительности лейкоцитов к индукции гибели в условиях *invitro* и *invivo*.

Литература:

1. Заславская, Р.М. Щербань, Э.А. Логвиненко, С.И. Корреляционные отношения между параметрами погодных факторов и показателями гемодинамики у больных с артериальной гипертензией / Р.М. Заславская // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. - 2010. - № 4 (75). - № 9. - С. 41-46.