Минобрнауки России

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего профессионального образования

«Челябинский государственный университет»

На правах рукописи

Шопова Анастасия Валерьевна

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ И ЛОВУШКООБРАЗУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ МАКРОФАГОВ РАЗЛИЧНЫХ КОМПАРТМЕНТОВ У ПОТОМСТВА САМОК КРЫС С ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Брюхин Геннадий Васильевич

Челябинск – 2015

Содержание

Введение 5

Глава I Обзор литературы. «Значение лекарственных препаратов в нарушении функционирования основных систем жизнеобеспечения» 11

Глава II Материал и методы исследования 27

2.1. Общая характеристика экспериментальных животных 27

2.2. Экспериментальные модели лекарственного поражения печени 28

2.2.1. Модель лекарственно-индуцированного гепатита, вызванного введением парацетамола 29

2.2.2. Модель лекарственно-индуцированного гепатита, вызванного введением тетрациклина 31

2.2.3. Модель иммобилизационного стресса 33

2.3. Описание методов исследования 33

2.3.1. Методы выделения исследуемых мононуклеаров различных компартментов 34

2.3.2. Получение мазков клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов 35

2.3.3. Получение монослоя клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов 36

2.3.4. Иммунологические методы исследования 36

2.3.4.1. Определение жизнеспособности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов 36

2.3.4.2. Подсчет количественного состава клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов 37

2.3.4.3. Определение фагоцитарных и микробоцидных свойств клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов 39

2.3.4.5. Определение ловушкообразующей способности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 42

2.3.4.6. Оценка лизосомального аппарата клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 44

2.3.4.7. Определение рецепторного аппарата клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 48

2.3.4.8. Оценка кислородзависимой метаболической активности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 50

2.3.5. Оценка цитохимических показателей клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 53

2.3.5.1. Оценка содержания гликогена в клеточных элементах системы мононуклеарных фагоцитов_____ 53

2.3.5.2. Оценка миелопероксидазной активности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 55

2.3.5.3. Оценка активности сукцинатдегидрогеназы клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 57

2.3.6. Статистические методы исследования_____ 58

Глава III Результаты собственных исследований и их обсуждение_____60

3.1. Содержание клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов___61

3.2. Поверхностный рецепторный аппарат клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 68

3.3. Лизосомальная активность клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 80

3.4. Кислородзависимая метаболическая активность клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 90

3.5. Цитохимическая характеристика клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____104

3.5.1. Содержание сукцинатдегидрогеназы клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 104

3.5.2. Характеристика миелопероксидазной активности клеточных элементах системы мононуклеарных фагоцитов_____ 109
3.5.3. Содержание гликогена клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 115
3.6. Фагоцитарная активность клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 121
3.6.1. Фагоцитоз микросфер латекса_____121
3.6.2. Фагоцитоз бактериальной культуры S. aureus_____ 127
3.6.3. Микробоцидная активность бактериальной культуры S. aureus_____ 137
3.7. Ловушкообразующая способность клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов_____ 141
3.8. Влияние иммобилизационного стресса на морфофункциональное состояние макрофагов различных компартментов потомства самок крыс с лекарственно – индуцированным поражением печени_____158
3.8.1. Влияние иммобилизационного стресса на содержание мононуклеаров экспериментальных животных_____161
3.8.2. Влияние иммобилизационного стресса на рецепторный аппарат мононуклеаров экспериментальных животных_____ 166
3.8.3. Влияние иммобилизационного стресса на фагоцитарную активность мононуклеаров экспериментальных животных_____ 172
Глава IV Заключение_____ 182
Выводы_____187
Список использованной литературы_____188

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

В течение длительного времени в Российской Федерации сохранялась стойкая тенденция к депопуляции, регистрировался высокий уровень заболеваемости, что послужило предпосылкой для выделения здоровья населения фактором национальной безопасности (Римашевская Н.М., 2004; Баранов А.А. с соавт., 2005). Несмотря на стойкий демографический кризис, долгое время господствующий в стране, в последние годы наблюдается незначительное улучшение демографических показателей («О положении детей и семей, имеющих детей, в Российской Федерации», 2013). Так с 2012 по 2014 год было зарегистрировано увеличение доли детей среди населения с 18,8 до 19,1%, а за период с 2010 по 2013 год число родившихся увеличилось на 6%. Однако суммарный коэффициент рождаемости (среднее число детей, рожденных одной женщиной репродуктивного возраста), несмотря на небольшое увеличение, остается ниже уровня, необходимого для простого воспроизводства населения. Так он должен составлять 2,13 детей, однако в 2013 году он составил 1,707 детей (в 2012 году – 1,691 детей, в 2011 году – 1,582 детей). В связи с этим проблема воспроизводства здорового потомства остается в настоящее время особо актуальной и острой. Кроме того, имеются данные о высоком уровне самопроизвольного прерывания беременности, достигающего 10% (Стародубов В.И., Суханова Л.П., 2012). Особое значение придается демографическому старению нации, в результате которого увеличивается доля лиц возраста, превышающего трудоспособный, над лицами молодыми (Стародубов В.И., Суханова Л.П., 2012). Так в 2010 году данные показатели составили 21,6% к 18,3% соответственно.

Известно, что уровень здоровья женщин и детей, а также показатели материнской, младенческой и перинатальной смертности являются отражением уровня развития общества (Фролова О. Г. и соавт., 2005; Милованов А. П., 2008).

При этом одним из ведущих показателей, обусловливающих уровень репродуктивного потенциала, является здоровье женщин. Именно женщине, как основной хранительнице генов, принадлежит основная роль в рождении здорового потомства (Баранов А.А., Щеплягина Л.А., 2000; Шарапова О.В., Цыбульская И.С., 2000; Барт Б.Я. с соавт., 2010). Патология беременности и перинатального периода является ключевым фактором, вызывающим снижение показателей систем жизнеобеспечения потомства. На фоне увеличения возраста первородящих женщин, анамнез которых зачастую отягощен абортами, возрастает частота экстрагенитальной и акушерской патологии (Медведь В.И., 2007). В связи с этим, увеличивается число беременностей высокого риска, приводящих к различной патологии со стороны плода – самопроизвольным абортам, а также мертворождаемости. На фоне неполноценного соматического статуса женщин беременность нередко заканчивается рождением физиологически незрелых детей с признаками отставания физического развития. Известно, что экстрагенитальные заболевания матери являются одной из основных причин нарушения адаптационных возможностей плода, а также осложнений внутриутробного, родового и послеродового периода (Егорова А.Т. с соавт., 2013) и составляют, по некоторым данным, 60-80% (Шехтман М.М., 2003). Широко распространенной является патология желудочно-кишечного тракта, в частности, гастродуодениты, холангиты, холециститы, дискинезии желчевыводящих путей, которые являются одной из причин рождения недоношенных детей (Апресян С.В., 2009; Кузьмин В.Н., 2010; Сафронов В.В., Шакирова Э.М., 2010).

В результате многочисленных экспериментальных исследования потомства матерей с патологией гепатобилиарной системы было установлено снижение функционального состояния систем жизнеобеспечения (Брюхин Г.В., 1990 – 2013; Грачев А.Ю., 1994; Бояков А.А., 1999; Николина О.В., 1999; Евченко Е.В., 2001;

Федосов А.А, 2001; Пашнина Е.Н., 2003; Михайлова Г.И., 2005; Кузнецова А. Б., 2006; Ильиных М.А., 2006; Леонов Н.В., 2007; Барышева С.В., 2008; Малышева О.М., 2008; Вторушина Е.В., 2008; Романов А.С., 2008; Сизоненко М.Л., 2008 – 2013; Шаврина Е.Ю, 2012; Зубарев И.В., 2012; Невзорова Н.В., 2012; Солянникова Д.Р., 2013; Серышева О.Ю., 2013; Мальгина Т.Д., 2013; Ласьков Д.С., 2014).

Одним из факторов, оказывающих существенное влияние на систему жизнеобеспечения потомства, является состояние неспецифической резистентности. В связи с этим **целью** настоящего исследования явился анализ фагоцитарной активности и ловушкообразующей способности макрофагов различных компартментов у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени лекарственного генеза в различные сроки постнатального развития.

В соответствии с целью исследования были выделены следующие **задачи:**

1. Исследовать особенности количественного состава моноцитов периферической крови и тканевых макрофагов у потомства самок крыс с поражением печени лекарственного генеза в различные сроки постнатального периода.
2. Изучить различные этапы фагоцитарного процесса моноцитов периферической крови и тканевых макрофагов у потомства крыс с лекарственно – индуцированным поражением печени в различные сроки постнатального периода.
3. Оценить ловушкообразующую способность мононуклеарных фагоцитов у крысят, рожденных от матерей с лекарственным поражением печени в различные сроки постнатального периода.
4. Изучить влияние иммобилизационного стресса на морфофункциональное состояние моноцитов периферической крови и тканевых макрофагов у половозрелого потомства крыс с экспериментальным поражением печени лекарственного генеза.

Научная новизна

На адекватных экспериментальных моделях лекарственного поражения печени матери различного генеза установлены общие закономерности морфофункционального состояния мононуклеарных фагоцитов у потомства. Выявлено нарушение функциональных параметров моноцитов периферической крови и тканевых макрофагов у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени лекарственной этиологии: изменение количественного состава, снижение фагоцитарной активности, а также угнетение ловушкообразующей способности. Новыми являются данные, демонстрирующие особенности ловушкообразующей способности тканевых макрофагов и моноцитов периферической крови крыс в различные сроки постнатального периода. Установлено угнетение ловушкообразующей способности макрофагов различных компартментов потомства самок крыс с экспериментальным лекарственным поражением печени. Установлено угнетение стрессрезистентности клеточных элементов неспецифической резистентности у потомства самок крыс с лекарственно-индуцированной патологией печени.

Теоретическая и практическая значимость работы

Экспериментальное исследование носит фундаментальный характер. Его результаты позволяют расширить знания о механизмах, лежащих в основе нарушения неспецифической резистентности у потомства, рожденного от матерей с лекарственным поражением печени. Полученные результаты содержат новые данные о влиянии патологии гепатобилиарной системы матери лекарственной этиологии на адгезивную, поглотительную способность, метаболическую, киллинговую активность макрофагов потомства. Полученные результаты

расширяют представления о ловушкообразующей способности тканевых макрофагов и моноцитов периферической крови.

Полученные результаты могут быть учтены при разработке мер профилактики нарушений неспецифической резистентности у детей от матерей с лекарственной патологией гепатобилиарной системы.

Результаты исследования используются в научно-исследовательской деятельности и в учебном процессе курса гистологии, эмбриологии и цитологии биологического факультета ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный университет» в дисциплинах: «Методы исследования крови» (бакалавриат), «Патофизиология» (бакалавриат), «Современные аспекты культивирования клеток и тканей» (магистратура), «Биология развития человека» (бакалавриат, магистратура).

Положения, выносимые на защиту

1. Экспериментальная патология печени самок крыс, обусловленная введением тетрациклина и парацетамола, является существенным фактором риска, неблагоприятно влияющим на антенатальное и постнатальное морфофункциональное состояние клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов потомства.
2. Лекарственное поражение гепатобилиарной системы самок крыс обусловливает нарушение ловушкообразующей способности макрофагов различных компартментов и моноцитов периферической крови потомства.
3. Поражение гепатобилиарной системы матери лекарственного генеза вызывает нарушение стрессрезистентности моноцитов периферической крови и тканевых макрофагов различных компартментов половозрелого потомства.

Апробация материалов работы

Материалы конференции были представлены на III Международной (X Итоговой) научно-практической конференции молодых ученых (Челябинск, 2012), на второй всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Физиологические механизмы адаптации и экология человека» (Тюмень, 2012), на всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы лабораторной диагностики и биотехнологии» (Кемерово, 2012), на IV Международной (XI Итоговой) научно-практической конференции молодых ученых (Челябинск, 2013), на региональной научно-практической конференции «Основные достижения научных школ ЮУГМУ» (Челябинск, 2014).

Публикации: По теме диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 3 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 235 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 435 источников, в том числе 134 работы зарубежных авторов. Диссертация содержит 20 таблиц, 111 рисунков, из которых 41 микрофотография.

ГЛАВА I ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Значение лекарственных препаратов в нарушении функционирования основных систем жизнеобеспечения

Увеличивающееся в настоящее время многообразие на рынке фармацевтической и медицинской продукции лекарственных препаратов является закономерным следствием все возрастающего числа нозологических форм и направлено на полноценное выздоровление и сохранение жизни. Однако за полезными фармакодинамическими свойствами лекарственных средств нередко стоят свойства, совершенно иные, негативно отражающиеся на состоянии макроорганизма, выходящие за рамки терапевтических эффектов и называемые побочными реакциями.

Известно, что побочные реакции возникают при приеме любых фармакологических препаратов (Кляритская И.Л., 2011). Согласно классификации, основанной на патогенетическом аспекте, выделяют токсическое, то есть резко усиленное основное действие, связанное с превышением дозирования препарата, которое может быть абсолютным (связано с кумуляцией токсического вещества) и относительным (замедленная инактивация и снижение функции органов выделения), а также специфическое действие, связанное с особенностями химического строения, фармакокинетики и фармакодинамики (привыкание, синдром отмены, тератогенное и мутагенное действие) и неспецифическое действие, связанное с индивидуальными особенностями организма - идиосинкразия, лекарственная болезнь (Давыдов В.Ф., 1980).

Именно лекарственная болезнь, выделенная в отдельную нозологическую единицу (Тареев Е.М., 1975) и подразумевающая под собой неспецифическую иммунологическую реакцию организма как совокупность системных лекарственно-индуцированных повреждений внутренних органов, имеющая

стадийное течение, схожее с любым аллергическим процессом (Кудрин А.Н., 1985), в настоящее время приобретает все большее значение (Косарев В.В., 2012). Исходя из этиологической классификации, основной группой медикаментозных средств, вызывающих развитие лекарственной болезни, являются пенициллин и его производные (25,8%), анальгин (15,7%), новокаин (13,2%), амидопирин (10,5%), а также аспирин, антигистаминные и кортикостероидные средства (Солошенко Э.Н., 2002). Существуют определенные группы риска, у которых высока вероятность развития лекарственной болезни. Так, например, показано, что у лиц с низкой активностью ацетилтрансферазы печени создаются активные предпосылки для развития сенсибилизации организма (Новиков Д.К., 1991), а у лиц с указанием в анамнезе на наличие хронических соматических заболеваний, очагов хронической инфекции, а также осложнений после введения вакцин и сывороток наблюдается повышенная «готовность» к развитию лекарственной болезни (Солошенко Э.Н., 2002).

Являясь гаптеном при попадании в организм, лекарственный препарат быстро преобразуется в классический антиген, на который клетки гуморального иммунитета незамедлительно отвечают образованием антител и сенсибилизированных лимфоцитов, завершая первую, иммунологическую стадию лекарственной болезни. Следующим событием, соответствующим патохимической стадии, является опосредованная повторным попаданием аллергена, IgE – зависимая дегрануляция, в основе которой лежит активация процессов фосфорилирования белков с разобщением содержания цАМФ и цГМФ, повышением концентрации внутриклеточных ионов кальция и выбросом высокоактивных медиаторов во внеклеточное пространство (Солошенко Э.Н., 2002; 2012). И, наконец, при наступлении третьей, патофизиологической стадии лекарственной болезни, наблюдается весь спектр разнообразных клинических проявлений. При развитии лекарственной болезни в патологический процесс вовлекаются все системы организма, несмотря на то, что клинически она выражается преимущественно в поражении одной системы (Солошенко Э.Н.,

2002). При этом имеются особо уязвимые органокомплексы, явно испытывающие на себе негативные последствия фармакотерапии, проявляющиеся разнообразными клиническими синдромами. По мнению Овчинниковой Е.А. (2002), более чем у 80% пациентов в результате лекарственной терапии наблюдается синдром Лайелла – токсический эпидермальный некролиз.

Около 10-15% случаев лекарственной болезни приходится на систему органов дыхания (Попова Е.Н., 2007; Косарев В.В., 2012; Постников С.С., 2013; Camus P., 2004; Özkan M., 2001). Среди медикаментозных средств, которые могут послужить этиологическим фактором в развитии лекарственного поражения легких, по данным литературы, выделяют более 300 наименований (Tomioka H., 1997; Vasoo S., 2006), а именно химиотерапевтические и кардиотропные препараты, β – адреноблокаторы, антибиотики – изониазид, стрептомицин, тетрациклин (Попова Е.Н., 2007), нестероидные противовоспалительные препараты, ацетилсалициловая кислота (Косарев В.В., 2012). В основе патогенеза пневмотоксичности лекарственных препаратов лежат гиперчувствительность с активацией воспалительных и иммунных клеток, часто сопровождающаяся системными проявлениями (Корнев Б.М., 1993; Постников С.С., 2013) или прямое дозозависимое повреждение структур, обеспечивающих газообменную функцию легких. При этом в механизмах воздействия лекарств на легочную ткань большое значение придается свободнорадикальному повреждению, оксидативному стрессу (Попова Е.Н., 2007), снижению секреторной активности легочных макрофагов, а также ингибированию ферментов, что ведет к формированию воспаления и фиброзирования легочной ткани (Попова Е.Н., 2005; Постников С.С., 2013). Говоря о медикаментозном поражении верхних дыхательных путей, следует отметить, что наиболее распространенной формой является аллергический ринит (Драник Г.Н., 2003; Пухлик Б.М., 2008). В составе изменений нижних дыхательных путей преобладают бронхоспазм и бронхиальная астма, а также облитерирующий бронхиолит, аллергический и фиброзирующий альвеолит и пневмонит (Косарев В.В., 2012; Постников С.С., 2013). При этом для каждого

варианта медикаментозной патологии легких характерен свой этиологический фактор и патогенетический механизм развития. Например, при лекарственной бронхиальной астме, вызванной приемом ацетилцистеина, может наблюдаться прямое раздражение дыхательных путей, при приеме карбамазепина – преципитация IgG-антител (Leader W.G., 2010), амиодарона - развитие фосфолипидоза с формированием «амиодаронового легкого» (Попова Е.Н., 2007).

Следует отметить, что точками приложения лекарственной болезни помимо пневмотоксичности, является еще нефротоксичность. Согласно данным литературы, порядка 30% случаев неолигурической острой почечной недостаточности связаны с приемом лекарственных средств (Bennet W.M., 1994).

Основным патогенетическим механизмом развития лекарственных нефропатий служит прямое токсическое действие лекарственного средства на эпителий почечных канальцев (Лозинский Е.Ю., 2005; Loh A., 2009), приводящее к развитию острых состояний. Существует несколько форм лекарственных поражений почек (Тареева Е.И., 2000), среди которых выделяют острые (острый канальцевый некроз, острый ишемический некроз коры с клиникой острой почечной недостаточности, острый интерстициальный нефрит) и хронические нефропатии (хронический интерстициальный нефрит (Zollinger H., 1978), хронический гломерулонефрит), а также нарушения гемодинамики и электролитного гомеостаза (Singh N.P., 2003).

Однако, несмотря на все многообразие систем, вовлекающихся в патологический процесс при лекарственной болезни, все же большая часть их приходится на долю лекарственных поражений печени (Онучина Е.В., 2007; Белоусов Ю.Б., 2011; Галимова С.Ф., 2011; Постников С.С., 2012; Сизоненко М.Л., 2012; Сизоненко М.Л., 2013; Martinez-Chanter M.L., 2002; Vaquero J., 2003; Lewis J.N., 2005), поскольку именно в этом органе происходит основной метаболизм ксенобиотиков (Оковитый С.В., 2006).

Триггерными факторами в развитии лекарственных гепатопатий считаются различные генетические и негенетические критерии, взаимодействующие между

собой и усугубляющие их течение (Бабак О.Я., 2007; Ильченко Л.Ю., 2013; Zhang W., 1999, Lucena M.I., 2009). Генетическими критериями развития гепатотоксичности считают количественный уровень гена NAT 2 (ариламин-N-ацетилтрансфераза), от которого зависит скорость реакций ацетилирования (Ильченко Л.Ю., 2013), и снижение которой увеличивает риск поражения печени (Брускина С.А., 2008; Суханова Д.С., 2010), а также генетически низкое содержание цитохрома P4502D6, и как следствие, повышение токсичности лекарственных препаратов, метаболизирующихся с его помощью, например, пропранолола, хинидина (Пентюк А.А., 2001).

Среди негенетических факторов выделяют гендерную принадлежность, например, у женщин, особенно в период менструации или беременности, риск развития лекарственных гепатопатий выше (Белоусов Ю.Б., 2011; Еремина Е.Ю., 2012); возраст старше 50 лет вследствие снижения ферментного поля гепатоцитов, нарушения метаболизма лекарственных препаратов; нутритивный статус – недостаточное поступление в организм белка с последующей гипоальбуминемией изменяет фармакокинетику медикаментозного средства. Кроме того, большое значение придается сопутствующим заболеваниям, таким как сердечно-сосудистая, дыхательная, почечная недостаточность, патология эндокринной системы, вирусные гепатиты, ведущие к повышенной нагрузке на гепатобилиарную систему. Однако недавно установлено, что фоновые заболевания печени имеют небольшое значение в развитии токсических гепатопатий (DeSanty K.P., 2007). Еще одну группу факторов составляют критерии, обусловленные особенностями самого лекарственного препарата – его химического состава, разовой и суточной дозы, длительности приема и лекарственного взаимодействия при полипрагмазии. Так, при приеме более 6 лекарств одновременно риск развития токсических реакций со стороны печени увеличивается до 80% (Полунина Т.Е., 2005; Еремина Е.Ю., 2012). Особенно склонны вызывать лекарственные гепатопатии интенсивно метаболизирующиеся в печени лекарственные средства, имеющие высокий печеночный клиренс –

парацетамол, комбинированные оральные контрацептивы, антиконвульсанты, анаболические стероиды (Постников С.С., 2012). Однако, по мнению ряда авторов, не существует такого лекарственного препарата, который при определенных условиях не вызывал бы повреждения печени (Полунина Т.Е., 1994; Кляритская И.Л., 2011; Bogic M., 1997).

Согласно данным Змушко Е.И. (2001), выделяют несколько групп лекарственных препаратов, отличающихся механизмами воздействия на гепатобилиарную систему. Так, они включают средства, вызывающие реакции антиген-антитело (аминазин); средства, накапливающиеся в митохондриях и блокирующие ферментную систему гепатоцитов (тетрациклин); препараты, вызывающие нарушение билиарной экскреции (холецистографические средства) и нарушения, подобные таковым при вирусных гепатитах (изониазид, сульфаниламиды, оксациллин). Однако наиболее часто лекарственно-индуцированные поражения печени связывают с приемом антимикробных, нестероидных противовоспалительных (Кляритская И.Л., 2011; Chang C.Y., 2007; Lucena M.I., 2008) и туберкулостатических препаратов (Змушко Е.И., 2001). К группе препаратов, вызывающих развитие хронических гепатопатий относят также ацетаминофен, изониазид, метилдопу, нитрофураны, сульфаниламиды и этиловый спирт (Лопаткина Т.Н, 2003). Кроме того, в перечень медикаментозных средств, инициирующих развитие гепатотоксических реакций, входят антидепрессанты, противоязвенные, противодиабетические, тиреостатические и гормональные препараты (Полунина Т.Е., 2005). Имеются данные о неблагоприятном воздействии на печень препаратов растительного происхождения – солодки, чистотела, окопника, дубровника, препаратов для снижения веса (Teschke R., 2011), биологически активных добавок, способных вызывать лекарственные реакции вплоть до летального исхода (Petronijevic M., 2011).

В то же время, причиной развития лекарственной болезни может служить не сам медикаментозный препарат, а его взаимодействие с веществами,

принимаемыми с пищей (Белоусов Ю.Б., 2002). Так, например, грейпфрутовый сок оказывает влияние на активность цитохрома Р450 (Ушакова Е.А., 2001), а у больных, принимающих ингибиторы моноаминооксидазы, продукты с высоким содержанием тирамина могут вызывать артериальную гипертензию (Tardo D.S., 1999).

Несмотря на данное явление, все-таки основным этиологическим фактором развития побочных реакций считается прямое воздействие лекарственных препаратов и их метаболитов. При этом в физиологических условиях основной системой, участвующей в нейтрализации лекарств и их метаболитов является система цитохромов и монооксигеназ, расположенная в агранулярной эндоплазматической сети. У человека в реализации метаболизма ксенобиотиков участвуют цитохромы Р450-I, Р450-II, Р450-III (Strauch S., 1998), которые метаболизируют липофильные химические соединения в гидрофильные, осуществляя биотрансформацию лекарства, при этом один цитохром может служить катализатором для нескольких лекарственных веществ, благодаря чему формируются условия для их взаимодействия в организме (Ивашкин В.Т., 1999).

В результате окисления медикаментозного средства образуются его активные промежуточные метаболиты, которым, в некоторых случаях, и свойственны основные терапевтические эффекты препарата. На следующем этапе метаболиты подвергаются процессу конъюгации с различными эндогенными молекулами (ацетилом, глутатионом, сульфатами, глюкуронидом) с последующим образованием из липофильных молекул нетоксичных гидрофильных веществ и выведением их с желчью и мочой (Буеверов О.А., 2002; Полунина Т.Е., 2005; Полунина Т.Е., 2006; Бабак О.Я., 2007; Ключарева А.А., 2007; Шульпекова Ю.О., 2007; Щекатихина А.С., 2009; Галимова С.Ф., 2011). Помимо нетоксичных водорастворимых соединений возможно образование химически нестабильных веществ, ведущих к развитию в печени адаптационных изменений, целью которых является предотвращение патологических воздействий.

Так, признаками начинающейся лекарственно-индуцированной гепатопатии служат гиперплазия агранулярной эндоплазматической сети, способствующая появлению матово-стекловидных гепатоцитов, изменение размеров и количества ядер, накопление липофусциновых зерен (Серов В.В., 1989), а на следующем этапе начинается угнетение процессов адаптации и возникновение новых реакций - расщепление связей между молекулами белка, нарушение активности аппарата цитоскелета, что, в свою очередь, ведет к снижению функционального резерва внутриклеточного транспорта и пролиферации клеток, фрагментации ДНК и запуску апоптоза (Guengerich F.P., 2001; William M. Lee, 2003).

Согласно литературным данным (Логинов А.С., 1985; Подымова С.Д., 1993; Железнякова Н.М., 2007; Шульпекова Ю.О., 2007; Щекатихина А.С., 2009; Еремина Е.Ю., 2012; Ильченко Л.Ю., 2013; Marschall H.U., 2007; Polson J.E., 2007), в процессе этих реакций лекарственные препараты могут выступать как истинные гепатотоксины (тетрациклин, парацетамол, анаболические стероиды), вызывающие облигатные дозозависимые цитотоксические или холестатические реакции, и гепатотоксины реакций идиосинкразии (препараты фенотиазинового ряда, противотуберкулезные препараты), вызывающие дозонезависимые факультативные реакции. Причем имеются четкие различия в двух типах реакций, основывающиеся на особенностях этиологического, патогенетического и морфологического характера. Так, если при облигатных реакциях наблюдается прямая зависимость дистрофических и некротических изменений гепатоцитов и степени повреждения печени от дозы вводимого лекарства, то при факультативных реакциях эта зависимость отсутствует. Только дозозависимые реакции легко моделируются экспериментально.

Однако существует мнение (Chalasani N., 2010), что ряд лекарственных препаратов может вызывать и дозозависимые идиосинкразические реакции, например, при приеме нестероидных противовоспалительных и антибактериальных препаратов. Анализируя механизмы патогенеза токсических дозозависимых реакций, следует отметить, что они всегда возникают при

незавершенности или нарушении процессов биотрансформации лекарства, приводящих к появлению промежуточных или конечных метаболитов, обладающих токсигенными свойствами и повреждающих гепатоциты путем интерференции с различными процессами обмена веществ (Ильченко Л.Ю., 2013). В патогенезе идиосинкразии же, напротив, на первый план выходит генетическая детерминированность (Chalasani N., 2008; Lucena M.I., 2008; Kashimshetty R., 2009), когда вещество или его метаболиты связываются с белковыми молекулами и выполняют функцию антигена (Постников С.С., 2012), отсутствует связь с процессами биотрансформации.

Наиболее ранним признаком запуска повреждающих механизмов гепатотоксичности служит нарушение внутриклеточного ионного гомеостаза, проявлением которого является повышение концентрации ионов кальция в гиалоплазме гепатоцитов вследствие выхода его из внутриклеточного депо с последующей активацией фосфолипазы и потеря ионов калия (Шулутко Б.И., 1995; Оковитый С.В., 2006). По данным Железняковой Н.М. (2007), при лекарственных гепатопатиях происходит повреждение внутриклеточных белков, участвующих в поддержании ионного гомеостаза, чрезмерное накопление кальция, который способствует «рассеиванию» компонентов цитоскелета, набуханию и разрывам мембран гепатоцитов и, в конечном счете, их лизису (Jaesbke H., 2002). Однако, по данным Бабак О.Я. (2008), при лекарственных гепатитах концентрация ионов кальция в интрацеллюлярном матриксе гепатоцитов резко снижается, запуская запрограммированную или патологическую гибель клеток.

Наряду с утратой внутрицитоплазматического ионного гомеостаза и повреждения плазматической мембраны и компонентов цитоскелета, большая роль отводится дисфункции энергетического аппарата гепатоцитов. Так, митохондриальная дисфункция является определяющей в реакциях гепатотоксичности (Ключарева А.А., 2007, Hoofnagle J.H., 2004) и приводит к угнетению ферментов дыхательной цепи, нарушению окислительного

фосфорилирования, появлению свободнорадикальных продуктов и развитию микровезикулярного стеатоза, а также к активации апоптотической активности гепатоцитов вследствие митохондриального высвобождения цитохрома С, активирующего фактор активации протеаз и каспазу 9 (Железнякова Н.М., 2007). Данный процесс сопровождается развитием гипогликемии, полинейропатии, гипераммониемии и лактатацидоза (Marti A.L., 2005; Navarro V.J., 2006).

Отдельную группу лекарственно-индуцированных реакций печени составляют иммуноопосредованные (иммуноаллергические) реакции, связанные с активацией Т-клеточного иммунного ответа по типу реакций гиперчувствительности замедленного типа (Holt M.P., 2006), ведущих к развитию гранулематозного поражения печени (Еремина Е.Ю., 2012). Так, при попадании в организм некоторых лекарственных препаратов, одни из них, в силу своей химической организации, стимулируют антителопродукцию, а другие – получают свойства полноценных антигенов, связываясь с белками печени (Змушко Е.И., 2001). В результате этих преобразований запускается механизм взаимодействия клеток иммунной системы с клетками-мишенями. Сенсибилизированные при взаимодействии с ними Т-лимфоциты запускают цитотоксические реакции, выделяют биологически активные цитотоксические соединения (Оковитый С.В., 2006) с образованием антиядерных и антимикросомальных антител, обнаружение которых в гиалоплазме и ядре гепатоцитов и эпителия желчных путей (Змушко Е.И., 2001) подтверждает наличие аутоиммунного компонента в развитии лекарственных гепатопатий. Данный процесс, несомненно, может напоминать аутоиммунный гепатит, однако носит обратимый характер и исчезает после отмены лекарственного препарата (Liu Z.X., 2002).

В связи с тем, что морфологическая картина печени при патологическом воздействии медикаментов отличается большим полиморфизмом (Пентюк А.А., 2001), нет единой классификации, отражающей изменения гепатоцитов. Согласно исследованиям Шерлока Ш. (1999), Ивашкина В.Т. (2005), выделяют несколько морфологических форм лекарственно-индуцированных гепатопатий,

включающих некроз области центральной вены, фиброз, сосудистые повреждения печени, острый и хронический гепатит, канальцевый и паренхиматозно-канальцевый холестаз, а также склерозирующий холангит, билиарный сладж и лекарственно-индуцированные новообразования печени. По данным Постникова С.С. (2012), лекарственные поражения печени включают гепатоцеллюлярный, холестатический, смешанный, васкулярный, неопластический варианты изменений клеток печени, а также накопление в них жирных кислот, ведущее к развитию стеатогепатита. По данным Серова В.В. (1989), характерные изменения печени лекарственного генеза включают жировую дистрофию, очаговый колликвационный центролобулярный некроз, эозинофильный инфильтрат, неспецифические гранулемы, а также холестаз, поражение желчных ходов и пелиоз.

Согласно литературным данным (Ивашкин В.Т., 1999; Бабак О.Я., 2007), имеются некоторые закономерности развития гистологических изменений в печени, отражающие морфологическую и функциональную неоднородность данного органа. Так, чаще всего некротические изменения захватывают именно центролобулярную зону, локализующуюся вокруг центральной вены и включающую в себя перивенозные гепатоциты, поскольку именно в этой зоне происходят наиболее выраженные реакции окисления ксенобиотиков, а также содержится наибольшая концентрация цитохрома Р450, в то же время наблюдается относительное снижение количества ферментов антиоксидантной системы, ведущих к проявлениям гепатотоксичности (Пентюк А.А, 2001).

Классическими гепатотоксинами с центролобулярной локализацией некрозов гепатоцитов, являются, согласно данным литературы, хлороформ, галотан (Lee V.M., 1998; Lewis J.N., 1999), четыреххлористый углерод, а также парацетамол (Ивашкин В.Т., 1999; Бабак О.Я., 2008; Демидов В.И., 2011; Удут В.В., 2012; Jaeschke H., 2006; Ghosh A., 2009). В частности, парацетамол – лекарственный препарат, относящийся к классу нестероидных противовоспалительных средств (Машковский М.Д., 2002), помимо его

антипиретического и анальгетического действия, выявлен протективный эффект в отношении атеросклероза, болезни Альцгеймера, катаракты (Бурчинский С.Г., 2000). Кроме того, имеет место его иммуномодулирующее действие (Фрейдлин И.С., 2006). Однако при превышении терапевтической дозы его активные метаболиты N-ацетил-пара-бензохинонимин (NAPQI) и n-аминофенол вызывают дозозависимый некроз гепатоцитов (Nelson S.D., 1995; Cohen S.D., 1997; Sturgill M.G., 1997) в результате дефицита клеточного глутатиона и нарушения окислительного фосфорилирования в митохондриях (Кобляков В.А., 1987; Буеверов А.О., 2002). Данный факт объясняется угнетением реакций цикла арахидоновой кислоты и попаданием активных форм кислорода в цитоплазму гепатоцита, что ведет к повышению активности аланинтрансферазы, концентрации нитритов и активации синтеза оксида азота (Хирц Ж., 1975).

В результате активации перекисного окисления липидов токсические агенты начинают взаимодействовать с кальцийтранслоказами, приводя к накоплению цитоплазматического кальция и гибели гепатоцитов (Holmes John A., 1986). Токсическая доза ацетаминофена составляет 10-20г, а при сочетании приема с алкоголем уменьшается до 5-10г. Помимо гепатотропного воздействия метаболиты парацетамола обладают еще и кардиотоксическим действием (Буеверов А.О., 2002), а также беспрепятственно проникают через гемато-энцефалический барьер и накапливаются в тканях головного мозга. В крови обнаруживаются тельца Гейнза, позволяющие судить о развитии метгемоглобинемии.

Поражение перипортальной зоны обусловлено реакциями гиперчувствительности, развивающейся при приеме лекарственных средств, например, используемых для лечения эпилепсии (DeSanty K.P., 2007). Патологическое накопление триглицеридов в гепатоцитах, занимающее более 5% от массы печени, очень часто ведет к развитию макро - или микровезикулярного стеатоза, считающегося опасным видом лекарственного поражения печени (Серов В.В., 1989; Бабак О.Я., 2008; Павлов Ч.С., 2010; Zimmerman H.J., 1993; Lamert F.,

1997; Pessayre D., 1999; Hegedus G., 2000). Этому процессу способствуют снижение скорости митохондриального окисления свободных жирных кислот или усиление их синтеза. Этиологическим фактором развития макровезикулярного стеатоза служит хроническая этаноловая интоксикация, ведущая к активации перекисного окисления липидов, продукции свободных радикалов с развитием окислительного стресса (Подымова С.Д., 2005; Павлов Ч.С., 2010), при этом в цитоплазме гепатоцитов появляются крупные липидные вакуоли, смещающие ядро к периферии.

При микровезикулярном стеатозе вакуоли мелкие, локализация ядра не меняется (Серов В.В., 1989; Бабак О.Я., 2008; Lammert F., 1997). Триггерными факторами служат лекарственные препараты, такие как амиодарон, изониазид, аспирин, тетрациклины, синтетические эстрогены, тиклопидин (Pessayre D., 1999; Remy A.J., 1999). Так, например, тетрациклин относится к средствам с прямым повреждающим действием на печень, при введении его в больших дозах развивается картина мелкоклеточного ожирения печени (Лопаткина Т.Н., 2003) с преобладанием синдрома холестаза (Катикова О.Ю., 2002; Schentko K.U., 1995). Основным патогенетическим механизмом фармакологического действия тетрациклинов является угнетение синтеза транспортных белков в клетках, вследствие чего нарушаются процессы выведения липидов из гепатоцита, что влечет за собой развитие жировой дистрофии (Шерлок Н., 1999).

Лекарственные воздействия на печень сопровождаются не только повреждением гепатоцитов, но и других морфологических структур (Пентюк А.А., 2001). Так, при лекарственном поражении эндотелия синусоидных капилляров развивается венооклюзионная болезнь, сопровождающаяся развитием венозных тромбозов, нарушением кровообращения печени, развитием цирротических изменений с последующей печеночной недостаточностью (Faioni E., 1997; Zafrani E.S., 1997; Bearman S.I., 2000). При нарушении секреции желчи гепатоцитами, обструкции желчных протоков, возникает острый или хронический холестаз, связанный с накоплением в крови веществ, в физиологических условиях

экскретируемых в желчь (Логинов А.С., 1985; Шулутко Б.И., 1995; Erlinger S., 1997; Michael S.L., 1999), морфологическим субстратом которого служат нарушение транспортных систем гепатоцитов, в том числе Na- и K-АТФазы, компонентов цитоскелета, неустойчивость концентрации ионов кальция и повышение проницаемости клеток с выходом желчных кислот в плазму, ведущих, в конечном счете, к накоплению в крови прямого билирубина и щелочной фосфатазы (Логинов А.С., 1985; Stuart R.L., 1999), а при каналикулярном холестазе – нарушение оттока желчи из внутрипеченочных желчных ходов с депонированием ее компонентов в холангиолах и клетках Купфера, а также в гепатоцитах (Логинов А.С., 1985; Подымова С.Д., 1993; Шулутко Б.И., 1995), которое может приводить к появлению отложения липидных включений в макрофагах и развитию ксантоматоза (Логинов А.С., 1985).

Согласно многочисленным данным (Серов В.В., 1989; Шулутко Б.И., 1995; Пентюк А.А., 2001; Еремина Е.Ю., 2012; Zimmerman H., 1979; Neuberger J., 1981) еще одним видом морфологических изменений при гепатопатиях являются лекарственные неоплазии, составляющие особую нозологическую группу, в составе которой преобладают гепатоцеллюлярные аденомы (Серов В.В., 1989). Чаще всего их инициирующим агентом является прием пероральных контрацептивов, а использование их более 5 лет повышает риск новообразований печени в 116 раз (Еремина Е.Ю., 2012).

Изучению гепатопатий и их морфологических проявлений придается большое значение, однако эти исследования не в полной мере отражают проблему лекарственных гепатитов у беременных. Формально любое лекарственное средство, применяемое у беременных, несет потенциальную угрозу для печени (Стриженок Е.А., 2007; Ушкалова Е.А., 2012; Радзинский В.Е., 2013).

Международные исследования различных стран показали, что лекарственные средства получают 75-86 % беременных (Радзинский В.Е., 2011), а по данным Елисеевой Е.В. (2008), у 703 обследованных беременных более 41% назначенных им медикаментозных препаратов представляли потенциальную

угрозу для развития плода, только 3,75% средств считались безопасными. Особое значение имеет тот факт, что лекарственные средства, поступающие в организм беременной женщины, могут оказывать на плод прямое действие, проникая через гемато-плацентарный барьер и вызывая развитие тератогенных эффектов. При этом трансплацентарный переход лекарственных препаратов определяется различными факторами – градиентом концентрации препарата в крови матери и плода, химическими свойствами самого препарата – его молекулярной массой, степенью его липофильности, степенью диссоциации и взаимодействия с плазменными белками (Кирющенков А.П., 1990).

Еще одним путем проникновения лекарственных средств в организм плода является параплацентарный, включающий аспирацию и заглатывание околоплодной жидкости, содержащей лекарственное средство. Однако побочные действия фармакотерапевтических средств вызывают лекарственные реакции не только в организме плода, но и в экстрагенитальных системах организма матери, в частности, гепатобилиарной. На долю хронических воспалительных заболеваний печени и желчевыводящих путей у беременных приходится около 9,2% в структуре общей заболеваемости. Так Ереминой Е.Ю. и соавт. (2013) были исследованы лекарственные поражения печени у беременных, наблюдающихся в ГБУЗ «Мордовский республиканский клинический перинатальный центр». В период наблюдения с 2009 по 2011г было зарегистрировано 22 случая острого лекарственного гепатита, за 2012г – 23 случая различных вариантов лекарственного поражения печени, причем у 7 беременных возникла необходимость прерывания беременности или досрочного родоразрешения. При этом основной причиной развития лекарственных гепатитов у беременных считаются гормональные препараты (Еремина Е.Ю., 2011), использующиеся для экстракорпорального оплодотворения (эстрогены, комбинированные препараты) или при угрозе прерывания беременности (препараты прогестерона) и вызывающие задержку выведения желчи, тем самым только усиливая токсическое действие лекарства (Marschall H.U., 2007), а также спазмолитики (Стриженок

Е.А., 2007), поливитаминно-минеральные комплексы, препараты железа, кальция (Радзинский В.Е., 2011; Ушкалова Е.А., 2011; Еремина Е.Ю., 2013).

В основе патогенеза лекарственных гепатопатий у беременных лежит несколько механизмов, среди которых можно выделить нарушение фармакокинетики лекарственных препаратов вследствие развития гипоальбуминемии, связанной с эффектом «разведения», повышенной нагрузки на печень, развития предрасположенности к холестазу, образования дополнительного плацентарного круга кровообращения (Еремина Е.Ю., 2011). Среди различных видов лекарственных гепатопатий во время беременности чаще всего обнаруживаются лекарственные гепатиты, однако возможно развитие и специфических изменений печени – гестоза, острого жирового гепатоза беременных, внутрипеченочного холестаза беременных (Еремина Е.Ю., 2013; Bjornsson E., 2005).

Таким образом, несмотря на то, что не существует лекарственных средств, которые в определенных условиях не вызывали бы повреждения печени (Полунина Т.Е., 1994; Кляритская И.Л., 2011; Bogic M., 1997), роль лекарственного поражения печени в нарушении становления неспецифической резистентности потомства изучена недостаточно.

ГЛАВА II МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика экспериментальных животных

Экспериментальное исследование было выполнено на белых лабораторных крысах-самках «Вистар» и их потомстве в различные сроки постнатального онтогенеза – на 1-ый, 15-ый, 30-ый, 45-ый и 60-ый день жизни. Сроки проведения эксперимента были выбраны с учетом общепризнанного подразделения возрастных периодов у крыс. Так, 1-5 день жизни соответствует периоду новорожденности, 6-21 день – подсосному периоду, 22-50 день – периоду становления половой зрелости, и, наконец, с 60 дня – период половой зрелости (Западнюк И.П. с соавт., 1983).

Таблица 1 – Количественное распределение экспериментальных животных по группам в различные периоды постнатального онтогенеза

Возраст животных в сутках / Экспериментальные группы	Количество животных, n		
	Контрольная группа	Опытная группа 1	Опытная группа 2
1 сутки	11	9	8
15 сутки	14	11	13
30 сутки	15	11	12
45 сутки	18	13	14
60 сутки	18	13	15
Итого	76	57	62

Работа с экспериментальными животными проводилась в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием лабораторных животных», утвержденными приказом МЗ СССР №755 от 12.08.77.

Исследования проводились с учетом суточных и сезонных колебаний. Животные всех исследуемых групп содержались в виварии в одинаковых условиях, в частности, с одинаковым пищевым и водным рационом, при естественном освещении.

Все исследуемые животные были разделены на 3 группы. Первую группу составили интактные животные - «контрольная группа» (К – 76 животных из 25 пометов), вторую - животные с лекарственным поражением печени, вызванным введением парацетамола - «опытная группа 1» (О1 – 57 животных из 16 пометов), третью – животные с лекарственным поражением печени, вызванным введением тетрациклина – «опытная группа 2» (О2 – 62 животных из 19 пометов).

2.2. Экспериментальные модели лекарственного поражения печени

Для достижения поставленной цели исследования у подопытных животных моделировалось лекарственное поражение печени различного генеза.

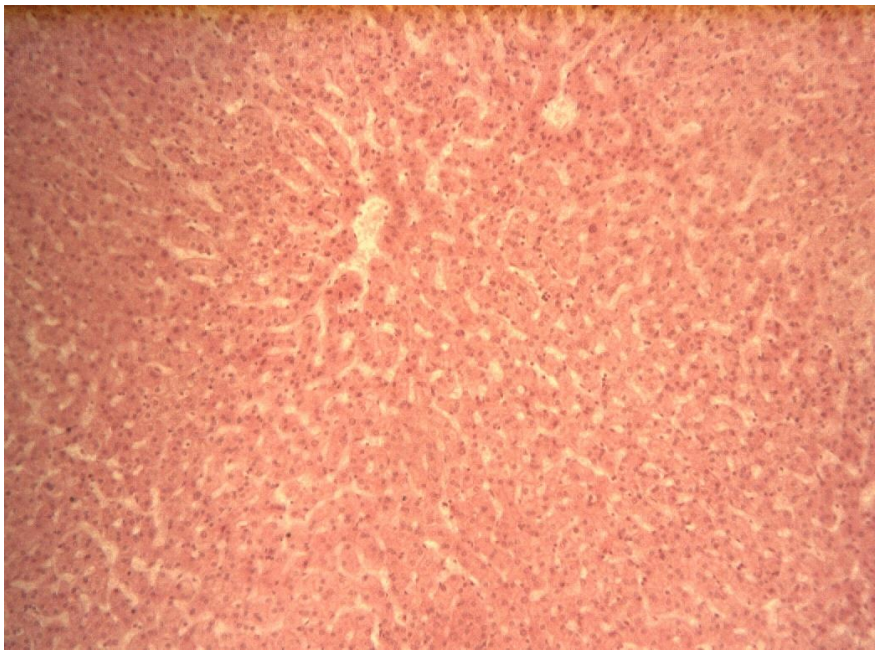

Рисунок 1 – Печень интактной половозрелой крысы. Окраска: гематоксилин и эозин. Микрофото. Ув. 100 (об. ×10; ок. ×10).

2.2.1. Модель лекарственно-индуцированного гепатита, вызванного введением парацетамола

Вследствие повышенной распространенности лекарственных гепатитов, а также широкого использования парацетамол-содержащих препаратов, нами была изучена экспериментальная модель парацетамольной гепатопатии.

Данная методика развития лекарственно-индуцированного гепатита обеспечивает быструю реакцию со стороны печени (Венгеровский А.И. с соавт., 2005).

Методика развития экспериментального лекарственно-индуцированного гепатита была связана с двукратным интрагастральным введением половозрелым самкам крыс парацетамола УБФ (ОАО «Уралбиофарм», Россия), в дозе 2,5 г на кг массы тела животного на 1% крахмальном клейстере. Через 10 суток к самкам подсаживали интактных самцов для получения потомства (Венгеровский А.И., 2005).

Печень крыс с экспериментальным лекарственным поражением печени, вызванным введением парацетамола, подвергали стандартному гистологическому исследованию с приготовлением гистологических срезов органа и окраской их гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. Поражение печени верифицировали с помощью морфологических (центролобулярные некрозы печеночных долек, периваскулярная гиперплазия и гипертрофия купферовских клеток, расширение синусоидных капилляров, лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов, увеличение количества двуядерных и полиплоидных гепатоцитов) (рисунок 2, 3), биохимических (повышение активности ферментов АлАТ, АсАТ, ЛДГ, повышение свободного билирубина) и иммунологических (повышение титра противопеченочных антител 1:280, 1:560) критериев. При этом печеночные пробы оказались существенно измененными при лекарственном поражении печени.

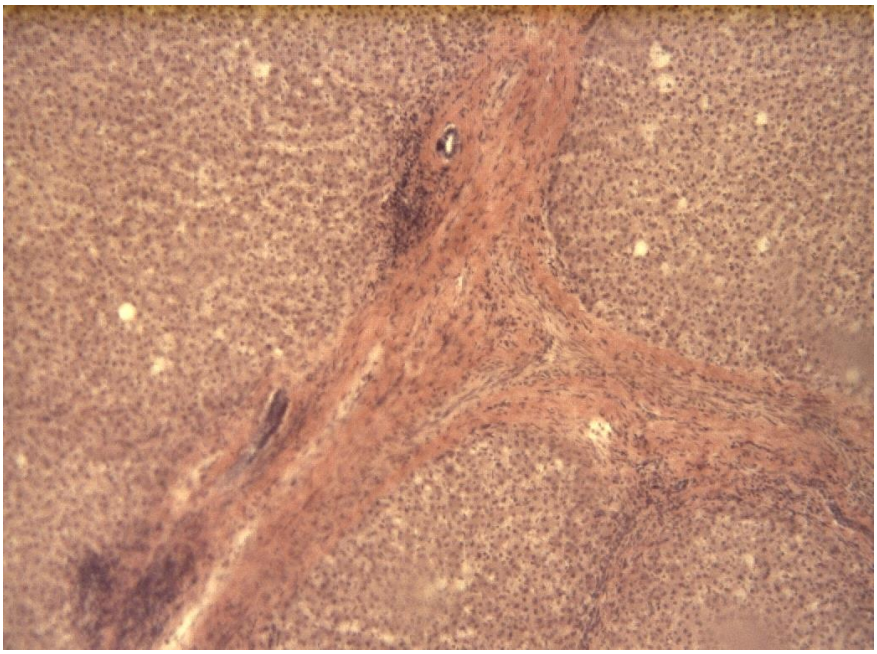

Рисунок 2 – Печень половозрелой крысы с экспериментальным лекарственно - индуцированным гепатитом, вызванным введением парацетамола. Наблюдается разрастание междольковой соединительной ткани. Окраска: гематоксилин и эозин. Микрофото. Ув. 100 (об.×10; ок.×10).

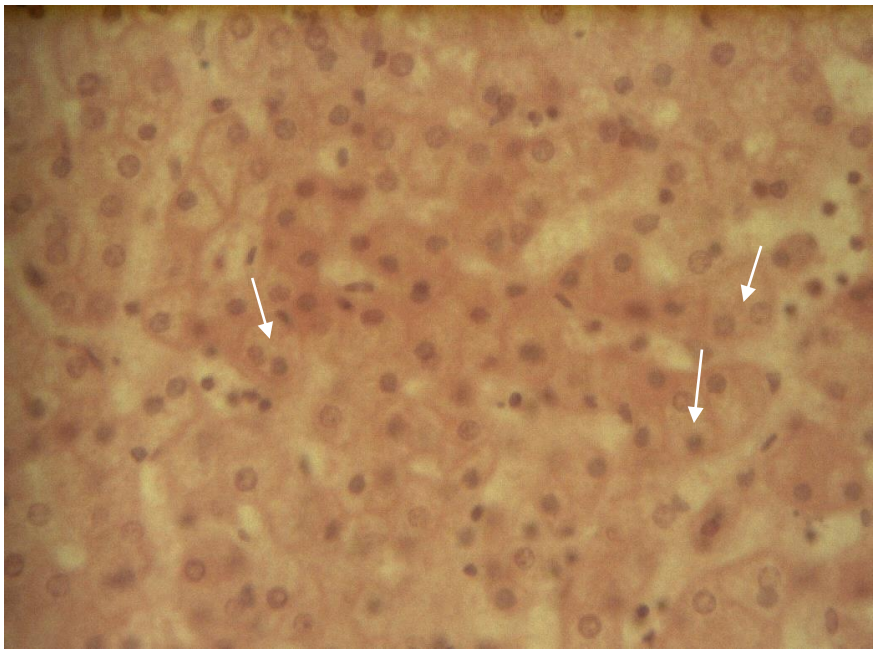

Рисунок 3 – Печень половозрелой крысы с экспериментальным лекарственно - индуцированном гепатитом, вызванным введением парацетамола.

Гипертрофированные двуядерные гепатоциты указаны стрелкой. Окраска: гематоксилин и эозин. Микрофото. Ув. 400 (об.×40; ок.×10).

Так, если уровень аланиновой трансаминазы (АлАТ) у интактных самок составлял 33,9 МЕ/л, то у самок с лекарственным гепатитом – 193,8 МЕ/л; уровень аспарагиновой трансаминазы (АсАТ) – 74,3 МЕ/л и 116,2 МЕ/л соответственно; и, наконец, общий билирубин составлял 1,7 мкм/л в контроле и 6 мкм/л в опыте.

2.2.2. Модель лекарственно-индуцированного гепатита, вызванного введением тетрациклина

Модель лекарственной гепатопатии, индуцированной введением тетрациклина, создавали путем внутрижелудочного введения тетрациклина гидрохлорида («Биосинтез» г. Пенза, Россия), который вводился половозрелым самкам крыс в течение 5 дней в дозе 0,5 г на кг массы тела животного на 1% крахмальном клейстере (Скакун Н.П., 1982).

Печень крыс с экспериментальным лекарственным поражением печени, вызванным введением тетрациклина, подвергали стандартному гистологическому исследованию. Поражение печени верифицировали с помощью морфологических (мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, очаговые некрозы различных отделов печеночной дольки, периваскулярная гиперплазия и гипертрофия купферовских клеток, расширение синусоидных капилляров, лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов, увеличение количества двуядерных и полиплоидных гепатоцитов (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1989)), биохимических (повышение активности ферментов АлАТ, АсАТ, ЛДГ, повышение свободного билирубина) и иммунологических (повышение титра противопеченочных антител 1:280, 1:560) критериев.

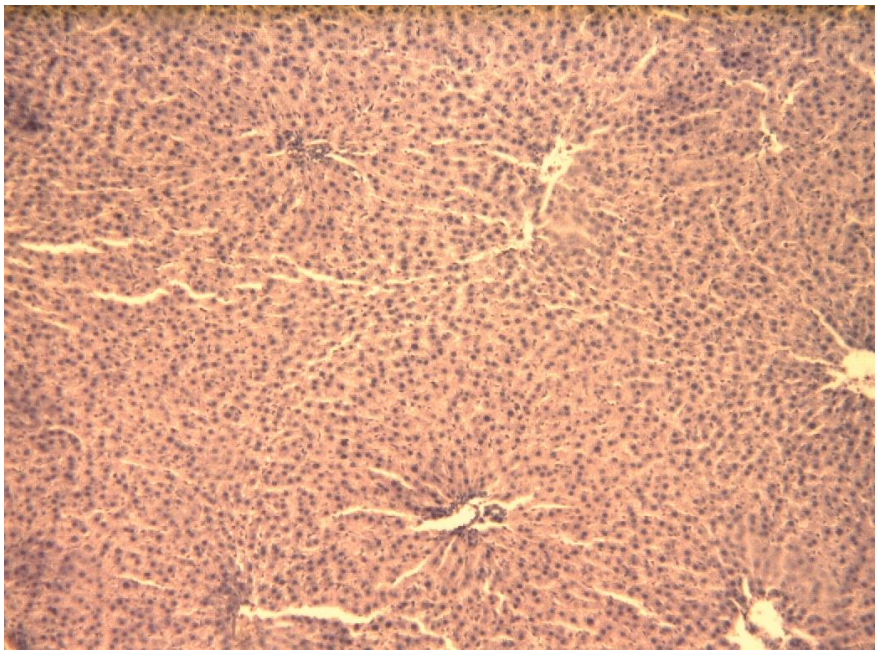

Рисунок 4 – Печень половозрелой крысы с экспериментальным лекарственно - индуцированным гепатитом, вызванным введением тетрациклина. Дискомплексация печеночных балок. Окраска: гематоксилин и эозин. Микрофото. Ув. 100 (об.×10; ок.×10).

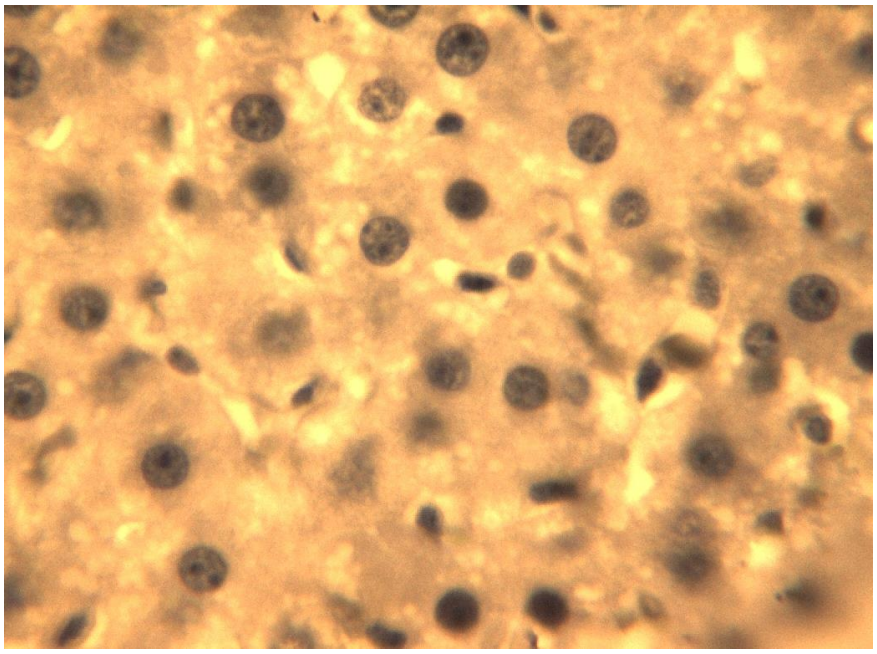

Рисунок 5 – Печень половозрелой крысы с экспериментальным лекарственно - индуцированным гепатитом, вызванным введением тетрациклина. Видны

гипертрофированные гепатоциты с вакуолизированной цитоплазмой. Окраска: гематоксилин и эозин. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

При этом печеночные пробы оказались существенно измененными при лекарственном поражении печени. Так, уровень аланиновой трансаминазы (АлАТ) составил 177,3 МЕ/л; уровень аспарагиновой трансаминазы (АсАТ) – 109,8 МЕ/л; и, наконец, общий билирубин – 4,8 мкм/л.

2.2.3. Модель иммобилизационного стресса

Стресс представляет собой стандартную адаптационную реакцию в ответ на действие различных по природе факторов, потенциально угрожающих существованию организма (Хаитов Р.М., Лесков В.П., 2001), в связи с чем для оценки адаптационных возможностей макрофагальной системы использовали метод иммобилизационного стресса.

Для создания стресса вызывали обездвиживание животных с жесткой фиксацией конечностей в течение 2 суток с тремя временными интервалами. В первый день крыс иммобилизировали с 10 до 15 часов, после 2 часов отдыха снова помещали в камеру и оставляли на ночь. В 10 часов утра следующего дня крыс выпускали до 17 часов, после чего снова проводили иммобилизацию до следующего утра (Брюхин Г.В., Грачев А.Ю., 1994).

2.3. Описание методов исследования

Исходя из поставленных задач исследования, в эксперименте нами использовались иммунологические, цитохимические, морфометрические, а также статистические методы исследования.

2.3.1. Методы выделения исследуемых мононуклеаров различных компартментов

В качестве объекта исследования использовали моноциты периферической крови, а также тканевые макрофаги (перитонеальные, альвеолярные, печеночные).

Получение моноцитов периферической крови

Моноциты периферической крови выделяли с помощью метода, основанного на седиментации их в одноступенчатом градиенте плотности фиколл – урографина (плотностью 1,077г/см³) (Фримель Г., 1987).

В результате дифференцированного центрифугирования кольцо с мононуклеарами крови оказывалось на границе двух сред – остальных форменных элементов и плазмы крови. Затем полученное кольцо клеточных элементов аккуратно перемещали в чистую пробирку и дважды центрифугировали с добавлением раствора Хенкса с целью удаления остатков градиента, при этом на дне пробирки оказывались осажденные клетки, которые ресуспендировали с 1 мл физиологического раствора.

Получение перитонеальных макрофагов

Перитонеальные макрофаги экспериментальных животных получали путем внутрибрюшинного введения животным раствора Хенкса в объеме 0,5-5 мл, с последующим массированием передней брюшной стенки в течение нескольких минут. Затем производили вскрытие брюшной полости, а жидкость отсасывали пастеровской пипеткой (Фримель Г., 1987) в чистую пробирку, центрифугировали и ресуспендировали в 1мл раствора Хенкса.

Получение альвеолярных макрофагов

Альвеолярные макрофаги экспериментальных животных получали методом лаважирования легких (Вазина И.Р. с соавт., 1984). Для этого животных усыпляли под эфирным наркозом, производили высокую декапитацию и выделяли сердечно-легочный комплекс с участком трахеи. Затем промывали легкие - с помощью толстой иглы в трахею вводили физиологический раствор до полного расправления паренхимы легких. Промывную жидкость собирали в чистую пробирку, дважды центрифугировали и ресуспендировали с 1 мл физиологического раствора.

Получение печеночных макрофагов

Макрофаги печени получали по методике Crofton R.W. et al. (1978) в модификации Брюхина Г.В. с соавт. (1987). Для этого после извлечении печени в воротную вену печени вводили достаточное количество раствора Хенкса с целью удаления из нее остатков крови. Затем выделенную печень измельчали ножницами, а полученные кусочки инкубировали в течение часа в 0,0001% теплом растворе трипсина, после чего их гомогенизировали в растворе Хенкса. Далее полученную клеточную взвесь помещали в чистую пробирку, добавляли расвор Хенкса, трижды центрифугировали, а затем ресуспендировали с 1 мл раствора Хенкса.

2.3.2. Получение мазков клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

С целью приготовления мазков клеток системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ) (Фримель Г., 1987) клеточную взвесь в объеме 0,1 мл помещали на чистое

хорошо обезжиренное предметное стекло, затем с помощью специального стекла с отшлифованным краем приготавливали мазки клеток, которые затем высушивали, фиксировали и использовали для экспериментальных исследований.

2.3.3. Получение монослоя клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Метод получения монослоя клеток основан на способности мононуклеаров адгезироваться на чистой стеклянной поверхности (Хейфец Л.Б., Абалакина В.А., 1973). С целью приготовления монослоя клеток клеточную взвесь в объеме 0,1 мл, содержащим 2×10^6 клеток, наносили на предметное стекло и инкубировали во влажной камере в термостате при 37ºС в течение 30 и 60 минут. Затем неприлипшие клетки удаляли физиологическим раствором. Полученный монослой клеток использовали для экспериментальных исследований.

2.3.4. Иммунологические методы исследования

2.3.4.1. Определение жизнеспособности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Жизнеспособность клеточных элементов оценивали с помощью раствора, содержащего 0,1% водного раствора трипанового синего и 0,1% раствора эозина в растворе Хенкса (Кондратьева И.А., Самуилов В.Д., 2001). Живые клетки окрашиваются в опалесцирующий зеленый цвет (рисунок 6). Клеточная суспензия считалась жизнеспособной, если процент живых клеток составляет не менее 85%.

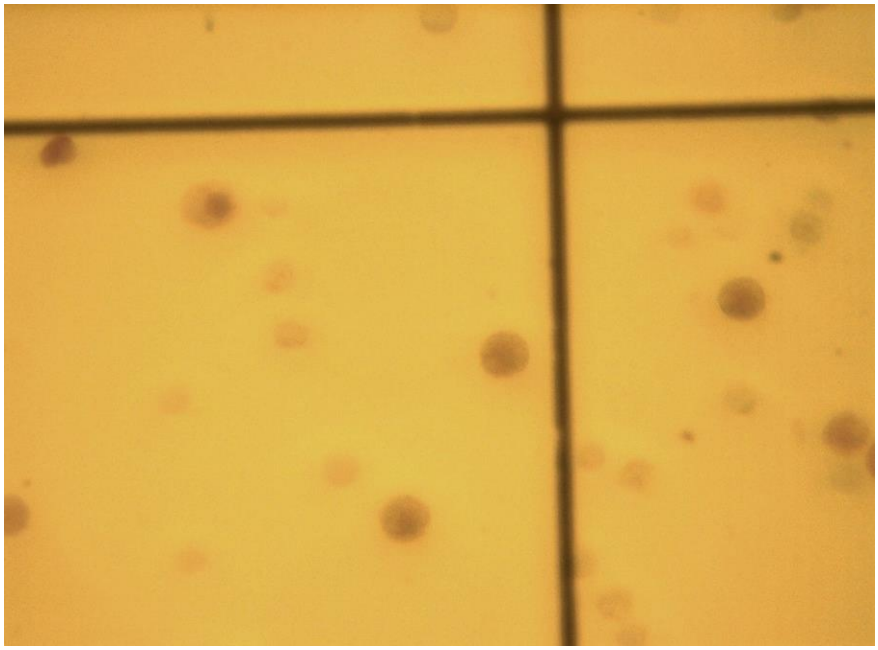

Рисунок 6 – Перитонеальные макрофаги 45-ти дневного животного второй опытной группы (камера Горяева). Определяются жизнеспособные клетки. Окраска: трипановый синий и эозин. Микрофото. Ув. 400 (об×40; ок.×10)

2.3.4.2. Подсчет количественного состава клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

С целью подсчета количества моноцитов периферической крови и тканевых макрофагов использовали раствор генцианового фиолетового, который добавляли к клеточной взвеси в соотношении 9:1 (0,1 мл клеточной взвеси и 0,9 мл генцианового фиолетового). Подсчет клеток производили в камере Горяева, определяли общее число мононуклеаров в 100 больших квадратах (рисунок 7).

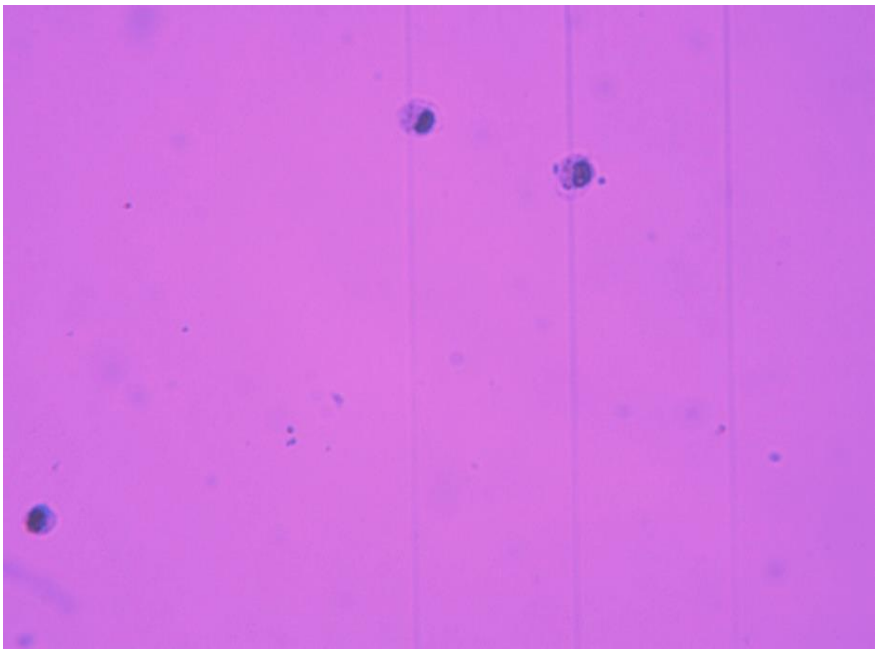

Рисунок 7 – Перитонеальный макрофаг 30-ти дневного животного первой опытной группы (камера Горяева). Окраска: генциановый фиолетовый. Микрофото. Ув. 400 (об×40; ок.×10).

Определение числа альвеолярных макрофагов в 1 мл промывной жидкости производилось по формуле:

К= М×Н×Р×2,5×1000, где

К – количество альвеолярных макрофагов в 1 мл промывной жидкости;

М – масса органа, мг;

Н – число клеток в 100 больших квадратах камеры Горяева;

Р – разведение раствором генцианового фиолетового;

2,5 и 1000 – коэффициенты для перерасчета объема камеры в 1 мл;

Определение числа моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов производили по следующей формуле:

К = Н×Р×2,5×1000, где

К – количество макрофагов брюшной полости в 1 мл промывной жидкости или моноцитов периферической крови в 1 мл

Н – число клеток в 100 больших квадратах камеры Горяева;

Р – разведение раствором генцианового фиолетового;

2,5 и 1000 – коэффициенты для перерасчета объема камеры в 1 мл;

Для подсчета клеток Купфера использовали формулу:

К = М×m×В×Н×Р×2,5×1000, где

К – количество альвеолярных макрофагов в 1 мл;

М – масса органа, мг;

m – масса навески, мг

В – объем среды, в которой гомогенизировали навеску

Н – число клеток в 100 больших квадратах камеры Горяева;

Р – разведение раствором генцианового фиолетового;

2,5 и 1000 – коэффициенты для перерасчета объема камеры в 1 мл;

2.3.4.3. Определение фагоцитарных и микробоцидных свойств клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Исследование фагоцитарного звена на модели поглощения корпускулярных частиц латекса

Фагоцитарную активность мононуклеаров исследовали на модели поглощения частиц латекса в культуре клеток по методу Фрейдлин И.С. (1976). Для этого к полученному монослою клеток добавляли 0,2 мл взвеси частиц латекса, соответствующей концентрации 10^8 частиц в 1 мл, диаметром 1,2 мкм. Далее помещали предметные стекла во влажную камеру и культивировали в термостате в течение 60 минут при 37ºС. Затем препараты промывали раствором Хенкса, фиксировали метанолом и окрашивали по Романовскому-Гимзе и микроскопировали.

Для оценки полученных результатов подсчитывали (Фримель Г., 1987) фагоцитарный показатель (процентное содержание фагоцитирующих клеток) и

фагоцитарный индекс (число инертных частиц латекса, поглощенных 100 клетками в перерасчете на одну) (рисунок 8).

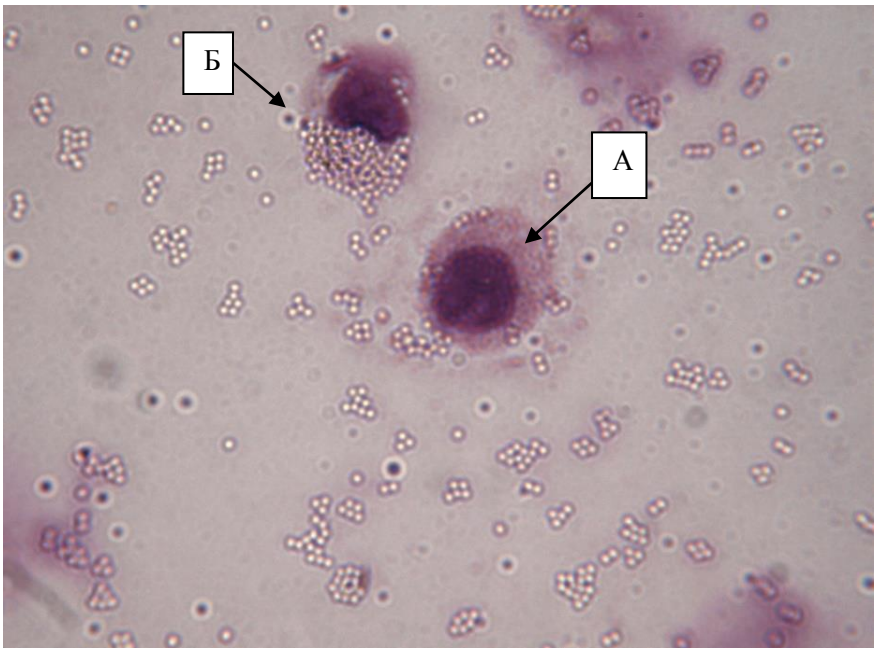

Рисунок 8 – Перитонеальные макрофаги 60-ти дневного животного первой опытной группы. А - Макрофаги с низкой интенсивностью фагоцитоза; Б - Высокое содержание частиц латекса в цитоплазме клеток. Окраска по Романовскому-Гимзе. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Оценка фагоцитарной и киллинговой активности на модели поглощения Staphillococcus aureus

Для исследования фагоцитарных и микробоцидных свойств мононуклеаров 0,1 мл суточной культуры золотистого стафиллококка (штамм АТСС 25923), разведенной физиологическим раствором до концентрации 7% (содержание микроорганизмов 2×10^8 в 1 мл), добавляли к монослою клеток. Затем предметное стекло помещали во влажную камеру и культивировали при 37ºС в течение 1 часа.

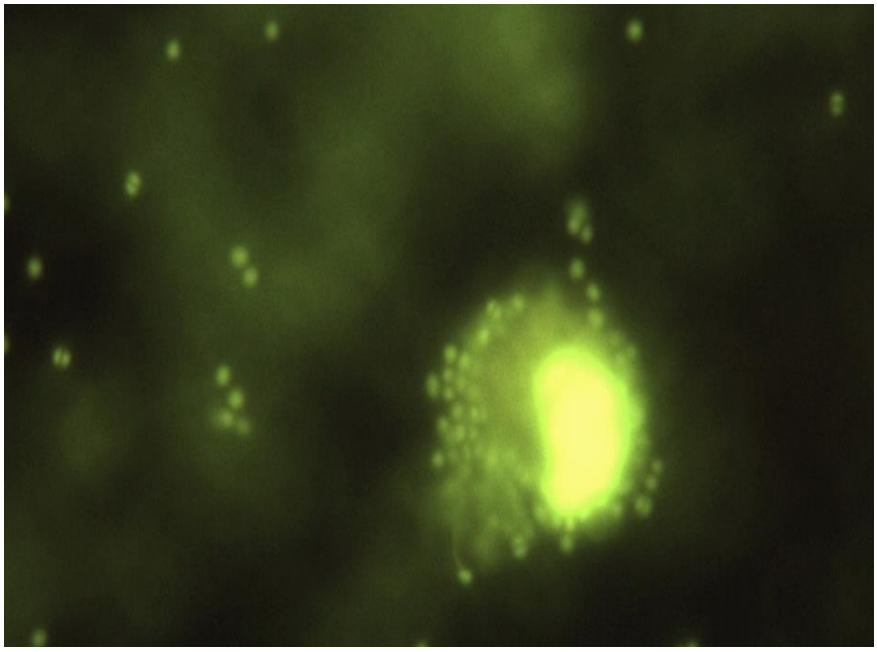

Рисунок 9 – Моноцит периферической крови 45-ти дневного животного первой опытной группы. В цитоплазме определяются живые микроорганизмы. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

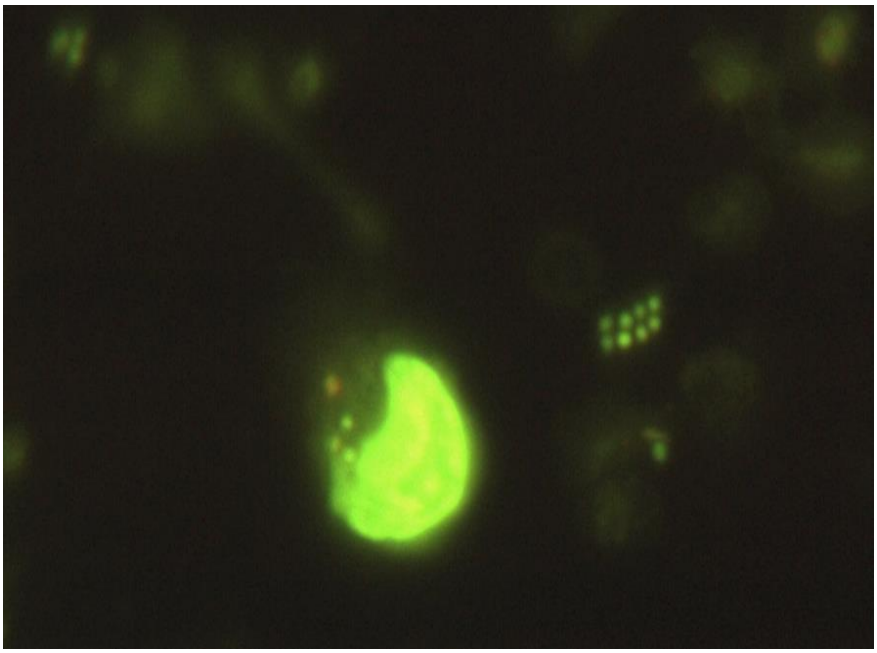

Рисунок 10 – Моноцит периферической крови 60-ти дневного животного второй опытной группы. В цитоплазме определяются 3 живых и 1 убитый стафилококк. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Далее препарат окрашивали 0,0015% раствором акридинового оранжевого в течение 10 минут в темноте, после чего остатки красителя удаляли физиологическим раствором, покрывали полученный препарат покровным стеклом и микроскопировали под нефлюоресцирующей масляной иммерсией (об.×90; ок.×10).

При этом ядра живых клеток и живые бактериальные частицы окрашивались в зеленый цвет, а ядра погибших мононуклеаров и погибшие микроорганизмы – в красный (рисунок 9, 10).

Для оценки полученных результатов подсчитывали фагоцитарный показатель (процентное содержание фагоцитирующих клеток), фагоцитарный индекс (число бактериальных частиц, поглощенных 100 клетками в перерасчете на одну) и киллинговую активность (процентное отношение убитых микроорганизмов по отношению ко всем захваченным).

2.3.4.5. Определение ловушкообразующей способности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Исследование макрофагальных внеклеточных ловушек, образованных моноцитами периферической крови, а также перитонеальными и альвеолярными макрофагами, позволило оценить внутренние резервы фагоцитов, в частности их способность к внеклеточным механизмам бактерицидности.

Способ обнаружения внеклеточных сетеподобных структур основывался на прижизненном окрашивании флюоресцирующим красителем акридиновым оранжевым структур ядра фагоцитов (Долгушин И.И. с соавт., 2009).

Для образования ловушек к монослою клеток добавляли 0,1 мл суточной культуры S. aureus (штамм 25923), содержащей 2×10^8 в 1 мл микроорганизмов, культивировали при 37ºС в течение 2 часов в условиях влажной камеры. Затем на полученный препарат вносили 0,0015% раствор акридинового оранжевого на 5

минут, после чего остатки красителя удаляли физиологическим раствором, а влажный нефиксированный препарат покрывали покровным стеклом и микроскопировали под нефлюоресцирующей масляной иммерсией (об.×90; ок.×10). При этом ядра живых клеток, живые бактерии и ловушки окрашивались в ярко-зеленый цвет, тогда как ядра погибших клеток и убитые микроорганизмы - в красный (рисунок 11, 12).

Принадлежность внеклеточной ловушки к клеткам системы мононуклеарных фагоцитов дифференцировалась по форме ядра. Ловушки, образованные нейтрофилами, не учитывались.

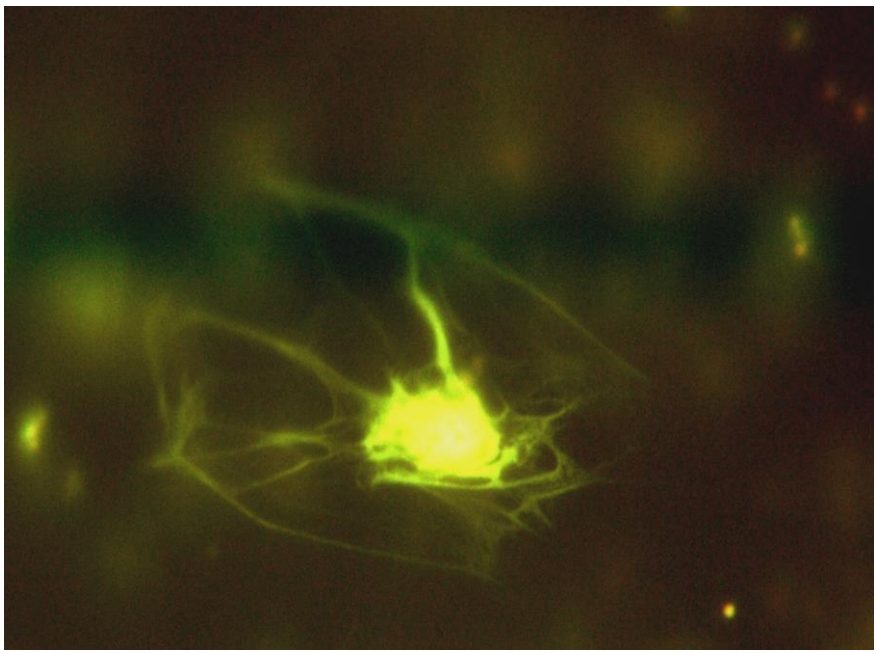

Рисунок 11 – Внеклеточная моноцитарная ловушка 30-ти дневного животного первой опытной группы. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Для количественного выражения активности макрофагальных ловушек определялось число макрофагов, способных к образованию внеклеточных сетей. Об активности внеклеточных макрофагальных ловушек судили по числу активных ловушек (количество внеклеточных структур, захвативших S. aureus), индексу макрофагальной ловушки (число бактерий в 100 подсчитанных

сетеподобных структурах в пересчете на 1 ловушку) и киллинговой активности (процент убитых поглощенных микроорганизмов из расчета на одну макрофагальную ловушку).

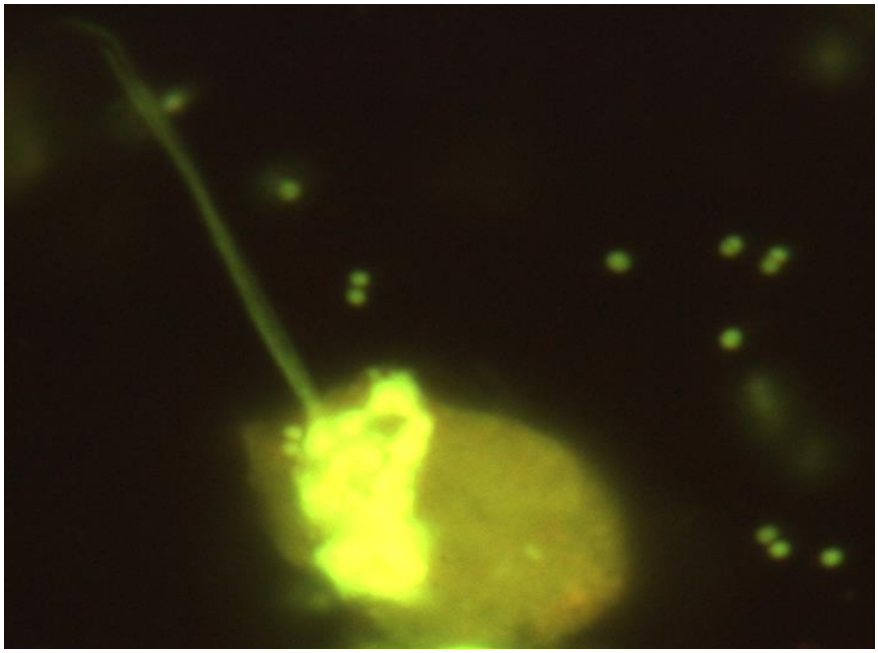

Рисунок 12 – Перитонеальный макрофаг 15-ти дневного животного первой опытной группы. Начало образования внеклеточной ловушки. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Контроль реакции ловушкообразования проводился с помощью фермента 0,02% раствора ДНКазы на 0,01 М трис – буфере (pH 7,6), при этом внеклеточные нити под действием указанного фермента разрушались.

2.3.4.6. Оценка лизосомального аппарата клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Определение лизосомальной активности клеточных элементов было основано на свойстве мононуклеаров избирательно накапливать в лизосомах

цитоплазмы флюоресцирующий краситель и вызывать их красное свечение (Фрейдлин И.С. с соавт., 1981).

Для постановки реакции получали монослой моноцитов/макрофагов, для чего культивировали его в течение 60 минут при 37ºС. Затем слой неприлипших клеток аккуратно удаляли физиологическим раствором, добавляли 0,1 мл флюоресцирующего красителя акридинового оранжевого, соответствующего концентрации 2мкг/мл и окрашивали в течение 10 минут в темноте. Затем полученный влажный препарат покрывали покровным стеклом и микроскопировали под нефлюоресцирующей масляной иммерсией в потоке сине-фиолетового света люминесцентного микроскопа «Люмам» (об.×90; ок.×10).

В результате реакции ядра живых клеток окрашивались в зеленый свет, а органоиды внутриклеточного пищеварения – в оранжевый свет, что позволяет хорошо идентифицировать клеточную структуру и оценить активность лизосомального аппарата.

Для количественного выражения лизосомальной активности производили подсчет процентного содержания макрофагов с лизосомальной активностью (число акридиноранж-позитивных клеток), также визуально полуколичественным методом определяли средний цитохимический коэффициент по формуле Astaldi и Verga (1957):

СЦК= 0× А + 1 × Б + 2 × В + 3 × Г / n, где

А, Б, В, Г – количество клеток с различным уровнем лизосомальной активности;

0,1, 2, 3 – степень люминесцентного свечения лизосом;

n – общее количество исследуемых клеток.

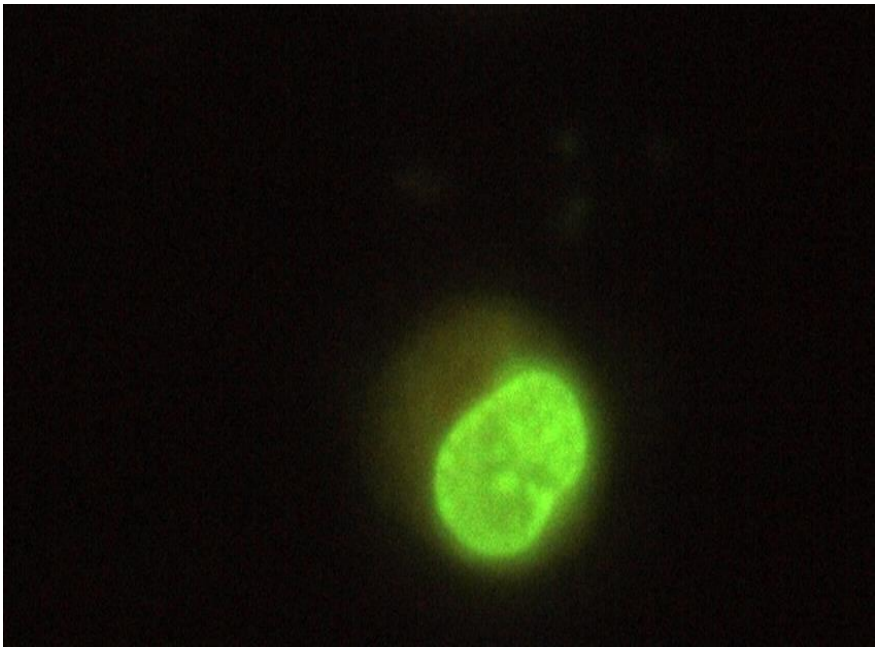

Рисунок 13 – Альвеолярный макрофаг 30-ти дневного крысенка первой опытной группы. Лизосомальные гранулы в цитоплазме отсутствуют. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

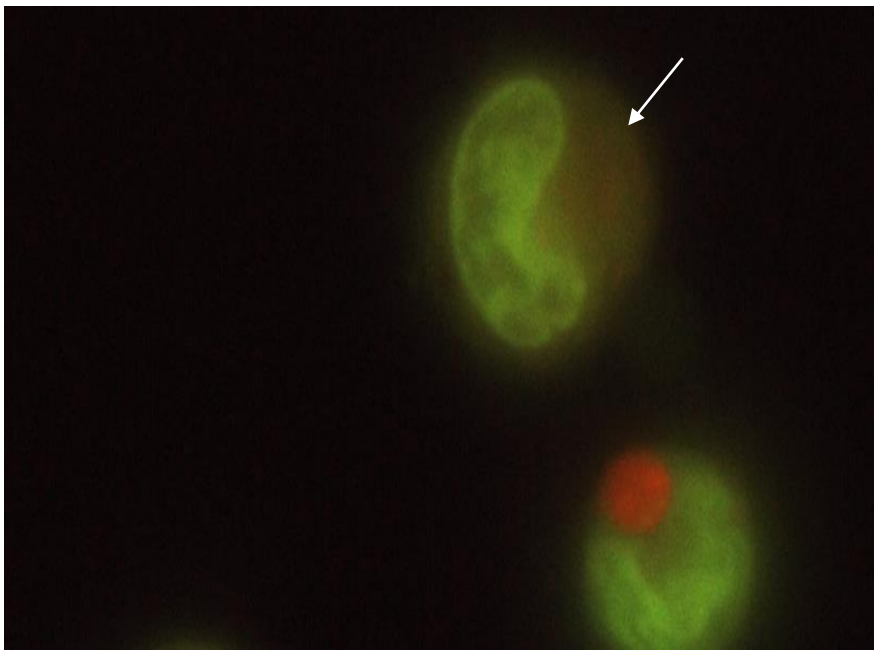

Рисунок 14 – Моноцит периферической крови 45-ти дневного крысенка первой опытной группы. Стрелкой указана клетка с низкой лизосомальной активностью. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

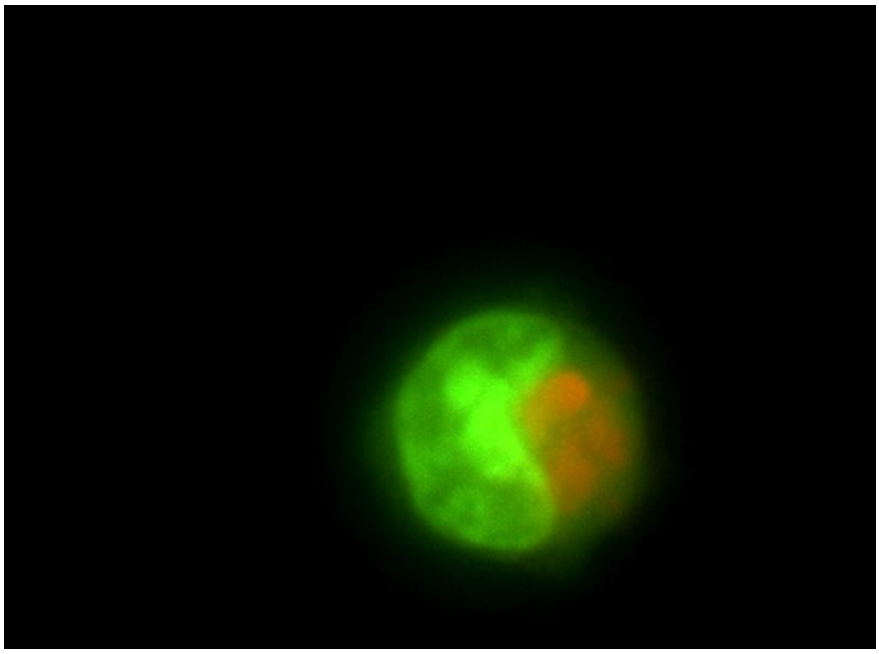

Рисунок 15 – Перитонеальный макрофаг 60-ти дневного крысенка второй опытной группы. Умеренная лизосомальная активность. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

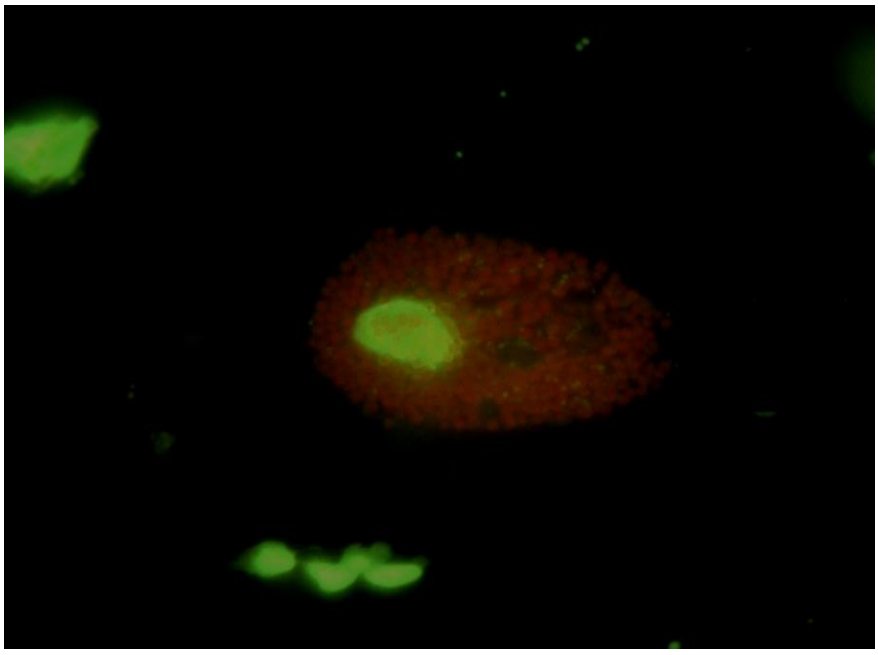

Рисунок 16 – Альвеолярный макрофаг 60-ти дневного крысенка второй опытной группы. Высокая лизосомальная активность. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

При анализе количественных параметров за «А» принимали неактивные клетки, лишенные лизосомальных гранул и, соответственно, свечения (рисунок 13). За «Б» - слабоактивные клетки с низкой активностью лизосом и слабым свечением (рисунок 14). За «В» - клетки с умеренной лизосомальной активностью, с умеренным количеством гранул в цитоплазме (рисунок 15). И, наконец, в качестве «Г» учитывали высокоактивные клетки, цитоплазма которых была полностью заполнена лизосомальными гранулами (рисунок 16).

2.3.4.7. Определение рецепторного аппарата клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Адгезивные свойства мононуклеаров оценивали нединамическим методом (Храмова И.А., И.П. Кольцов, 2010), основанным на свойстве макрофагов/моноцитов прикрепляться к чистой стеклянной или пластиковой поверхности. Благодаря этому возможно оценить функциональную активность, в частности, адгезивные свойства мононуклеарных клеток (Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 2000).

Для исследования адгезивных свойств взвесь клеток в объеме 0,1 мл, соответствующему концентрации клеток 2×10^6, вносили на предметное стекло, культивировали в термостате в течение 30 и 60 минут при 37ºС. Затем производили фиксацию прилипших к стеклу клеточных элементов в метаноле в течение 5 минут. Полученный препарат клеток окрашивали по Романовскому – Гимзе в течение 30 минут и микроскопировали (объектив×40, окуляр×7).

Для количественной оценки адгезивных свойств исследовали суммарный показатель адгезии – процентное соотношение количества клеток, прикрепившихся к стеклу к общему числу внесенных на стекло клеток.

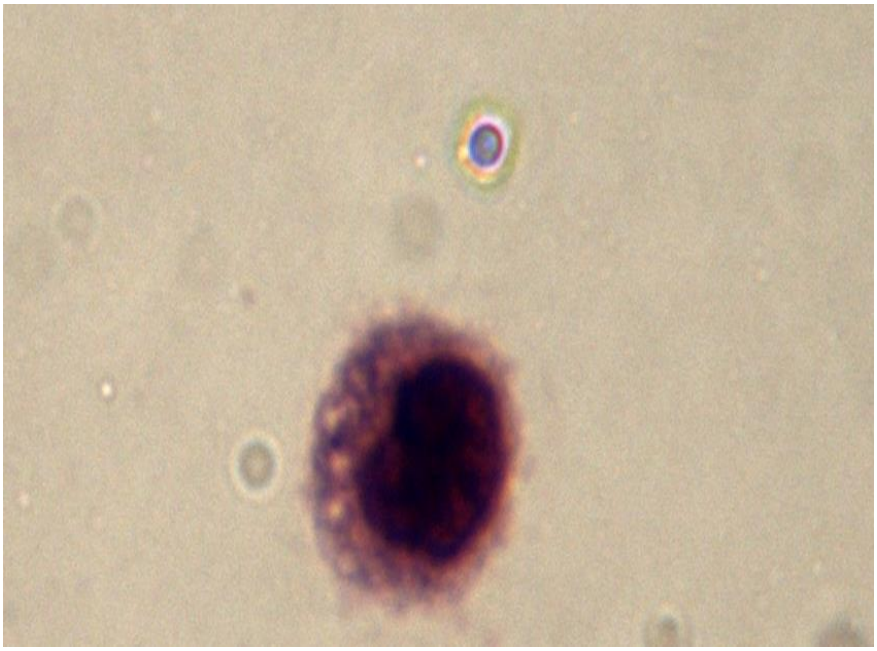

Рисунок 17 – Нераспластанный перитонеальный макрофаг 45-ти дневного животного контрольной группы. Окраска по Романовскому – Гимзе. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Исследование рецепторного поля (Rollany H., Degre H., 1982) проводили путем инкубирования монослоя клеток в термостате в течение 30 и 60 минут при 37ºС. Оценку распластывания проводили с помощью световой микроскопии (объектив×90; окуляр×7). При этом за нераспластанные мононуклеары принимали клетки округлой формы без отростков, у которых диаметр ядра был больше, чем расстояние между кариолеммой и плазмолеммой (рисунок 17). За распластанные принимали неправильной формы клетки, без отростков, у которых диаметр ядра был меньше расстояния между кариолеммой и плазмолеммой (Вихоть Н.Е., Пастер Е.У., 1989) (рисунок 18).

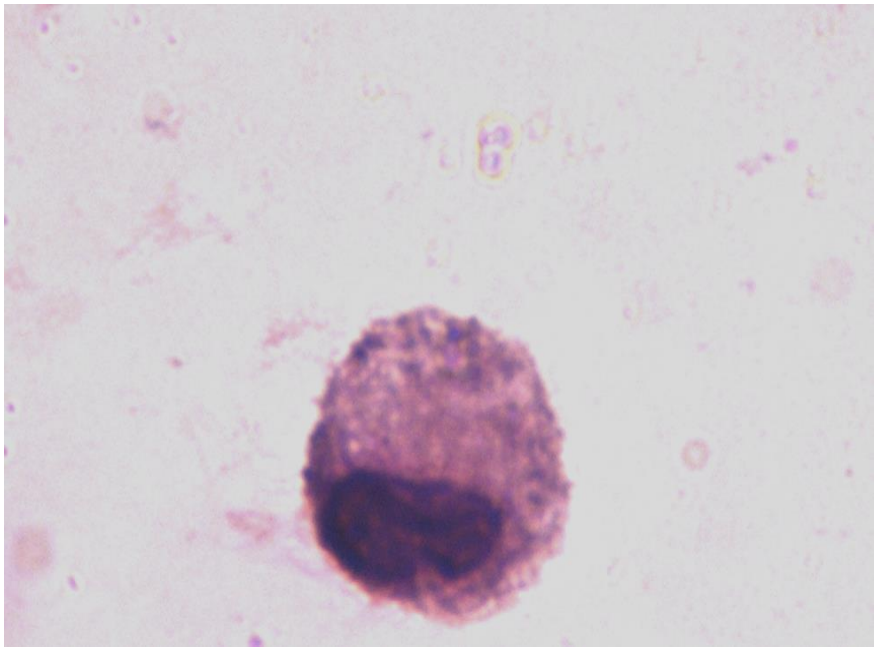

Рисунок 18 – Распластанный перитонеальный макрофаг 60-ти дневного животного контрольной группы. Окраска по Романовскому – Гимзе. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Количественную оценку распластывания проводили путем подсчета процентного соотношения распластанных элементов к общему числу прикрепившихся.

2.3.4.8. Оценка кислородзависимой метаболической активности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Внутриклеточный кислородзависимый метаболизм оценивали с помощью НСТ-теста, который является показательным для оценки «метаболического взрыва» в макрофагах (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). Эта реакция активируется во время фагоцитоза, сопровождается повышением потребления кислорода, интенсификацией гексозомонофосфатного шунта и образованием супероксиданиона в клетках. НСТ – тест позволяет оценить внутренние

метаболические ресурсы клеток, проявляющиеся при активации стимулирующими веществами (Кульчиков А.Е. с соавт., 2011).

Принцип НСТ – теста основывается на реакции восстановления растворимого бесцветного нитросинего тетразолия до нерастворимой формы - диформазана, который распределяется в цитоплазме и на поверхности клеток в виде гранул, окрашивающихся в темно-синий цвет. Количество гранул позволяет судить об интенсивности реакции (рисунок 19, 20). Данный тест отражает степень активности кислородзависимых механизмов бактерицидной активности фагоцитов, в основе которой лежит активация НАДФН2 – оксидазы и повышение концентрации внутриклеточного супероксиданиона O_2^-. (Маянский Д.Н., 1996).

Окислительный клеточный метаболизм оценивали по двум показателям – интегральному тесту восстановления нитросинего тетразолия (спонтанный и индуцированный НСТ - тест) (Виксман М.Е., Маянский А.Н., 1979).

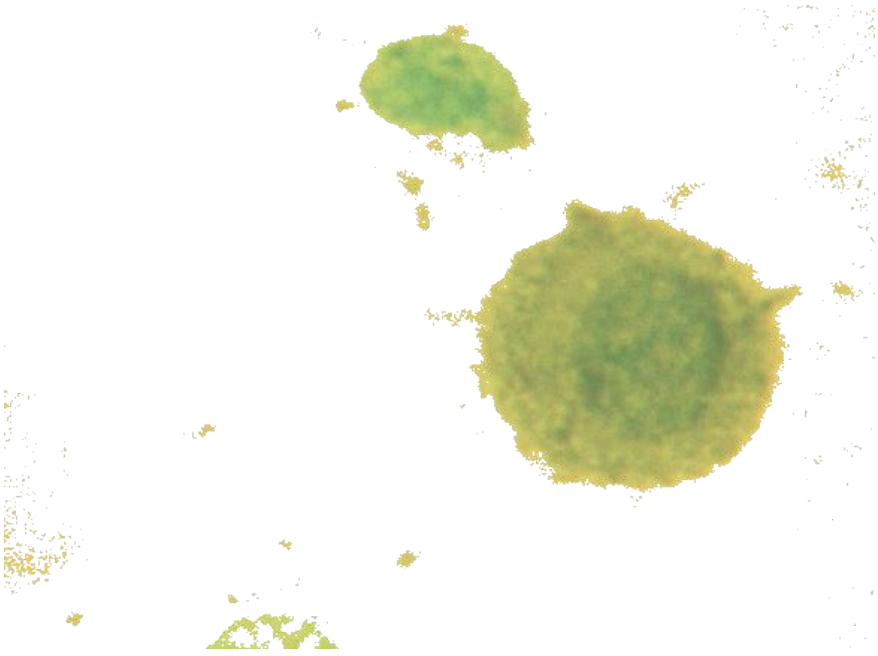

Рисунок 19 – НСТ – негативный моноцит периферической крови 15-ти дневного животного второй опытной группы. Гранулы диформазана в цитоплазме не выявляются. Окраска: нитросиний тетразолий по Виксману. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

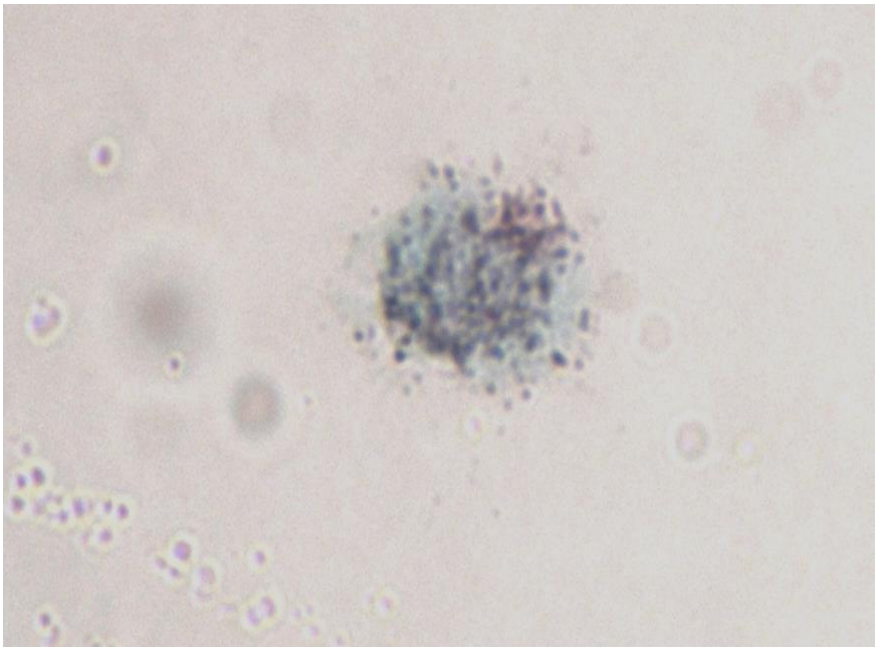

Рисунок 20 – НСТ – позитивный перитонеальный макрофаг 45-ти дневного животного второй опытной группы. В цитоплазме выявляются гранулы диформазана. Окраска: нитросиний тетразолий по Виксману. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Для определения спонтанной окислительной активности фагоцитов на предметное стекло наносили 0,1 мл клеточной взвеси и 0,1 мл инкубационной среды, включающей 0,1% раствора нитросинего тетразолия на фосфатном буфере (pH 7,2-7,4), и инкубировали во влажной камере при 37Cº в течение 30 минут. После этого оставшиеся неприлипшими клетки удаляли с помощью физиологического раствора, фиксировали полученный монослой в 5% метаноле, ядра подкрашивали метиленовым зеленым (рисунок 19, 20).

Количественный анализ проводили путем подсчета процентного содержания клеток с гранулами диформазана в цитоплазме.

Для постановки реакции стимулированного НСТ – теста в качестве стимулятора образования гранул диформазана использовали инертные частицы латекса. Для этого на предметное стекло наносили клеточную взвесь и гранулы латекса в концентрации 10^8 частиц в 1 мл, инкубировали при 37ºС в течение 30

минут, после чего к препарату добавляли инкубационную среду и помещали в термостат еще на 30 минут. После этого оставшиеся неприлипшими клетки удаляли с помощью физиологического раствора, фиксировали полученный монослой в 5% метаноле, ядра подкрашивали метиленовым зеленым.

Количественную оценку проводили путем подсчета числа клеток, содержащих в цитоплазме гранулы диформазана.

2.3.5. Оценка цитохимических показателей клеточных элементов системы мононуклеарных фаоцитов

Цитохимический профиль фагоцитов является одним из звеньев, характеризующих их функциональную активность. Для цитохимической характеристики макрофагов использовали общепринятую методику получения мазка мононуклеаров, затем фиксировали его соответствующим методом и использовали для дальнейших исследований.

С целью количественной интерпретации ферментативной активности мононуклеаров определяли число клеток с энзимогистохимической реакцией.

2.3.5.1. Оценка содержания гликогена в клеточных элементах системы мононуклеарных фагоцитов

Гликоген является универсальным трофическим субстратом клеток животного происхождения.

Изучение способности клеток к накоплению гликогена проводили с помощью Шифф – реакции по Мак-Манусу (Волкова О.В., 1982).

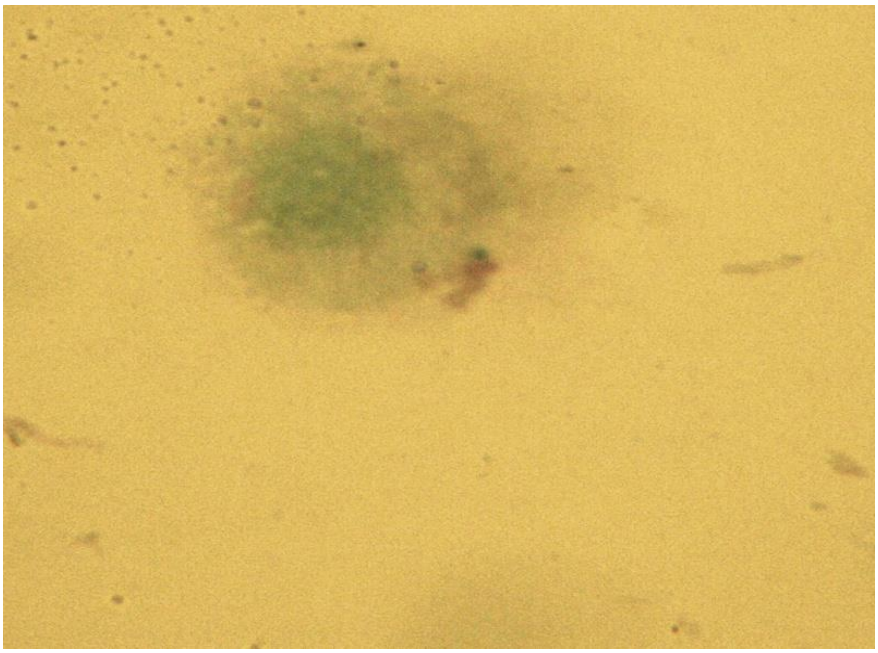

Рисунок 21 – ШИК – негативный моноцит периферической крови 30-ти дневного животного первой опытной группы. Окраска: Шифф – йодная кислота по Мак-Манусу. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

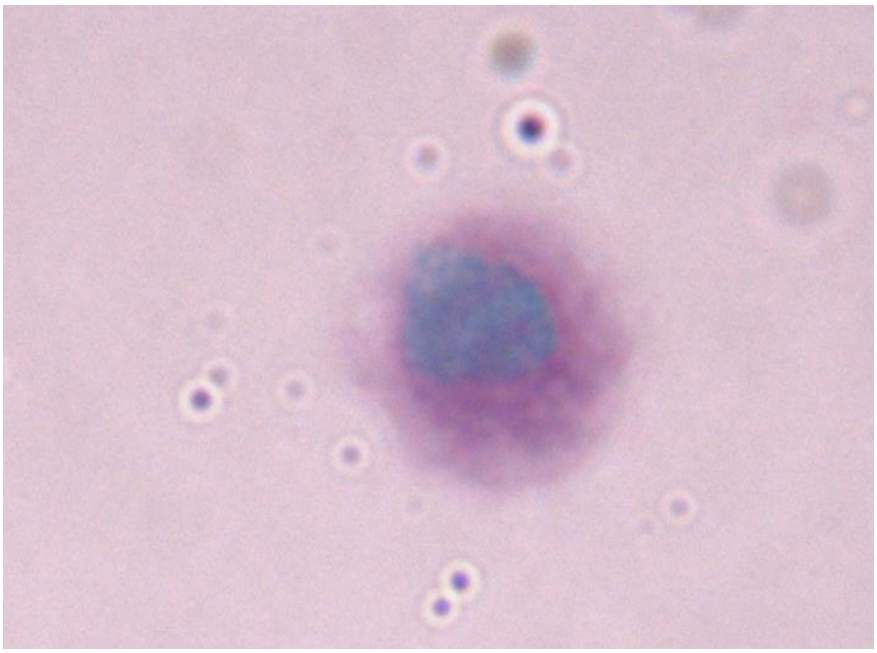

Рисунок 22 – ШИК – позитивный перитонеальный макрофаг 45-ти дневного животного первой опытной группы. Окраска: Шифф – йодная кислота по Мак-Манусу. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Для этого фиксированные мазки клеток предварительно обрабатывали 1% раствором йодной кислоты, способной вызывать окисление альдегидных групп, а затем окрашивали содержащим фуксин и сернистую кислоту реактивом Шиффа. В результате реакции вещество полисахаридной природы окрашивалось в пурпурно - или лилово-красный цвет, гликоген – в цвета более темно-красных оттенков. Ядра клеток докрашивали метиленовым зеленым.

2.3.5.2. Оценка миелопероксидазной активности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

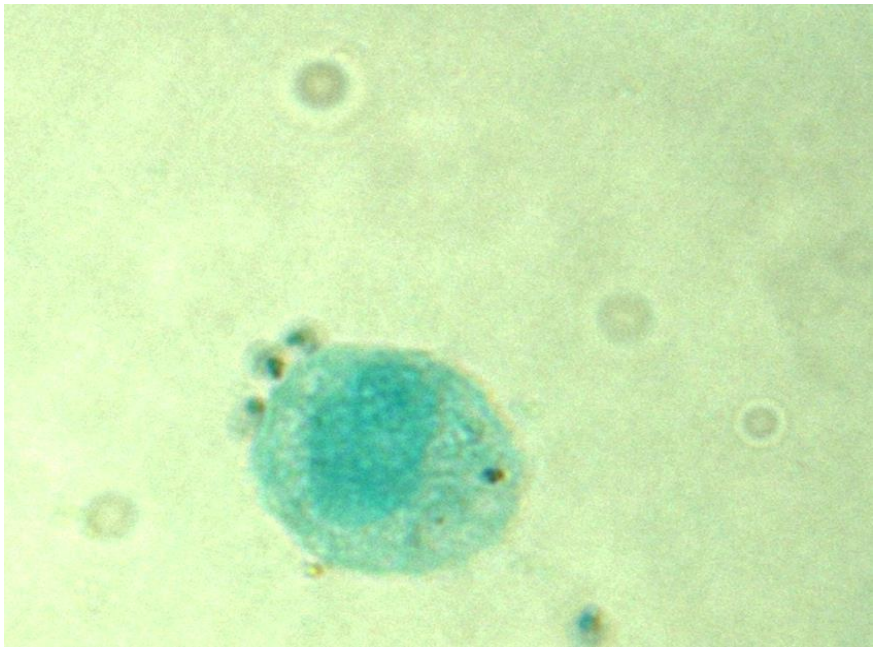

Рисунок 23 – Пероксидазонегативный макрофаг 60-ти дневного животного первой опытной группы. Окраска по Грэхему-Кноллю. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Пероксидаза является специфическим высокомолекулярным белком, выполняющим антимикробную функцию благодаря декарбоксилированию и дезаминированию аминокислот бактерий (Рулева Н.Ю. с соавт., 2007).

Независимо от этиологического фактора, вызвавшего дефицит миелопероксидазы, он приводит к различным заболеваниям инфекционного характера (Маслов А.К., 2007).

Для выявления пероксидазопозитивных фагоцитов использовали метод Грэхема-Кнолля (1974). Для этого полученные мазки клеток фиксировали в формальновом спирте, в составе которого содержались 1 часть 40% формальдегида и 9 частей 96% этилового спирта. После этого на мазки на 4 минуты наносили инкубационную среду, состоящую из бензидина, 40% этилового спирта и 3% перекиси водорода, после чего подкрашивали ядра метиленовым зеленым. В результате реакции в цитоплазме пероксидазопозитивных клеток определяются гранулы желто-коричневого цвета (рисунок 23, 24).

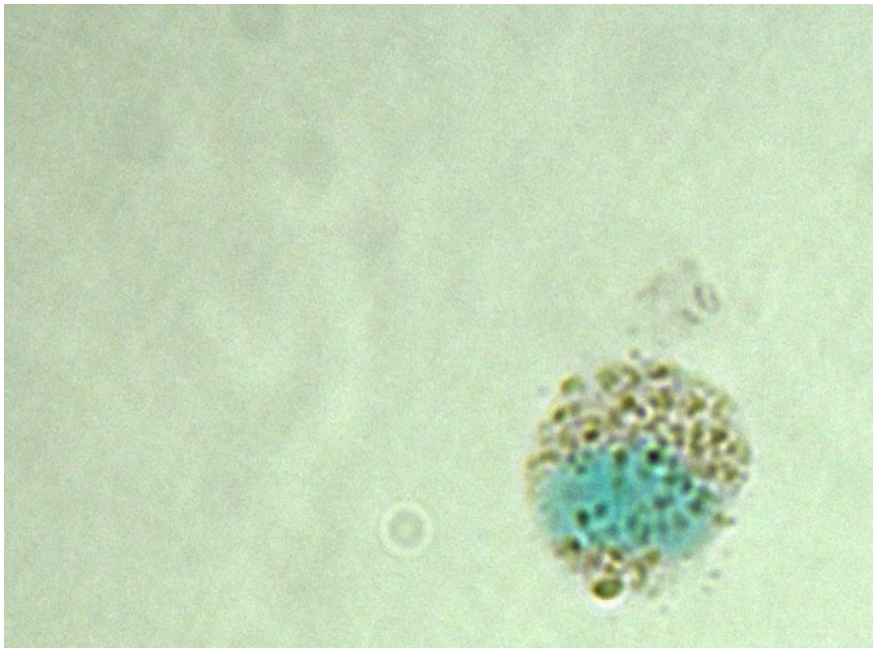

Рисунок 24 – Пероксидазопозитивный макрофаг 30-ти дневного животного интактной группы. Окраска по Грехему-Кноллю. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

2.3.5.3. Оценка активности сукцинатдегидрогеназы клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Сукцинатдегидрогеназа (СДГ) – ферментативный комплекс, служащий компонентом дыхательной цепи митохондрий и цикла трикарбоновых кислот Кребса. СДГ является одним из ключевых ферментов конечного метаболического пути окислительного разрушения углеводов, жиров и белков. Активность сукцинатдегидрогеназы позволяет судить об энергетическом потенциале клеток, функциональной состоятельности и количестве активных митохондрий.

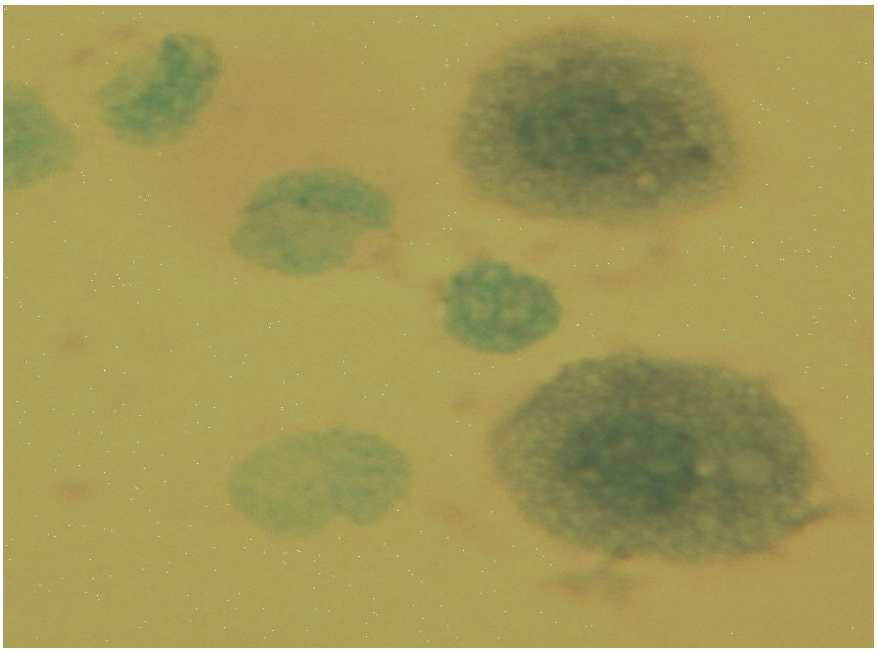

Рисунок 25 – Альвеолярные макрофаги 45-ти дневного животного второй опытной группы. Гранулы диформазана в цитоплазме отсутствуют. Окраска: нитросиний тетразолий по Виксману. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

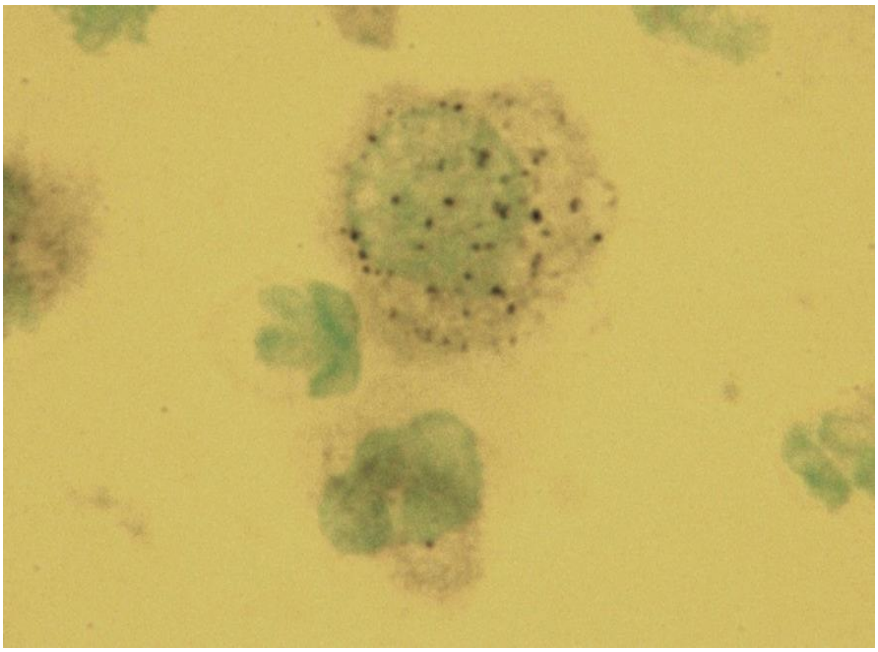

Рисунок 26 – Перитонеальный макрофаг 60-ти дневного животного интактной группы. Высокое содержание сукцинатдегидрогеназы. Окраска: нитросиний тетразолий по Виксману. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Для постановки реакции на выявление СДГ использовали методику Хейхоу Ф.Г.Дж. и Кваглино Д. (1983). Для этого фиксированные мазки клеток помещали в инкубационную среду следующего состава: раствор янтарнокислого натрия, фосфатный буфер, нитросиний тетразолий и дистиллированная вода. После этого ядра клеток подкрашивали раствором метиленового зеленого. В результате реакции в цитоплазме фагоцитов обнаруживались гранулы диформазана синего цвета (рисунок 25, 26).

2.3.6. Статистические методы исследования

Полученные цифровые данные обрабатывали на компьютере с использованием программы SPSS 17.0 (Statsoft, Inc.), определяя среднее и 95% доверительный интервал. Учитывая небольшую выборку животных, достоверность полученных результатов определяли при помощи

непараметрического метода - критерия Манна-Уитни. Для оценки сочетанного действия лекарственной гепатопатии и иммобилизационного стресса проводился двухфакторный дисперсионный анализ, с помощью которого было выявлено различие как между группами, так и значимые взаимодействия между данными факторами. Проверка распределений на нормальность осуществлялась с помощью критерия Колмагорова-Смирнова (Холлендер М. и Вульф Д., 1983), проверка распределений на однородность дисперсий – с помощью критерия Левене (Levene H., 1960) Нормализацию данных, распределенных с отклонением от нормального распределения, производили с помощью преобразования Бокса-Кокса (Sakia R.M., 1992).

ГЛАВА III РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Бесспорным является факт того, что здоровье матери играет исключительную роль в вопросах воспроизводства полноценного потомства. Данная проблема исследуется учеными всего мира, определяя различные направления путей ее решения. Современные исследования медицинской сферы, а также демографических показателей, показали, что здоровье населения, особенно женщин репродуктивного возраста, не является оптимальным. В связи с экологическим неблагополучием в регионах с интенсивным развитием промышленности повышен риск негативного влияния на материнский организм (Бурдули Г.М., Фролова О.Г., 1997; Римашевская Н.М., 2004; Николаева Л. Б., Ушакова Г. А., 2011).

В связи с этим, увеличивается число беременностей высокого риска, приводящих к различной патологии со стороны плода – самопроизвольным абортам, мертворождаемости, рождению детей с признаками отставания физического развития (Курцер М.А., Панина О.Б., 1999; Вельтищев Ю.Е., 2000; Кулаков, В.И. с соавт., 2000).

Одной из важнейших причин перинатальной патологии являются экстрагенитальные заболевания, в структуре которых особое место, в силу своей распространенности, занимают болезни гепатобилиарной системы (Безнощенко Г.Б., с соавт., 1995; Шехтман М.М., 2003; Кузьмин В.Н., 2008; Chen H., 2008; Hay J.E., 2008; Panther E., Blum H.E, 2008), сходные по своим ключевым патогенетическим аспектам и, нередко, имеющие общие механизмы течения и хронизации. Бесспорно, одним из центральных звеньев патогенеза в развитии заболеваний печени являются клеточные элементы системы мононуклеарных фагоцитов. Макрофаги быстро реагируют на экзогенный стимул и запускают

сложный механизм своей специализации, направленный на борьбу с патологическим состоянием.

Вследствие этого особенно остро встает вопрос об изучении влияния поражения печени различного генеза на механизмы неспецифической резистентности моноцитов периферической крови и тканевых макрофагов у потомства.

Исходя из поставленных целей нашего исследования, была проведена комплексная оценка функциональных параметров мононуклеарных фагоцитов у потомства самок крыс с экспериментальной патологией гепатобилиарной системы. Нами изучались количественные показатели (содержание моноцитов/макрофагов различных компартментов). Проведена функциональная оценка фагоцитов, включающая определение фагоцитарных свойств (фагоцитарная, бактерицидная и ловушкообразующая активность), рецепторного поля (распластывание и адгезивная способность), кислородзависимого метаболизма (спонтанный и индуцированный НСТ - тест), лизосомальной и энзиматической активности (миелопероксидаза, сукцинатдегидрогеназа).

3.1. Содержание клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Макрофаги, наряду с другими клетками иммунной системы, составляют весомую составляющую защиты организма от различных внешних воздействий. В механизмах врожденного иммунитета огромная роль принадлежит неспецифической резистентности, которая является одной из важнейших функциональных систем организма, определяющей уровень его устойчивости к факторам внешней и внутренней среды (Пауков В.С., 2005; Павлов В.А. с соавт., 2011; Danilenko D.M., 1995). Именно от уровня развития и качества механизмов неспецифической резистентности зависит уровень устойчивости макроорганизма.

Общеизвестно, что, мигрируя из кровяного русла в ткани, моноциты трансформируются в макрофаги (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). Причем, интересным является факт, что независимо от локализации макрофаги заселяют органы и ткани повсеместно, вместе с тем адаптируясь к новому микроокружению, приобретают новые неоднородные в функциональном отношении свойства. Перемещаясь в различные ткани, макрофаги вступают на путь морфологической и функциональной перестройки, доходя до состояния высокодифференцированного тканеспецифичного макрофага. Поступление циркулирующих мононуклеаров в ткани и их преобразование в макрофаги идет непрерывно как в норме, так и при патологии (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983).

В то же время, изучая определенный пул макрофагов или их предшественников, невозможно в полной мере оценить функциональный статус макрофагальной системы в целом, поскольку она крайне динамична. Активируясь и становясь тканевыми макрофагами, клетки помимо общих свойств, приобретают и специализированные функции, определяющиеся той средой, в которую они попали. При изменении количественных параметров мононуклеаров одного компартмента активизируются процессы миграции их прекурсоров костномозговой локализации (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983).

Вместе с тем, свободные макрофаги могут перемещаться не только в пределах конкретного органа, но и из одной системы в другую, соответственно, меняя количественное соотношение компонентов всей системы в целом (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Брюхин Г.В., 1994; Грачев А.Ю., 1994; Грачев А.Ю., Брюхин Г.В., 2004; Голохваст К.С., Чайка В.В., 2011). Однако большее количество тканевых макрофагов сосредоточенно именно в печени и достигает 80-90% (Bouwens L., 1986). Было выявлено, что при развитии инфекционного процесса в легочной ткани количество макрофагов резко возрастает за счет активации приспособительных механизмов и перераспределения клеток – усиления моноцитопоэза в костном мозге и притока

моноцитов периферической крови (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). Поэтому для оценки адекватности и эффективности иммунных процессов макроорганизма, спровоцированных каким-либо патологическим процессом, необходимым является полный анализ макрофагальной системы. В связи с вышеизложенным, особенно важным является комплексный подход к изучению функциональной активности системы мононуклеарных фагоцитов, что достигается путем исследования как моноцитов периферической крови, так и тканевых макрофагов различных компартментов.

Таблица 2 – Количественная оценка перитонеальных и альвеолярных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального развития

Группа День	Количество клеточных элементов СМФ в единице объема									
	Перитонеальные макрофаги (×10⁶/1мл)					Альвеолярныемакрофаги(×10⁶/орган)				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	3,86 (3,04-4,68)	4,04 (3,39-4,69)	5,97 (5,56-6,38)	10,65 (9,71-11,59)	12,31 (10,21-14,41)	0,91 (0,68-1,14)	1,86 (1,0-2,72)	3,47 (2,94-4,0)	5,79 (5,24-6,06)	6,66 (6,19-7,13)
О1	1,62* (1,17-2,07)	2,25* (1,62-2,88)	2,85* (1,91-3,79)	5,69* (5,06-6,32)	7,39* (6,9-7,88)	0,16* (0,08-0,24)	0,99 (0,78-1,2)	1,99* (1,66-2,32)	2,05* (1,62-2,48)	3,5* (3,09-3,91)
О2	2,13* (1,58-2,68)	3,09* (2,97-3,21)	3,91* (3,44-4,38)	7,15* (5,7-8,6)	9,55* (9,1-10,0)	0,24* (0,12-0,36)	1,17* (1,09-1,25)	2,03* (1,7-2,36)	2,06* (1,67-2,45)	4,06* (3,87-4,26)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Нами в условиях эксперимента были исследованы группы клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов, а именно ее циркулирующее

звено – моноциты периферической крови, а также их «преемники» - макрофаги различных органов и полостей, в том числе брюшной полости, печени, легких.

Количество макрофагов брюшной полости подсчитывали в 1 мл перитонеального экссудата, число легочных макрофагов оценивали путем расчета на массу органа (Маянский Д.Н., Цырендоржиев Д.Д., 1989). Содержание моноцитов периферической крови определяли на 1 мл крови (Фримель Г., 1987). Количество печеночных макрофагов изучали из расчета на массу органа и массу навески.

В результате исследования было установлено, что во всех изучаемых группах количество фагоцитирующих клеток различных компартментов постепенно увеличивается пропорционально сроку постнатального онтогенеза и достигает максимума к периду половой зрелости (таблица 2, 3).

Таблица 3 – Количественная оценка моноцитов периферической крови и печеночных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального развития

Группа День	Количество клеточных элементов СМФ в единице объема									
	Моноциты крови (×10⁵/1мл)					Печеночные макрофаги (×10⁶/орган)				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	2,65 (2,2-3,1)	3,53 (2,53-4,53)	3,94 (3,49-4,39)	5,86 (5,19-6,53)	6,67 (6,06-7,28)	6,03 (5,56-6,5)	6,54 (5,17-7,91)	8,55 (7,34-9,76)	11,93 (11,5-12,36)	12,65 (11,42-13,88)
О1	1,03* (0,78-1,28)	2,34 (1,91-2,77)	2,56 (1,95-3,17)	2,81* (2,42-3,2)	3,63* (3,26-4,0)	10,32* (9,38-11,26)	11,9* (10,67-13,13)	14,23* (13,33-15,13)	17,68* (16,11-19,25)	19,6* (18,31-20,89)
О2	1,15* (0,76-1,54)	2,68 (2,17-2,19)	3,07* (2,86-3,28)	3,73* (2,97-4,49)	4,2* (3,79-4,61)	10,09* (7,82-12,36)	13,79* (12,26-15,32)	15,75* (14,61-16,89)	18,31* (17,23-19,39)	18,88* (16,84-20,92)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

При оценке влияния заболеваний гепатобилиарной системы матери на реактивность и резистентность потомства было выявлено угнетение содержания моноцитов крови, а также перитонеальных и альвеолярных макрофагов у крысят, рожденных от самок с экспериментальным поражением печени, в сравнении с интактными животными (таблица 2, 3).

Не подлежит сомнению, что образуемые в костномозговых резервах моноциты расходуются на поддержание метаболического гомеостаза и защиту макроорганизма от чужеродных агентов. Причем от активности моноцитопоэза в костном мозге зависит не только число образуемых моноцитов циркулирующей крови, но и фагоцитирующих тканевых макрофагов (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). При моделировании хронического гепатита у самок крыс происходит системное нарушение процессов жизнеобеспечения что проявляется, в том числе, угнетением костномозгового кроветворения (Брюхин Г.В., Невзорова Н.В., 2013): нарушение дифференцировки и созревания клеток-предшественников, в частности, моноцитарного пула, проявляющееся качественными и количественными нарушениями. Угнетение миелоидного ростка в костном мозге, как следствие, приводит к нарушению метаболической активности моноцитов периферической крови и снижению их защитных механизмов (Брюхин Г.В., 1994; Грачев А.Ю., 1994; Грачев А.Ю., Брюхин Г.В., 2004; Брюхин Г.В., Невзорова Н.В., 2013; Брюхин Г.В., Шаврина Е.Ю., 2013).

Это согласуется с экспериментальными результатами, полученными нами при изучении содержания мононуклеаров различных компартментов. Так установлено (табл. 3, 4), что у подопытных животных обеих экспериментальных групп имеет место тенденция к снижению количества моноцитов периферической крови, выражающаяся в закономерном уменьшении содержания их на всех сроках постнатального развития. Эти данные сопровождаются достоверным угнетением числа зрелых перитонеальных и альвеолярных макрофагов.

Анализируя данные, полученные при изучении количественных показателей клеток Купфера, отмечается иная закономерность. Содержание печеночных

макрофагов у крысят, рожденных от самок с лекарственным гепатитом, возрастает по сравнению с крысятами интактной группы. Объяснением этому феномену могут служить несколько моментов. При моделировании поражения печени возникает сверхнагрузка, активируются все резервные возможности для преодоления патологического состояния. В это же время плод испытывает повышенную нагрузку на печень (Брюхин Г.В., 1994; Евченко Е.В., 2001), вследствие чего количество клеток Купфера повышается (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Лукина Е.А., 1999).

Данные изменения направлены на активацию защитных механизмов, которые могут восполнить образующийся функциональный дефицит и усилить секрецию биологически активных веществ – цитокинов, активных форм кислорода, ферментов, а также фагоцитарную реакцию печеночных макрофагов (Racanelli V., 2006; Gao B., 2008).

В то же время, имеются данные о том, что пул резидентных макрофагов печени может пополняться и из других источников, например, мигрировать из селезенки. Описано также перемещение в печень внутривенно введенных перитонеальных и альвеолярных макрофагов (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983).

Таким образом, у потомства самок крыс с поражением гепатобилиарной системы наблюдается перераспределение мононуклеарных фагоцитов, проявляющееся, с одной стороны, в снижении содержания тканевых макрофагов (перитонеальных, альвеолярных) и их прямых предшественников (циркулирующих моноцитов), а с другой, в увеличении количества клеток Купфера печени. Такое изменение соотношения клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов у потомства, возможно, связано с повреждением клеток печени у потомства, одновременно сопровождающимся повышенной «инфильтрацией» печеночными макрофагами.

Экспериментальные данные, полученные нами в ходе оценки количественного состава моноцитов периферической крови, а также тканевых

макрофагов различных компартментов, тесно согласуются с результатами ряда авторов, изучавших содержание различных клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов в условиях патологии. Так многочисленными исследованиями было выявлено, что количество циркулирующих или тканевых мононуклеаров возрастает при различных патологических процессах, таких как наружный генитальный эндометриоз (Павлов Р.В., Сельков С.А., 2008), рак толстой кишки (Жарков Н.В. с соавт., 2010), рак молочной железы (Ромашкина М.В., Трофимов В.А., 2008), абсцесс мягких тканей (Пауков В.С. с соавт., 2005), пневмония (Федорова О.И. с соавт., 2011), хроническая обструктивная болезнь легких (Рекалова Е.М., 2012), асептическое и стафилококковое воспаление (Третьякова Е.И. с соавт., 2003). Повышенное содержание макрофагов выявлено также в очаге витилиго (Жульмина В.В. с соавт., 2012), при аллотрансплантации (Мусина Л.А.с соавт., 2006), экспериментальной частичной гепатэктомии (Шкурупий В.А. с соавт., 2008) и в условиях вторичного иммунодефицита (Мусаев А.В. с соавт., 2005).

Данные результаты позволяют судить об активации иммунной системы в ответ на воздействие какого-либо раздражителя, и, прежде всего, активизации мононуклеарных фагоцитов, как одной из основных систем неспецифической резистентности (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Пауков В.С., 2005).

В противовес вышеизложенному, имеется целый ряд исследовательских материалов, демонстрирующих противоположную тенденцию. Так в работах Фещенко Ю.И. (2002), Филоненко Т.Г. (2011), Дубровского А.С. (2013) было показано, что количество альвеолярных макрофагов находится в обратной зависимости от тяжести течения и степени прогрессирования туберкулеза и значительно снижено в неактивных гранулемах фиброзно-кавернозного туберкулеза и пневмоцистозе на фоне хронических неспецифических заболеваний легких. Также было установлено снижение содержания клеток Купфера у крыс при токсическом гепатите (Медведева С.Ю., 2010), уменьшение количества моноцитов периферической крови при сепсисе (Зурочка А.В., 2008),

перитонеальных макрофагов при термических ожогах кожи (Шевченко Н.И., 2012).

Система мононуклеарных фагоцитов крайне активно реагирует на патологическое воздействие, являясь при этом регулирующим звеном различных уровней взаимодействия (Пауков В.С. с соавт., 2005). Независимо от изменений, происходящих на уровне фагоцитирующих мононуклеаров, они всегда являются частью иммунной защиты и способствуют активизации резервных возможностей организма. Система мононуклеарных фагоцитов является так называемой «столбовой дорогой» в процессе адаптации организма к повреждающему фактору любой природы (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983).

Таким образом, при изучении влияния лекарственных гепатитов на становление СМФ потомства было выявлено снижение числа клеточных элементов всех изучаемых компартментов, за исключением клеток Купфера, что может быть проявлением неспецифической защитной реакции в ответ на нарушение условий внутриутробного развития.

3.2. Поверхностный рецепторный аппарат клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Одним из необходимых условий для адекватного функционирования мононуклеарных фагоцитов является распознавание чужеродных частиц и макромолекул, осуществляемое путем специфического взаимодействия их с помощью высокоактивного поверхностно – рецепторного аппарата (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Глебов Р.Н., 1987; Пинегин Б.В., Карсонова М.И., 2009; Mitsuko T., Harunori I., 1992).

Перемещение в биологической мембране специфических белков – рецепторов и молекул адгезии способствует быстрому взаимодействию их с фагоцитируемым объектом, тем самым создаются оптимальные условия для

становления мононуклеаров на путь активации и участия в процессах межклеточной кооперации (Земсков В.М., Субботин С.М., 1990; Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н., 1991). Причем, чем более выражено сродство спектра рецепторов адгезии к клетке – мишени, тем активнее протекает процесс узнавания.

На плазматической мембране макрофагов содержатся рецепторы адгезии, включающие 3 основные группы (Gordon S., Taylor P.R., 2005), в том числе фагоцитарные рецепторы, способные к распознаванию опсонизированных и неопсонизированных бактерий, а также нефагоцитарные поверхностные рецепторы. По принадлежности все адгезивные молекулы относятся к семейству иммуноглобулинов и интегринов и включают адгезины типа C3bi-рецептора, а также гликопротеины Mac-1, p-150, p95, LFA-1, кадгерины, селектины и муцины, принимающие непосредственное участие в процессе распознавания и нередко подвергаются патологическим изменениям (Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н., 1991; Anderson D.C., 1987; Lessey, B.A., 2002). Взаимодействуя с мишенью, молекулы клеточной адгезии не просто механически улавливают «нужный» лиганд, а запускают процесс межклеточной сигнализации, активность которого зависит от степени экспрессии молекул адгезии. Такое сложное взаимодействие адгезивных молекул с субстратом лежит в основе многих воспалительных процессов, а также в основе тромбообразования (Воронина Е.Н., Филипенко М.Л. с соавт., 2006; Ашкинази В.И., Маянская И.В. с соавт., 2013). Именно поэтому дисфункция рецепторного аппарата клеточных элементов, ответственных за естественную резистентность, может приводить к развитию заболеваний и нарушению функционирования всего организма в целом.

Оценка рецепторного аппарата макрофагов различных компартментов у экспериментальных животных проводилась нами с помощью адгезивного теста и теста распластывания на чистой стеклянной поверхности через 30 и 60 минут инкубации (рисунок 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, таблица 4, 5, 6, 7).

Нами установлено, что у всех экспериментальных животных адгезивные свойства макрофагов различных компартментов после рождения постепенно

увеличиваются, о чем свидетельствует повышение процентного содержания клеточных элементов, подвергшихся адгезии через 30 минут инкубации (таблица 4, 5). Обращает на себя внимание, что на всех сроках исследования (1, 15, 30, 45, 60-ый день постнатального развития) у подопытных животных число адгезировавших клеток снижено по сравнению с контролем. Аналогичная закономерность выявлена при оценке адгезивных свойств клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов через 60 минут инкубации (таблица 6, 7).

Таблица 4 – Адгезивные свойства клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов после 30-минутной инкубации у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального онтогенеза

	Содержание клеточных элементов, подвергшихся адгезии, %									
	Перитонеальные макрофаги					Альвеолярные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	34,8 (28,98-40,62)	41,9 (36,02-47,78)	49,04 (39,18-58,9)	66,16 (58,5-73,82)	75,97 (70,33-81,61)	37,95 (31,8-44,1)	39,03 (34,41-43,65)	40,77 (36,24-45,3)	49,21 (40,63-57,79)	52,63 (43,18-62,08)
О1	20,55* (16,16-24,94)	25,22* (22,5-27,94)	26,33* (23,57-29,09)	30,11* (24,56-35,66)	34,42* (27,09-41,75)	22,39* (17,24-27,54)	23,67* (20,01-27,33)	26,46* (23,09-29,83)	27,95* (17,13-38,77)	30,5* (22,86-38,14)
О2	17,33* (11,22-23,44)	26,55* (22,6-30,49)	40,89 (33,09-48,69)	49,51* (41,93-57,09)	48,11* (43,23-52,99)	20,54* (13,27-27,81)	27,6* (23,23-31,97)	35,15 (29,35-40,95)	33,7* (29,64-37,76)	38,74* (35,25-42,23)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Оценка интенсивности распластывания макрофагов различных компартментов экспериментальных животных позволила выявить следующую закономерность.

Таблица 5 – Адгезивные свойства клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов после 30-минутной инкубации у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального онтогенеза

	Содержание клеточных элементов, подвергшихся адгезии, %									
	Моноциты крови					Печеночные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	36,85 (30,83-42,87)	41,14 (33,77-48,51)	43,05 (37,07-49,03)	50,24 (47,07-53,41)	55,27 (45,55-64,99)	20,33 (15,55-25,11)	24,56 (19,76-29,36)	25,32 (21,58-29,06)	33,56 (28,35-38,77)	41,06 (36,89-45,23)
О1	21,54* (18,52-24,56)	24,22* (19,54-28,9)	25,39* (19,43-31,35)	30,74* (26,59-34,89)	32,93* (24,64-41,22)	13,72 (9,86-17,58)	15,03* (10,99-19,07)	14,92* (13,2-16,64)	18,36* (14,52-22,2)	24,2* (21,61-26,79)
О2	18,36* (11,46-25,26)	15,78* (11,0-20,56)	24,57* (19,28-29,86)	32,06* (25,18-38,94)	40,52* (33,84-47,2)	16,56 (15,13-17,99)	17,51* (16,1-18,92)	17,14* (15,26-19,02)	23,55* (20,94-26,16)	27,9* (24,22-31,58)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

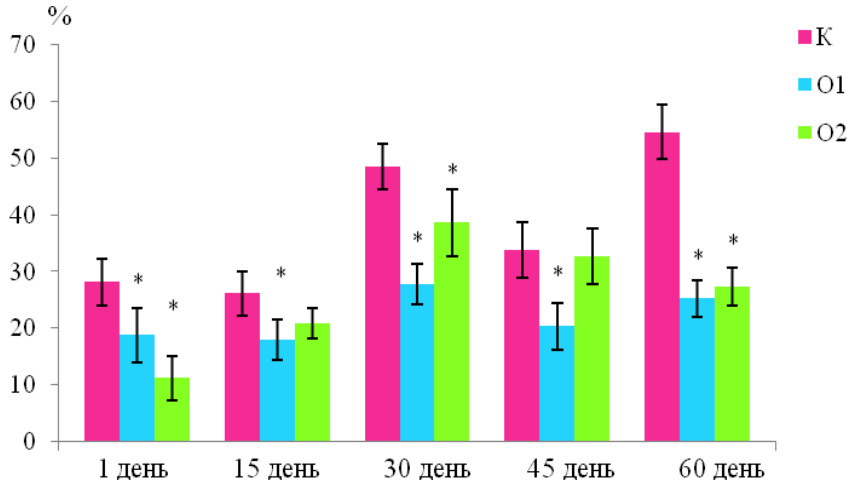

Рисунок 27 – Распластывание перитонеальных макрофагов после 30 – минутной инкубации в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Таблица 6 – Адгезивные свойства клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов после 60-минутной инкубации у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального онтогенеза

	Содержание клеточных элементов, подвергшихся адгезии, %									
	Перитонеальные макрофаги					Альвеолярные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	49,9 (43,73-56,07)	63,78 (58,02-69,54)	62,53 (58,98-66,08)	77,51 (70,45-84,57)	87,19 (82,41-91,97)	47,81 (39,89-55,73)	49,98 (43,32-56,64)	58,35 (49,33-67,37)	60,78 (53,43-68,13)	78,84 (69,79-87,89)
О1	32,1* (27,59-36,61)	45,93* (39,97-51,89)	45,58* (39,56-51,6)	48,77* (42,75-54,79)	61,22* (57,75-64,69)	21,35* (18,78-23,92)	35,46* (30,54-40,38)	40,7* (36,76-44,64)	43,54* (37,27-49,81)	45,16* (40,87-49,45)
О2	35,17* (28,55-41,79)	40,68* (34,96-46,4)	48,17* (42,72-53,62)	59,22* (52,87-65,57)	60,23* (53,94-66,52)	29,45* (23,71-35,19)	40,42 (32,64-48,2)	44,43 (38,41-50,45)	40,67* (35,24-46,1)	59,64* (55,98-63,3)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

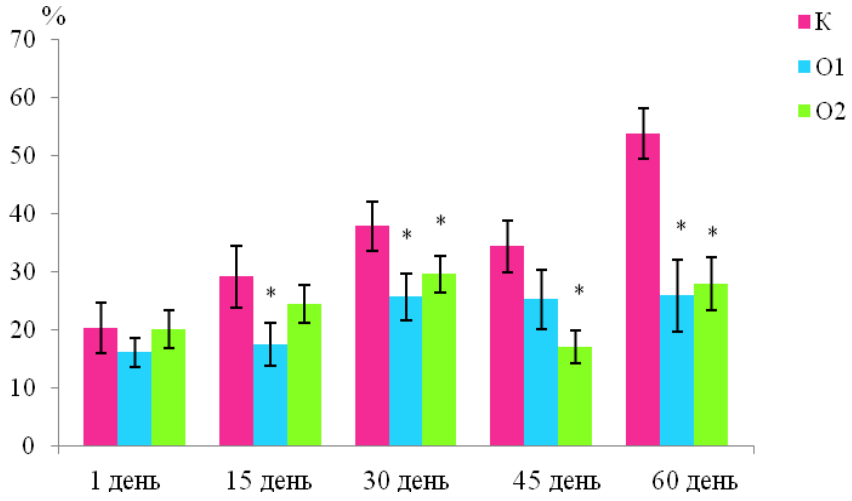

Рисунок 28 – Распластывание альвеолярных макрофагов после 30 – минутной инкубации в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Таблица 7 – Адгезивные свойства клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов после 60-минутной инкубации у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального онтогенеза

	Содержание клеточных элементов, подвергшихся адгезии, %									
	Моноциты крови					Печеночные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	40,98 (32,71-49,25)	46,73 (41,26-52,2)	60,25 (54,86-65,64)	67,96 (63,2-72,72)	69,29 (63,16-75,42)	32,37 (26,26-38,48)	31,51 (24,34-38,68)	39,26 (32,22-46,3)	45,19 (40,47-49,91)	59,63 (28,12-86,68)
О1	25,92* (19,18-32,66)	24,65* (19,81-29,49)	29,44* (23,19-35,69)	40,17* (34,62-45,72)	39,75* (34,18-45,32)	17,12* (10,54-23,7)	18,75* (14,13-23,37)	20,12* (14,73-25,51)	24,87* (18,85-30,89)	28,12* (19,97-36,27)
О2	22,87* (14,36-31,38)	26,55* (24,65-28,45)	40,61* (35,87-45,35)	42,85* (36,03-49,67)	46,38* (43,15-49,61)	20,54* (15,66-25,42)	18,31* (15,19-21,43)	23,86* (21,23-26,49)	29,61* (26,04-33,18)	33,26* (29,38-37,14)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Число клеток системы мононуклеарных фагоцитов, подвергшихся распластыванию через 30 и 60 минут инкубации, у интактных животных после рождения постепенно возрастает и достигает максимальных значений к периоду половой зрелости. У животных опытной группы 1 количество распластанных перитонеальных макрофагов возрастает до периода полового созревания, а затем снижается, а к периоду половой зрелости вновь несколько повышается.

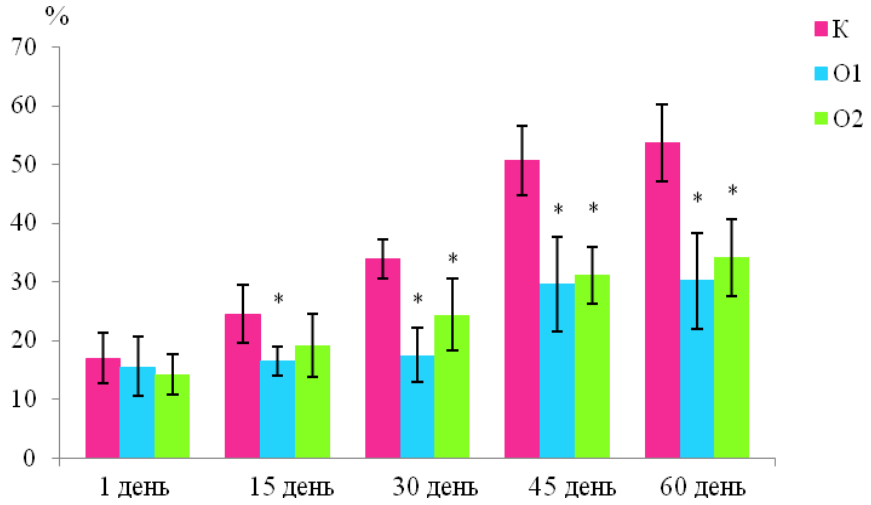

Рисунок 29 – Распластывание моноцитов периферической крови после 30 – минутной инкубации в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Аналогичная закономерность выявлена и у альвеолярных макрофагов животных этой группы. Снижение исследуемого показателя также было выявлено у печеночных макрофагов 45-ти дневных животных данной группы.

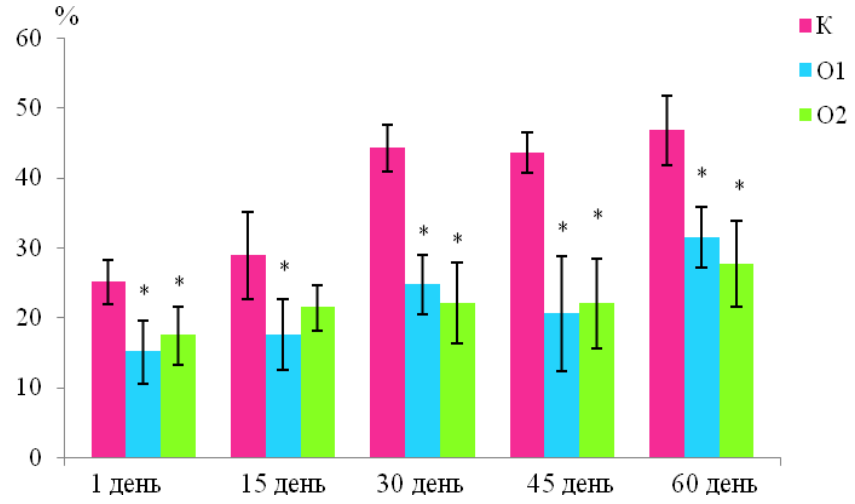

Рисунок 30 – Распластывание печеночных макрофагов после 30 – минутной инкубации в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

При этом количество моноцитов, подвергшихся распластыванию у данной группы животных, постепенно возрастает с периода новорожденности и достигает максимального значения на 60-ый день наблюдения. Аналогичная закономерность (рисунок 27, 28, 29, 30) выявлена у животных опытной группы 2.

Снижение числа распластанных макрофагов у подопытных 45-ти дневных животных, возможно, обусловлено изменением гормонального фона в начале периода полового созревания (Лебедько О.А. с соавт., 2011). Обращает на себя внимание, что на всех сроках исследования число распластанных клеток системы мононуклеарных фагоцитов через 30 минут инкубации у подопытных животных снижено по сравнению с группой контроля.

При анализе способности клеток к распластыванию через 60 минут инкубации, нами установлено, что данный показатель у всех исследуемых макрофагов интактных животных после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости (рисунок 31, 32, 33, 34).

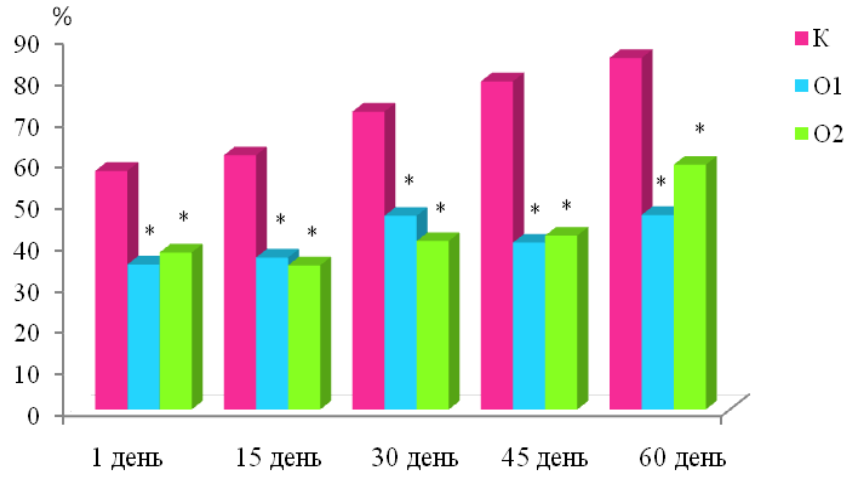

Рисунок 31 – Распластывание макрофагов перитонеального экссудата после 60 – минутной инкубации в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Исключение составили моноциты периферической крови на 30-ый день постнатального развития, когда число распластанных клеток существенно

снизилось до уровня более низкого, чем в период новорожденности. У животных опытной группы 1 отмечается постепенное увеличение числа распластанных перитонеальных, альвеолярных и печеночных макрофагов с периода новорожденности до 60 дня постнатального онтогенеза. Исключение составили перитонеальные и альвеолярные макрофаги 45-ти дневных крысят опытной группы 1, у которых отмечается снижение исследуемого показателя.

Количество моноцитов, подвергшихся распластыванию через 60 минут инкубации у крысят опытной группы 1 постепенно увеличивается до 45 дня постнатального развития и стабилизируется.

У подопытных животных группы 2 число распластанных перитонеальных и альвеолярных макрофагов постепенно увеличивается и достигает максимального значения к 60-му дню наблюдения. При этом исключение составили 15-ти дневные крысята, у которых число исследуемый показатель оказался сниженным по сравнению с периодом новорожденности и альвеолярные макрофаги 45-ти дневных крысят, у которых показатель распластывания снизился по сравнению с началом периода полового созревания.

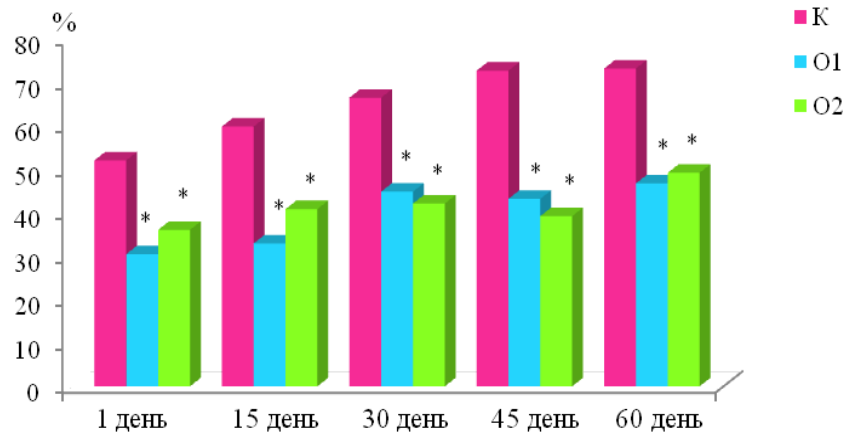

Рисунок 32 – Распластывание легочных макрофагов после 60 – минутной инкубации в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

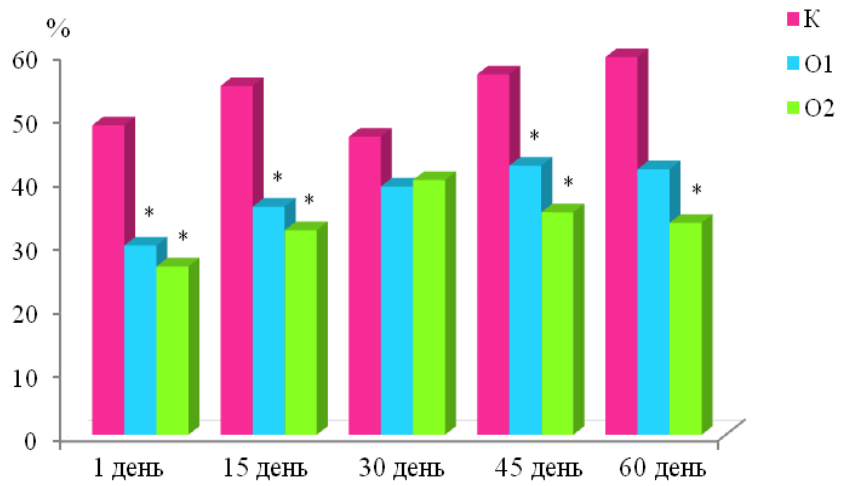

Рисунок 33 – Распластывание моноцитов периферической крови после 60 – минутной инкубации в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Какой-либо закономерности в изменении теста распластывания печеночных макрофагов у крысят опытной группы 2 через 60 минут инкубации нам выявить не удалось (рисунок 34). Число распластанных моноцитов у данной группы животных после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения к началу периода полового созревания, после чего отмечается снижение исследуемого показателя.

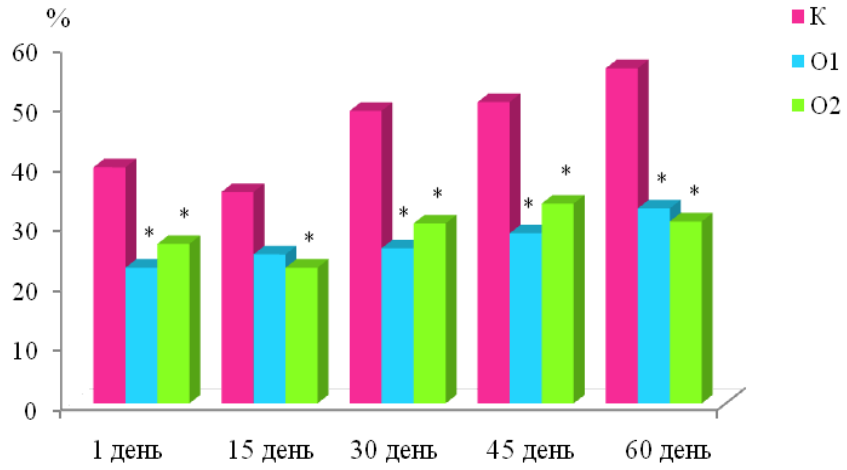

Рисунок 34 – Распластывание макрофагов печени после 60 – минутной инкубации в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Процесс адгезии чувствителен ко многим факторам и определяется не только активностью мембранных рецепторов, но и условиями проведения исследования. Так установлено, что перитонеальные макрофаги в большей степени адгезируются на пластиковом субстрате, чем на стекле (Шаронов А.С., Храмова И.А. с соавт., 2005). Имеются данные (Старикова Э.А., Лебедева А.М. с соавт., 2010; Ancuta P., Rao R. et al., 2003), указывающие на зависимость активности адгезии от субпопуляции моноцитов. При этом установлено, что моноциты $CD14^{+}CD16^{+}$ обладают большей адгезивностью к клеткам эндотелия, чем моноциты $CD14^{++}CD16^{-}$. Кроме того, адгезивные свойства обеих субпопуляций моноцитов возрастали при воздействии на них TNFα.

Неоднозначные результаты были получены при исследовании адгезивного теста в условиях воспалительного процесса (Храмова И.А., Кольцов И.П. с соавт., 2010). Так острое течение метроэндометрита и сальпингоофорита сопровождалось повышением показателя адгезии, а хроническое, напротив, низкими величинами данного теста, что, вероятнее всего, было связано со степенью активности моноцитарно-макрофагальной системы при различном течении процесса.

В результате изучения функциональной активности нейтрофилов и макрофагов мышей при воздействии на них фосфорорганических соединений было установлено достоверное снижение адгезивной активности исследуемых клеток (Запорожец Т.С., Иванушко Л.А. с соавт., 2013).

Связываясь с субстратом-мишенью, макрофаги незамедлительно начинают экспрессировать мембранные молекулы адгезии, запуская сложный процесс метаболической перестройки и активации. Известно, что адгезия фагоцитов сопровождается респираторным «взрывом», активацией пентозофосфатного пути (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Крюков А.А., Семенкова Г.Н. с соавт., 2006) и повышением концентрации интрацеллюлярного Ca^{2+} (Thelen M. et al., 1993). Именно высвобожденные из депо ионы Ca^{2+} активируют адгезивную способность клеток посредством улучшения функционирования сократительного

аппарата, быстрого транспорта рецепторов для связывания с лигандом (Tscharner V., Prodhom B. et al., 1986).

Абсолютно точно известно, что процесс адгезии и распластывания фагоцитов напрямую зависят от адекватного функционарования аппарата цитоскелета (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Myers K.R., Casanova J.E., 2008). При этом взаимодействие клетки-мишени с мембранными рецепторами стимулирует активацию цитоплазматического сигнального пути фагоцита и способствует активации аппарата цитоскелета (Цаплина О.А., 2013). Так, на начальном этапе адгезивного процесса происходит стимуляция полимеризации и увеличение длины актиновых микрофиламентов в кортикальном слое плазмолеммы, один из концов которых укреплен на адгезивных контактах благодаря «якорным» белкам интегринам (Bershadsky A., Kozlov M. et al., 2006). Под влиянием достаточной внутриклеточной концентрации Ca^{2+} возникает сокращение актомиозинового комплекса, возрастает гидростатическое давление, активируется фосфорилирование белков. Все это способствует быстрому образованию выростов биологической мембраны, которые захватывают субстрат-мишень (Cossart P., Sansonetti P.J., 2004).

Одновременно с этим можно предположить, что в результате возникающей в организме матери интоксикации при моделировании лекарственных гепатитов, токсичные продукты метаболизма оказывают действие на гемато-плацентарный барьер и беспрепятственно могут проникать в организм плода, вызывая дезорганизацию его систем жизнеобеспечения (Савченков Ю.И., Лобынцев К.С., 1980; Шехтман М.М., 1987; Медведь В.И., 2007). В частности, при моделировании поражения гепатобилиарной системы матери у потомства, вероятно, наблюдается повреждение компонентов цитоскелета (Брюхин Г.В., 2000), в том числе микрофиламентов и актомиозиновых комплексов.

Таким образом, исследование рецепторного аппарата макрофагов различных компартментов потомства самок крыс с лекарственным поражением

печени в адгезивном тесте и тесте распластывания позволило констатировать снижение экспрессии адгезивных молекул на их поверхности.

3.3. Лизосомальная активность клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Основу неспецифической защиты организма, безусловно, составляет высокая фагоцитарная активность клеток, ее обеспечивающих. Огромная роль в процессе фагоцитоза отводится лизосомам (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983), участвующим в кислороднезависимых механизмах бактерицидности (Хидирова Л.Д., Маянская Н.Н., 2012). Более того, лизосомы обеспечивают сегрегационную функцию, участвуют в репарации цитоплазматических структур, а также в синтезе ряда гормонов (Древаль А.В., Марченкова Л.А., 1999; Zanotti S., Fisseler-Eckhoff A. et al., 2003). Кроме того, лизосомальный аппарат принимает активное участие в процессе деления и дифференцировки клеток (Покровский А.А., Тутельян В.А., 1976). Процесс фагоцитоза является чувствительным ко многим факторам экзогенной и эндогенной природы, однако в большей степени завершенность фагоцитоза определяется именно функциональным состоянием лизосомальных гранул, богатых гидролитическими ферментами. Именно от активности лизосомальных энзимов зависит, насколько эффективно факторы неспецифической защиты смогут противостоять патологическому процессу.

Оценка лизосомального аппарата макрофагальных клеток различных компартментов экспериментальных животных проводилась нами по общепринятой методике с использованием акридинового оранжевого (Фрейдлин И.С., 1976).

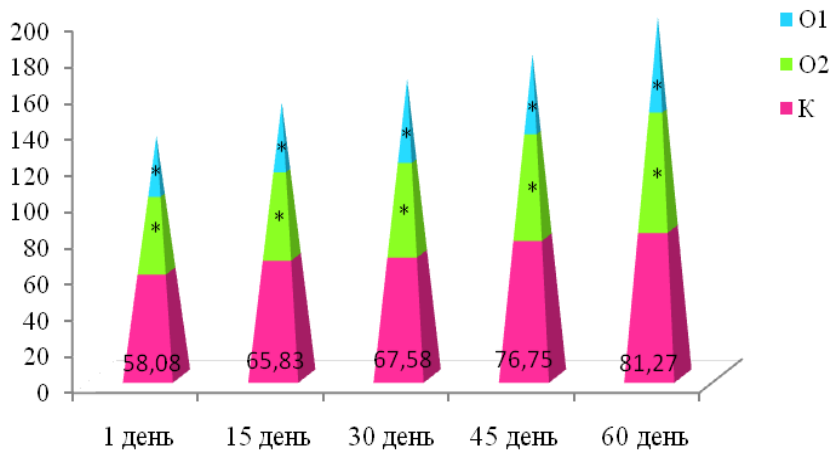

Рисунок 35 – Количество акридиноранжпозитивных макрофагов перитонеального экссудата в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Нами установлено, что у животных всех экспериментальных групп количество акридиноранжпозитивных клеток среди перитонеальных, альвеолярных, печеночных макрофагов и моноцитов периферической крови после рождения постепенно увеличивается и достигает максимальных значений к периоду половой зрелости.

Исключение составили перитонеальные макрофаги у 45-ти дневных крысят и моноциты 60-ти дневных крысят опытной группы 1, у которых произошло снижение исследуемого показателя по сравнению соответственно с 30 и 45 днем постнатального периода (рисунок 35, 37). Обращает на себя внимание, что на всех сроках исследования число акридиноранжпозитивных клеток среди исследуемых клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов у подопытных животных обеих групп снижено по сравнению с контролем.

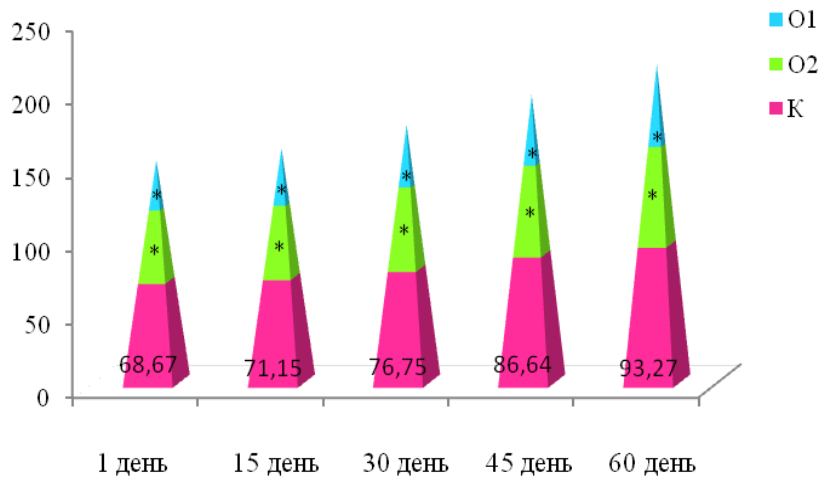

Рисунок 36 – Количество акридиноранжпозитивных альвеолярных макрофагов в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

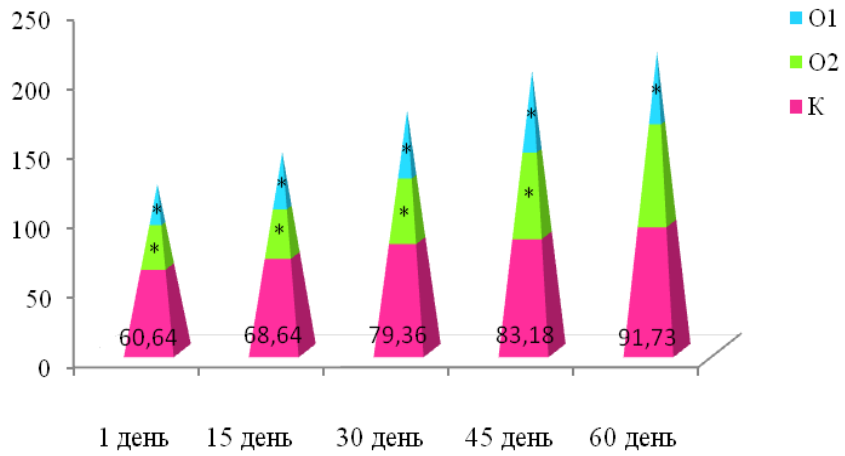

Рисунок 37 – Количество акридиноранжпозитивных моноцитов периферической крови в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Нами установлено (рисунок 39, 40, 41, 42), что у интактных крысят СЦК лизосомальной активности в перитонеальных, альвеолярных, печеночных макрофагах и моноцитах периферической крови постепенно увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости.

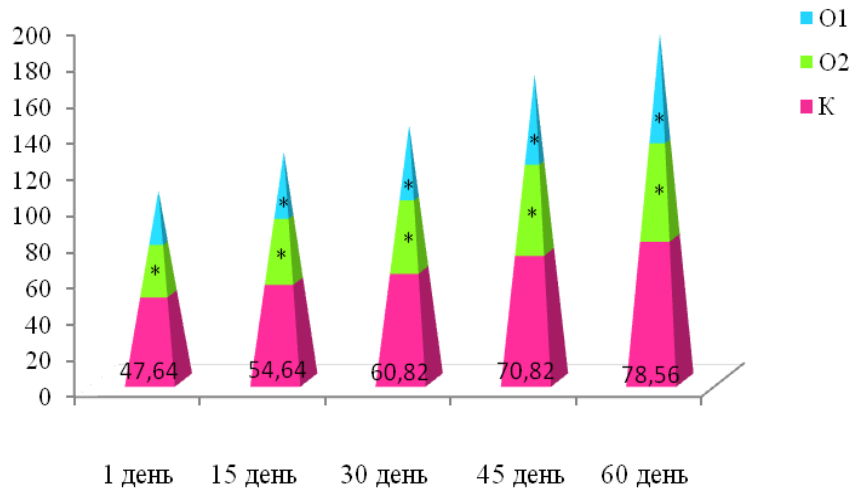

Рисунок 38 – Количество акридинораижпозитивных печеночных макрофагов в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

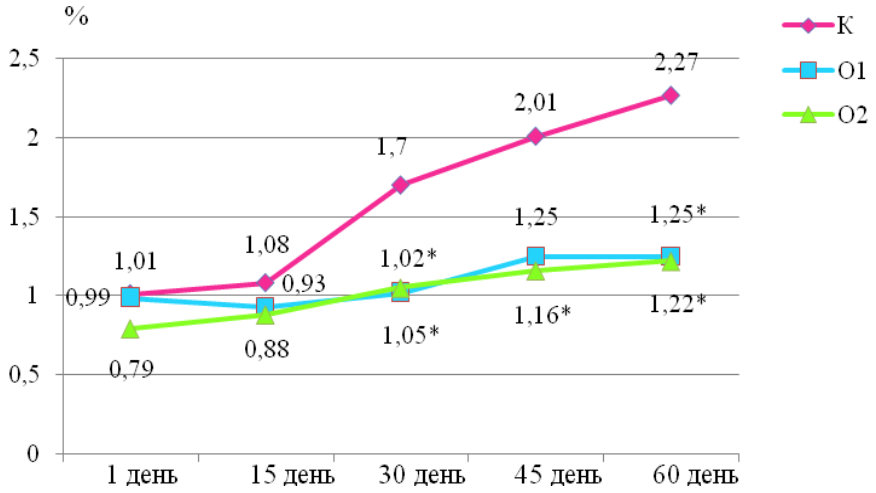

Рисунок 39 – СЦК лизосомальной активности перитонеальных макрофагов в различные периоды постнатального развития (p<0,05).

У животных опытной группы 1 СЦК лизосомальной активности в перитонеальных и альвеолярных макрофагах к 15-му дню постнатального развития снижается, а затем постепенно увеличивается к 45-му дню и стабилизируется (рисунок 39, 40). СЦК печеночных макрофагов крысят опытной группы 1 постепенно увеличивается и достигает максимальных значений к 60-му

дню. СЦК моноцитов периферической крови животных данной группы после рождения первоначально снижается, а затем постепенно увеличивается и достигает максимального значения к 60 дню развития.

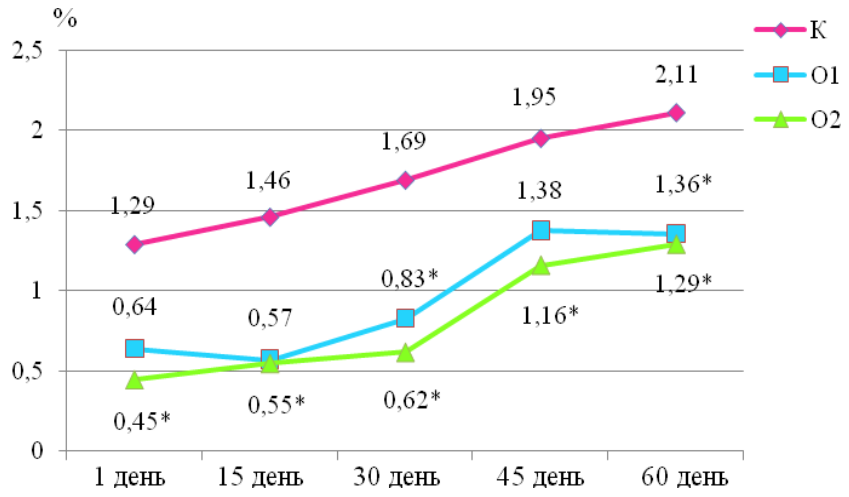

Рисунок 40 – СЦК лизосомальной активности альвеолярных макрофагов в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

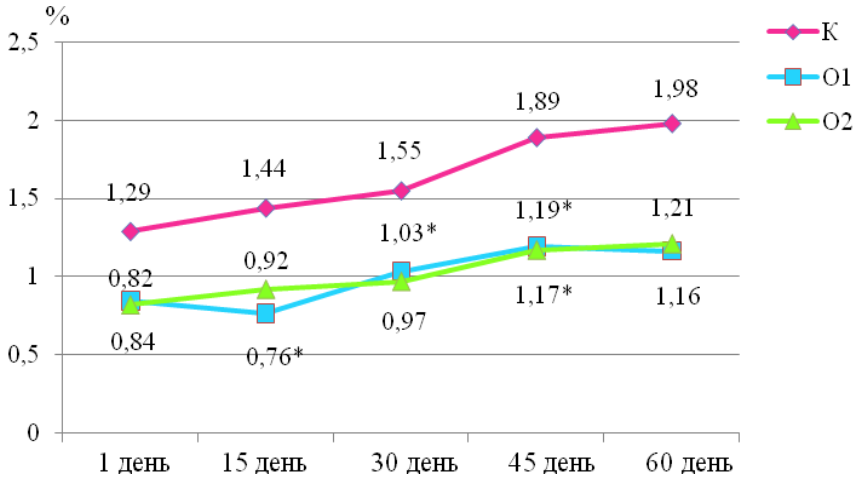

Рисунок 41 – СЦК лизосомальной активности моноцитов периферической крови в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

У животных опытной группы 2 СЦК лизосомальной активности у всех исследуемых групп постепенно увеличивается с периода новорожденности и достигает максимального значения к периоду половой зрелости. На всех сроках исследования СЦК лизосомальной активности перитонеальных, альвеолярных, печеночных макрофагов и моноцитов периферической крови крысят обеих подопытных групп снижен по сравнению с контролем.

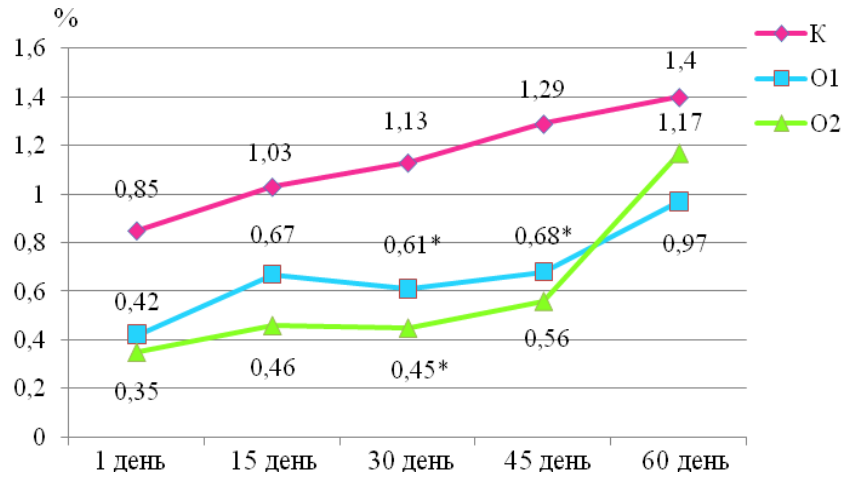

Рисунок 42 – СЦК лизосомальной активности макрофагов печени в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Кроме того, лизосомальная активность тканевых макрофагов легких и перитонеального экссудата оказалась выше, чем в циркулирующих моноцитах крови, что согласуется с данными литературы (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Луговская С.А., 1997) указывающим на то, что именно зрелые специализированные макрофаги наиболее богаты лизосомами.

Таким образом, анализ полученных результатов данной серии исследований позволяет сделать заключение, что у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени имеет место снижение лизосомальной активности макрофагов различных компартментов (рисунок 43, 44).

Известно, что лизосомальные гранулы содержат целый спектр гидролитических ферментов, включая протеазы, гликозидазы, эстеразы, дефенсины. Однако ферментативный потенциал лизосомальных пузырьков реализуется в зависимости от состояния макроорганизма по-разному. При воздействии повреждающих факторов начинается немедленная миграция фагоцитов к очагу воспаления, при этом изменяется и функциональный потенциал клетки – в аппарате внутриклеточного пищеварения наблюдаются качественные и количественные преобразования, направленые на скорую «встречу» с патогеном. Имеются данные (Маянская Н.Н., Вохминцева П.В., 2005), указывающие на то, что выраженность энзиматической активности лизосом прямо пропорциональна силе провоцирующего агента. Так было выявлено, что при одновременном моделировании хронического алкогольного гепатита и экспериментальной пневмонии у крыс наблюдается снижение функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов, сопровождающееся повышением активности лизосомальных ферментов с усиленной секрецией их в системный кровоток. Также было показано усиление функциональной активности лизосомальной системы при экспериментальном панкреатите (Филипенко П.С., Ивченко Г.С., 2009), связанное с интенсификацией процесса перекисного окисления липидов с последующей дестабилизацией мембраны лизосом его продуктами.

Интересные данные были получены при исследовании лизосомального аппарата сократительных кардиомиоцитов (Романов Б.К., 2003). При этом была выявлена прямая корелляционная зависимость между активностью лизосомальной системы и перекисного окисления липидов клеток миокарда и содержанием в саркоплазме ионов Ca^{2+}, на основании чего было высказано предположение об участии ионов Ca^{2+} в процессе активации энзимов лизосом.

В противовес этому, неоднозначными оказались результаты анализа лизосомального теста при системной красной волчанке (Романова Н.В., Шилкина Н.П., 2005), продемонстрировавшие отсутствие достоверного изменения

лизосомальной активности макрофагов и нейтрофилов у данной группы пациентов, но, в то же время, наблюдалось повышение уровня кислой фосфотазы исследуемых клеточных элементов.

Уровень участия лизосомальных энзимов в воспалении зависит не только от состояния макроорганизма, он обусловлен также длительностью течения патологического процесса. Так при изучении лизосомальной системы больных хронической ишемической болезнью головного мозга (Щуковский Н.В., Шоломов И.И. с соавт., 2006) было выявлено увеличение содержания лизосом в гранулярных лейкоцитах, при инфаркте головного мозга – повышение экспрессии гидролитических ферментов во внеклеточное пространство, что косвенно позволяет судить об их участии в развитии патологических изменений.

В то же время при определении воздействия термолабильного энтеротоксина E. cloacae было показано увеличение лизосомной активности перитонеальных макрофагов на 1-ый день после заражения и резкое снижение – на 3-ий день. На 5-ый и 14-ый день количество гранул лизосом еще более снижалось (Ахтариева А.А., Долгушин И.И., 2006).

Общепринятым в настоящее время считается мнение о том, что любой патологический процесс сопровождается активацией активных форм кислорода, образованием свободных радикалов (Романова Н.В., 2005; Донцов В.И. с соавт., 2006; Божедомов В.А. с соавт., 2008). Однако избыточная их продукция способствует развитию оксидативного стресса (Khodr B., Khalil Z., 2001). Так при экспериментальном изучении болезни Паркинсона (Dehay B. et al., 2010) наблюдалось явление оксидативного стресса, вследствие чего происходило нарушение проницаемости лизосомальной мембраны, приводящее к нейродегенеративным изменениям и развитию клинических проявлений.

Чрезмерное образование с помощью НАДФН-оксидазы, ксантиноксидазы и митохондриальной цитохромоксидазы супероксидного радикала $^{*}O_2^-$, а также гипохлорита, образующихся благодаря химическим реакциям соответственно из НАДФН и перекиси водорода (Донцов В.И., Крутько В.Н., 2006), вызывают

быструю активацию фагоцитов, направленную на элиминацию возбудителя. Данные продукты с помощью различных механизмов взаимодействуют не только с компонентами чужеродного агента, но и с участками собственных биомембран. Например, радикал $^{*}OH$ проникает к гидрофобным хвостам липидного бислоя, взаимодействует с жирными кислотами с образованием липоперекисей, оказывающих, в конечном счете, повреждающее действие (Кузменко Д.И., 1999).

При моделировании лекарственного гепатита у матери возникает целый каскад событий, оказывающих повреждающее действие на самых различных уровнях. Патогенез событий, обусловленных лекарственным воздействием, включает снижение концентрации ионов Ca^{2+} в интрацеллюлярном пространстве гепатоцитов, которое влечет за собой активацию апоптотической или некротической гибели клеток (Бабак О.Я., 2008). Вместе с этим повреждения затрагивают мембрану клеток и отдельные компоненты цитоскелета, большая роль отводится дисфункции энергетического аппарата гепатоцитов (Ключарева А.А., 2007, Hoofnagle J.H., 2004).

Токсические метаболиты оказывают действие не только на уровне материнского организма, они могут повреждать любое звено в системе мать – плацента – плод. Как следствие возникает нарушение функционирования макрофагальной системы потомства, а именно нарушаются механизмы перекисного окисления липидов, продукция свободных радикалов, кальциевый гомеостаз. Все эти события нарушают активацию лизосомального аппарата, и других органоидов, в частности, аппарата Гольджи – источника образования первичных лизосом и ведут к нарушению фагоцитарного процесса и неспецифической резистентности.

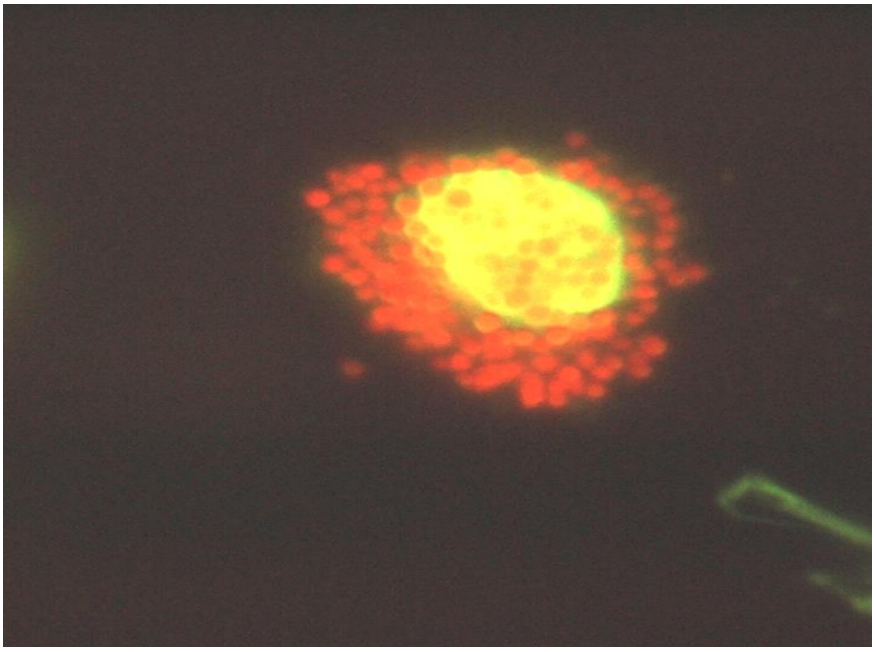

Рисунок 43 – Перитонеальный макрофаг 60-ти дневного животного, рожденного от интактной самки. В цитоплазме клетки обнаруживается высокая лизосомальная активность. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Рисунок 44 – Альвеолярный макрофаг 45-ти дневного животного, рожденного от самки с тетрациклиновым поражением печени. Стрелкой указана

клетка с низкой лизосомальной активностью. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

3.4. Кислородзависимая метаболическая активность клеточных элементов системы мононцуклеарных фагоцитов

Спонтанный НСТ-тест

Неотъемлемым звеном полноценно протекающего в живой системе фагоцитоза является способность клеточных элементов эффективно уничтожать захваченных возбудителей. В механизмах бактерицидности мононуклеарных фагоцитов участвуют многие механизмы, включая ферментативные системы лизосомального аппарата, продукты перекисного окисления липидов, свободные радикалы. При этом ключевая роль в борьбе с патогенами отводится кислородзависимым внутриклеточным процессам, в ходе которых синтезируется множество активных форм кислорода (Miller R.A., Britigan B.E., 1997).

Известно, что события фагоцитарного процесса всегда сопровождаются «респираторным взрывом» (Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А., 1999; Плехова Н.Г., Сомова Л.М. с соавт., 2005; Cerone S., Sansinanea A. et al., 2000). Смысл его заключается в повышении активности ферментов дыхательной цепи и генерации свободно-радикальных продуктов, принимающих самое активное участие в разрушении образованной фагосомы.

Основным методом, позволяющим оценить кислородзависимый потенциал клетки, является спонтанный НСТ-тест, благодаря которому становится возможной быстрая оценка уровня активации фагоцитирующих клеток и их готовности к киллингу бактерий (Кульчиков А.Е. с соавт., 2011), а также способности фагоцитов к синтезу активных форм кислорода. НСТ-тест отражает уровень функциональной напряженности фагоцита, в определенной мере отражая

состояние гомеостаза. В настоящее время принято считать, что НСТ-тест является наиболее информативным показателем, характеризующим состояние общей адаптации и связанной с ней устойчивости к стрессорным воздействиям (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Фрейдлин И.С., 1984).

Принцип НСТ – теста основывается на восстановлении растворимого бесцветного нитросинего тетразолия в диформазан, который распределяется в цитоплазме в виде гранул, окрашивающихся в темно-синий цвет. Данный тест отражает степень активности кислородзависимых механизмов бактерицидной активности фагоцитов, в основе которой лежит активация $НАДФН_2$ – оксидазы. $НАДФН_2$ – оксидаза – энзим, локализующийся на биологической мембране фагоцита, который инвагинируется внутрь клетки при захвате микроорганизма и участвует в восстановлении НСТ внутри образованной фагосомы (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). Таким образом, НСТ-тест является универсальным и легкодоступным способом определения степени активизации фагоцитов при развитии патологического процесса.

Нами установлено, что у интактных животных активность спонтанного НСТ-теста в перитонеальных макрофагах после рождения постепенно увеличивается с 20,12±1,55 в период новорожденности до 38,25±2,22 в период половой зрелости. При этом в альвеолярных макрофагах данный показатель до периода полового созревания меняется незначительно, а затем к периоду половой зрелости увеличивается и стабилизируется (рисунок 45, 46).

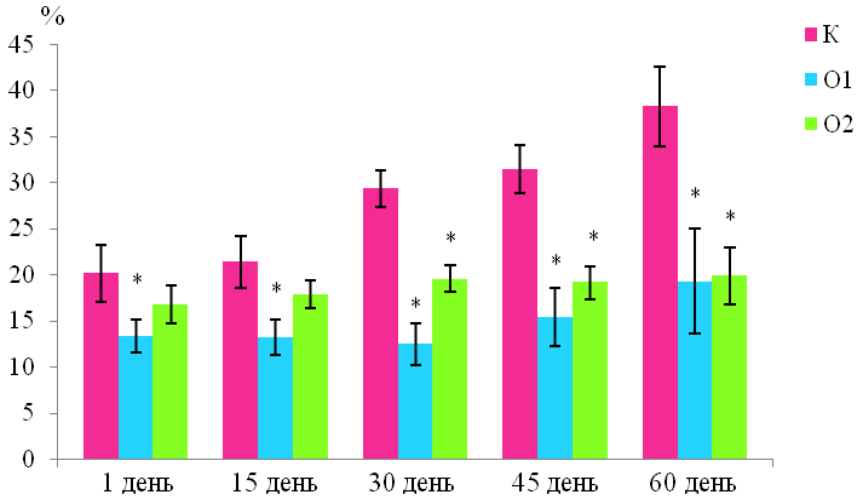

Рисунок 45 – Активность спонтанного НСТ – теста перитонеальных макрофагов в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

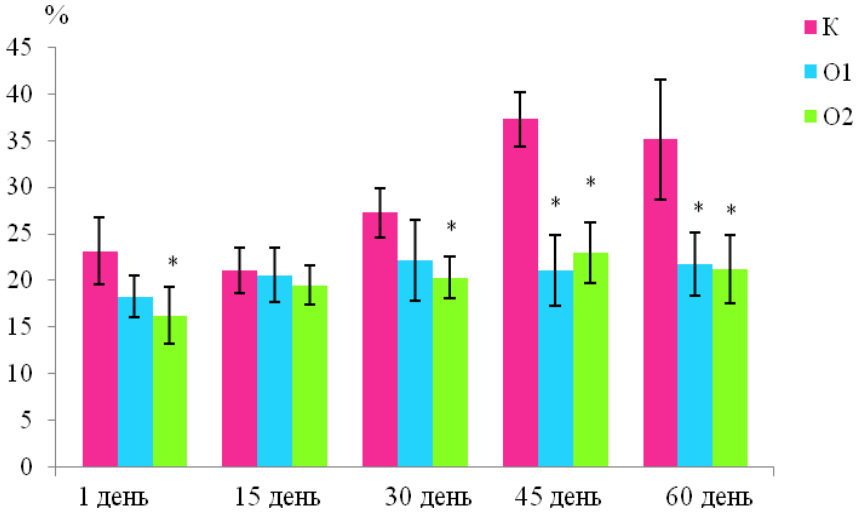

Рисунок 46 – Активность спонтанного НСТ – теста легочных макрофагов в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

В печеночных макрофагах интенсивность спонтанного НСТ-теста после рождения снижается и стабилизируется до периода половой зрелости, после чего исследуемый показатель увеличивается к окончанию периода половой зрелости, превышая при этом исходный уровень. Активность НСТ-теста в моноцитах

периферической крови интактных животных после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости (рисунок 47, 48).

У животных опытной группы 1 активность НСТ-теста в перитонеальных макрофагах после рождения до периода половой зрелости меняется незначительно, а затем достигает максимальных значений на 60-ый день исследования. Активность НСТ-теста в альвеолярных макрофагах данной группы животных после рождения незначительно увеличивается до периода полового созревания, а затем стабилизируется.

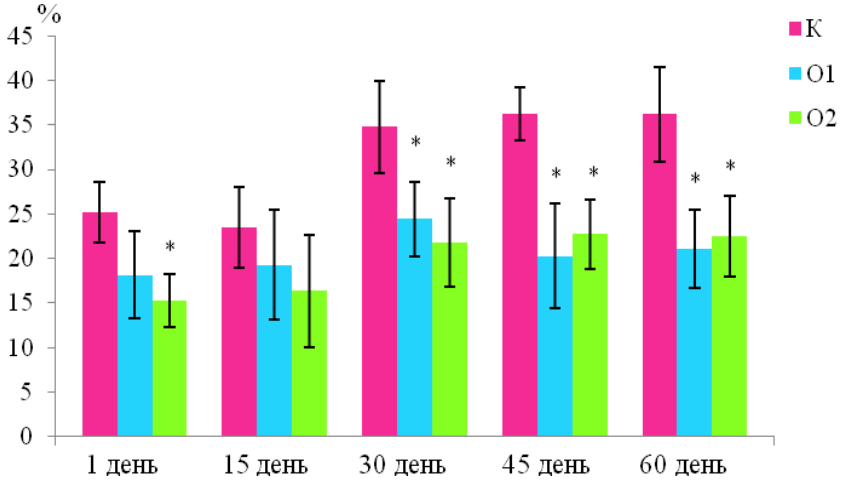

Рисунок 47 – Активность спонтанного НСТ – теста моноцитов периферической крови в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Интенсивность спонтанного НСТ-теста в печеночных макрофагах данной группы животных после рождения имеет тенденцию к увеличению, достигая максимального значения к периоду половой зрелости. В моноцитах периферической крови крысят опытной группы 1 активность спонтанного НСТ-теста после рождения увеличивается, достигая максимального значения к 30-му дню постнатальной жизни, а затем наблюдается снижение исследуемого показателя.

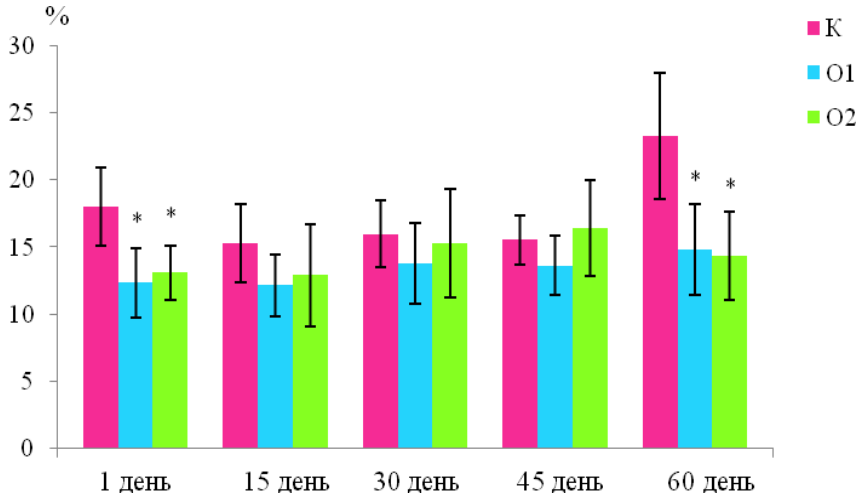

Рисунок 48 – Активность спонтанного НСТ – теста макрофагов печени в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

У животных опытной группы 2 интенсивность НСТ-теста в перитонеальных макрофагах после рождения постепенно увеличивается к началу периода полового созревания и стабилизируется. В альвеолярных макрофагах этой группы животных исследуемый показатель постепенно увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости. Аналогичная закономерность выявлена и при анализе спонтанного НСТ-теста в печеночных макрофагах.

В моноцитах периферической крови крысят опытной группы 2 активность спонтанного НСТ-теста после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения на 30-ый день постнатального онтогенеза, после чего стабилизируется. При этом обращает на себя внимание, что на всех сроках исследования активность спонтанного НСТ-теста у животных обеих опытных групп снижена по сравнению с контролем или имеет выраженную тенденцию к таковому.

Стимулированный НСТ-тест

Стимулированный НСТ-тест позволяет определить потенциальные ресурсы клеточных элементов неспецифической резистентности к возникновению «метаболического взрыва» в ответ на внедрение патогенных микроорганизмов (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). Благодаря тому, что в данной реакции на клетку в условиях in vitro воздействуют дополнительные стимулы (частицы латекса, гранулы зимозана), активирующие фагоцит, становится возможной оценка резервной функциональной активности данных клеток (Гудков Г.В., Ханферян Р.А., 2009; Кульчиков А.Е., 2011). Нами проводилась оценка НСТ-теста, активированного инертными полистерольными частицами латекса.

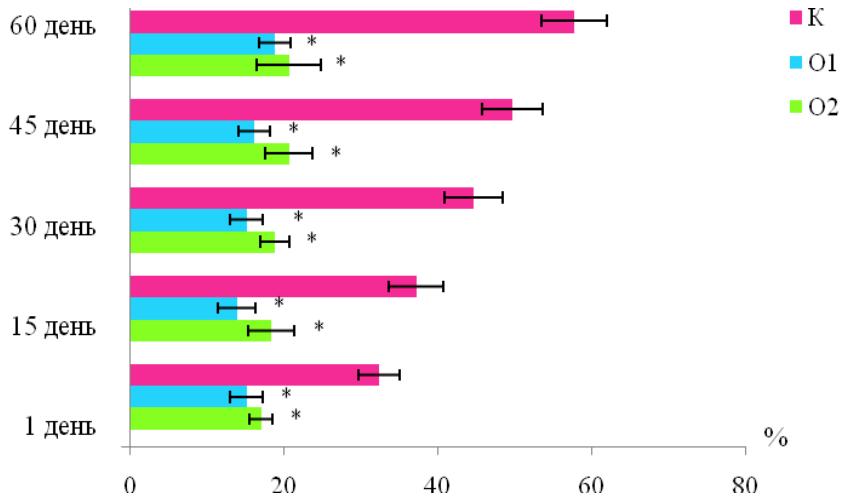

Рисунок 49 – Активность стимулированного НСТ – теста макрофагов брюшной полости в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Анализ интенсивности индуцированного НСТ-теста в макрофагах различных компартментов экспериментальных животных позволил выявить следующую закономерность (рисунок 49, 51, 53, 55). Как видно из рисунка 49, у интактных животных активность индуцированного НСТ-теста в перитонеальных макрофагах после рождения постепенно увеличивается с 32,36±1,36 в период

новорожденности до 57,73±2,19 в период половой зрелости. Аналогичная закономерность выявлена и в альвеолярных макрофагах (рисунок 51).

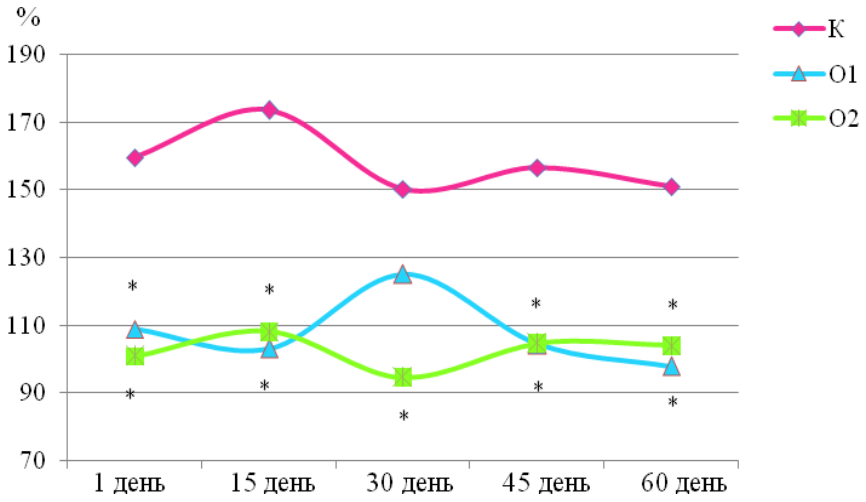

Рисунок 50 – Коэффициент стимуляции НСТ-теста перитонеальных макрофагов в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

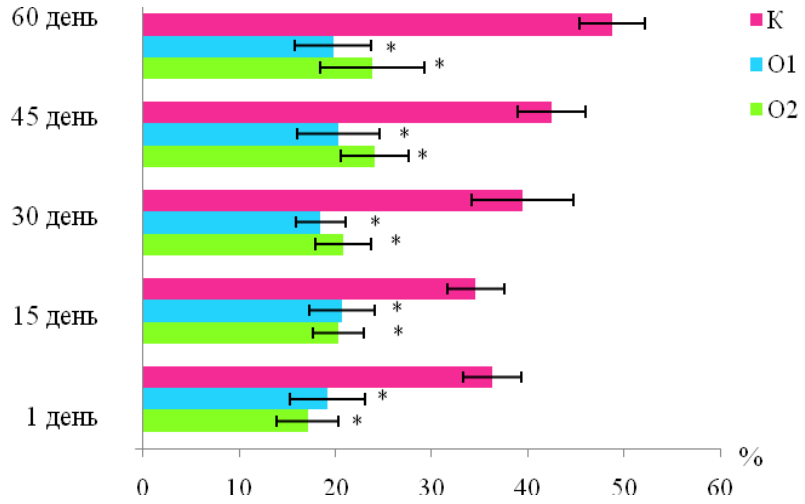

Рисунок 51 – Активность стимулированного НСТ – теста альвеолярных макрофагов в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

В печеночных макрофагах активность индуцированного НСТ-теста у интактных крысят после рождения несколько снижается и стабилизируется на уровне, не превышающем показатели периода новорожденности.

В моноцитах периферической крови интактных животных исследуемый показатель после рождения постепенно увеличивается, достигая максимального значения на 45-ый день постнатального развития.

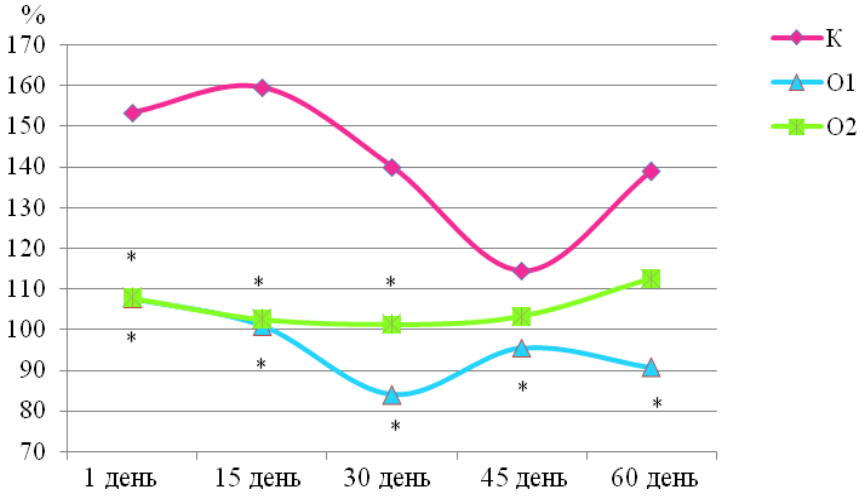

Рисунок 52 – Коэффициент стимуляции НСТ-теста альвеолярных макрофагов в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

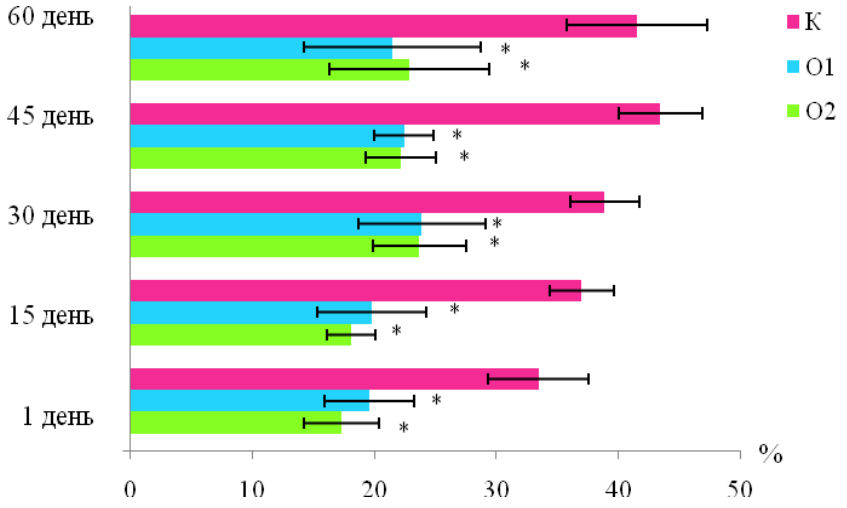

Рисунок 53 – Активность стимулированного НСТ – теста моноцитов периферической крови в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

У животных опытной группы 1 активность индуцированного НСТ-теста в перитонеальных макрофагах после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения в период половой зрелости. В альвеолярных макрофагах исследуемый показатель после рождения у данной группы животных практически не изменяется. В печеночных макрофагах индуцированный НСТ-тест у данной группы животных после рождения незначительно увеличивается с 15,23±1,3 в период новорожденности до 17,4±0,43 на 45-ый день постнатального онтогенеза. В моноцитах периферической крови активность индуцированного НСТ-теста после рождения увеличивается до 30-го дня постнатального развития, а затем отмечается незначительное снижение исследуемого показателя.

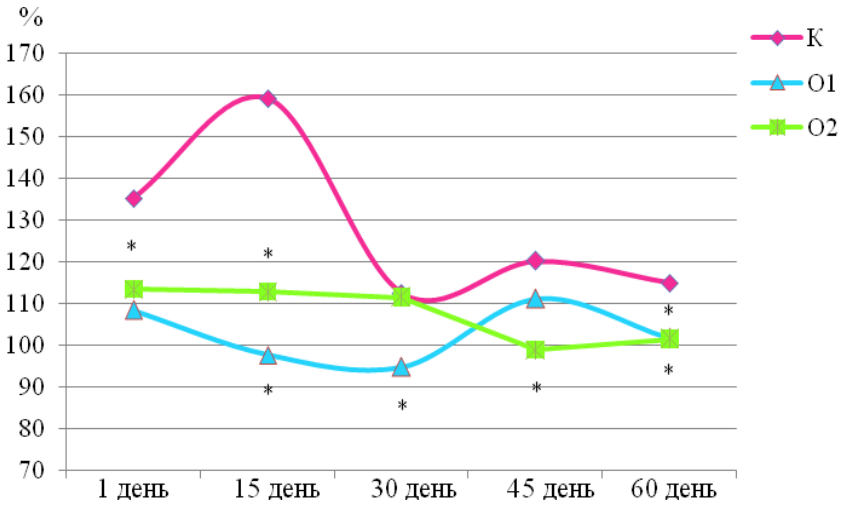

Рисунок 54 – Коэффициент стимуляции НСТ-теста моноцитов периферической крови в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

У животных опытной группы 2 активность индуцированного НСТ-теста в перитонеальных макрофагах после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения в период половой зрелости. В альвеолярных макрофагах данной группы животных исследуемый показатель после рождения

также постепенно увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости.

В печеночных макрофагах исследуемый показатель после рождения увеличивается, достигая максимального значения к периоду полового созревания, после чего отмечается постепенное снижение этого показателя. В моноцитах периферической крови животных опытной группы 2 интенсивность индуцированного НСТ-теста после рождения постепенно увеличивается, также достигая максимального значения к началу периода полового созревания, после чего отмечается стабилизация данного показателя.

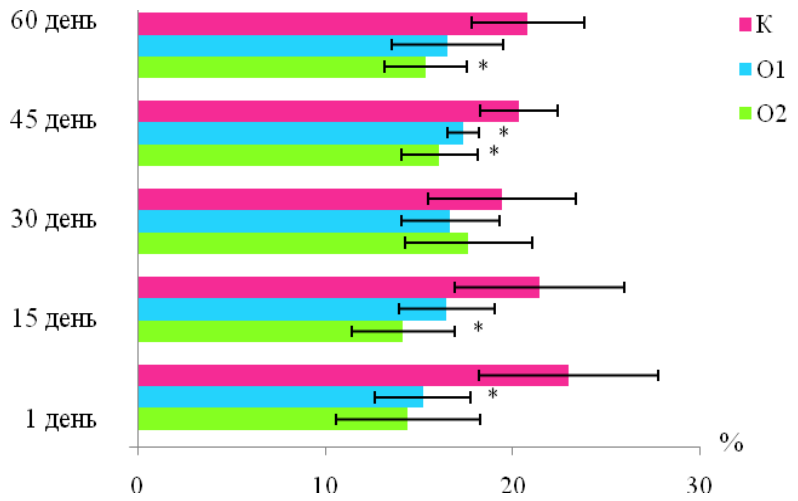

Рисунок 55 – Активность стимулированного НСТ – теста печеночных макрофагов в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

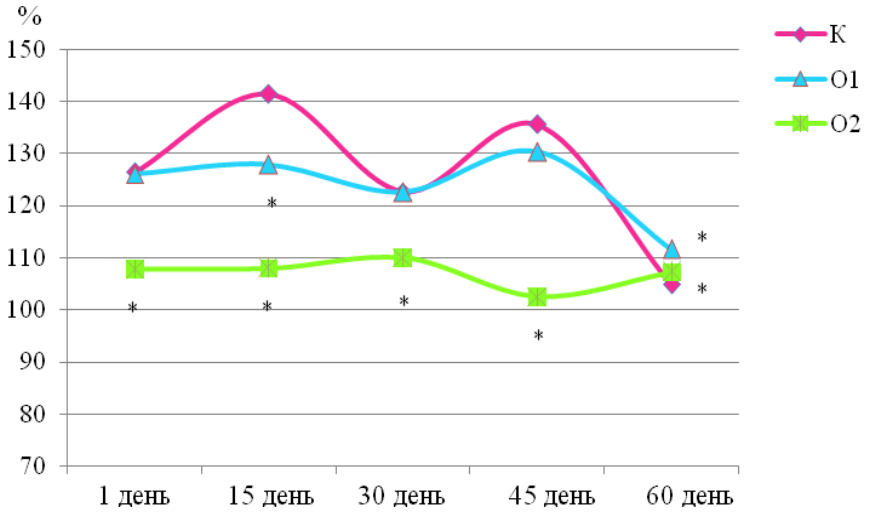

Рисунок 56 – Коэффициент стимуляции НСТ-теста печеночных макрофагов в различные периоды постнатального онтогенеза

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Обращает на себя внимание, что на всех сроках исследования интенсивность индуцированного НСТ-теста в макрофагах различных компартментов у подопытных животных обеих экспериментальных групп снижена по сравнению с группой контроля.

Полученные результаты нашли свое подтверждение в изменении коэффициента стимуляции НСТ-теста макрофагов различных компартментов экспериментальных животных (рисунок 48, 50, 52, 54), представляющего собой отношение уровня спонтанного НСТ-теста к индуцированному НСТ-тесту, выраженному в процентах. Как видно из рисунка, на большинстве сроков исследования коэффициент стимуляции НСТ-теста макрофагов различных компартментов подопытных крысят снижен по сравнению с контролем, что указывает на угнетение их кислородзависимой метаболической активности.

Используемая нами экспериментальная модель лекарственного поражения печени обусловливает уменьшение интенсивности зависимого метаболизма макрофагов, о чем свидетельствует более выраженное, чем в контроле, угнетение спонтанного и индуцированного латексом НСТ-теста, что в определенной мере,

может указывать на снижение устойчивости их организма к стрессорным воздействиям (рисунок 57, 58).

Оценивая результаты нашего исследования, можно предположить, что в силу длительно воздействующего на систему мать – плацента – плод патологического фактора, в частности, токсичных продуктов, образующихся при нарушении функций печени, наблюдается истощение компенсаторных механизмов, поддерживающих высокий уровень кислородзависимой бактерицидности мононуклеаров, в результате чего наблюдается угнетение показателей у крысят, рожденных от подопытных самок, как в спонтанном, так и в индуцированном НСТ-тесте. Эти данные согласуются с результатами ряда авторов. Так было выявлено угнетение реакций НСТ-теста у потомства самок крыс с экспериментальным токсическим, холестатическим, аутоиммунным гепатитом (Брюхин Г.В., 1994), а также поражением печени, вызванном введением D-галактозамина и E. coli (Шаврина Е.Ю., 2012). Кроме того, было показано что у пациентов с медиальными переломами бедра (Зинкин В.Ю., Годков М.А., 2004) наблюдается снижение активности кислородзависимого метаболизма, обусловленное, вероятно, выходом вновь образованных фагоцитов из костно-мозгового депо, имеющих незрелую систему рецепторного аппарата.

У пациентов с туберкулезом легких, сопровождающимся множественной лекарственной устойчивостью (Дубровский А.С., 2013) было выявлено достоверное снижение активности диформозан-положительных клеточных элементов. Кроме того, угнетение НСТ-теста наблюдалось при экспериментальном воздействии на перитонеальные макрофаги ацетата свинца (Khurana S.K., Chauhan R.S., 2000).

Однако в большинстве случаев наблюдается противоположная реакция, направленная на восполнение дефицита физиологических механизмов фагоцитоза. Так было выявлено усиление кислородзависимой активности мононуклеаров при экспериментальном заражении авирулентными штаммами L. monocytogenes и S. aureus (Л.М. Сомова, Н.Г. Плехова с соавт., 2006), воздействии

мирамистина (Шатров В.А., 1992) и пептидов сумки Фабрициуса (Степанов А.В., Цепелев В.Л., 2014) на перитонеальные макрофаги, а также при хроническом эмоциональном стрессе (Брындина И.Г., Васильева Н.Н. с соавт., 2011).

Оценивая бактерицидную систему фагоцитирующих клеток у пациентов с раком яичников, не было выявлено существенных изменений в НСТ-тесте по сравнению со здоровыми лицами. На основании этого был сделан вывод о нецелесообразности назначения таким пациентам иммунотерапии (Антонеева И.И., 2008).

Кроме того, отмечается отчетливая тенденция к повышению активности НСТ-теста в фазу обострения бронхиальной астмы (Федотова Г.Г., 2006), а также при воздействии на макрофаги некоторых лекарственных препаратов. Так интересные данные были получены при изучении корригирующего влияния противовирусного препарата фоспренила и биотонизирующего средства гамавита на токсическую реакцию макрофагов, вызванную введением высоких доз альфа – токсина S. aureus (Зайцева Л.Г., Бехало В.А., 2005). Было установлено, что интенсивность накопления гранул диформазана носит циклический характер – через 1 час и 5 часов после введения лекарственных препаратов реакция усиливалась, тогда как при регистрации изменений на 2 сутки наблюдалось стойкое снижение активности НСТ-теста.

При оценке влияния антибиотика группы макролидов рулида на функциональную активность мононуклеаров было выявлено его стимулирующее действие на кислородзависимые реакции у пациентов со стрептококковой и хламидийной инфекцией (Самсыгина Г.А., Бородина Т.М. с соавт., 1998).

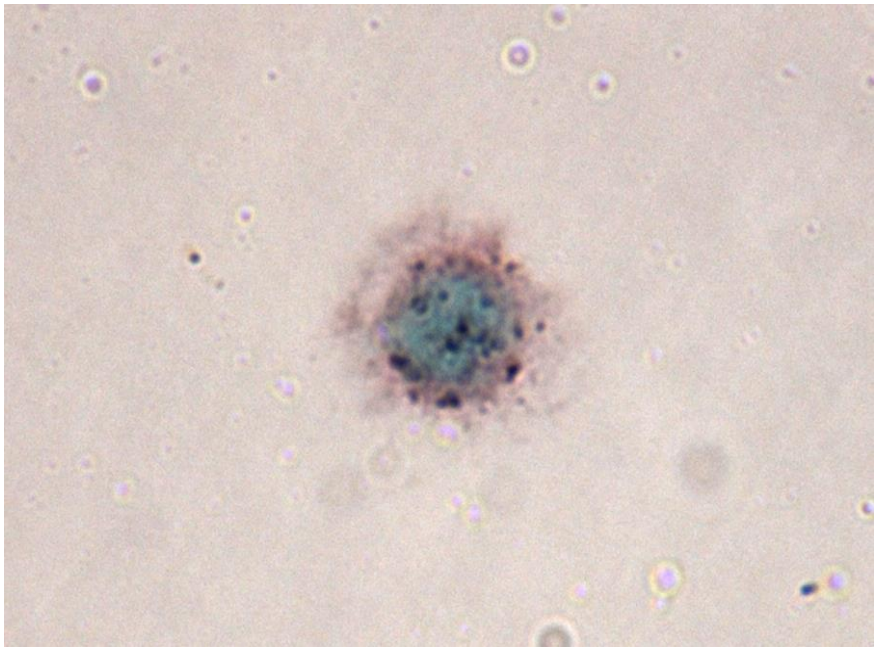

Рисунок 57 – Перитонеальный макрофаг 60-ти дневного животного, рожденного от самки с парацетамольным поражением печени. В цитоплазме определяются множественные гранулы диформазана. Окраска: нитросиний тетразолий по Виксману. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Неоднозначные результаты были получены при исследовании кислородзависимого метаболизма лейкоцитов у пациентов с острым панкреатитом (Шевляева М.А., Карипиди Г.К. с соавт., 2012). Была выявлена зависимость между показателями НСТ-теста и характером течения заболевания. Так у пациентов с высокой активностью реакции заболевание было неосложненным и заканчивалось реконвалесценцией, у пациентов с низкой активностью возникали какие-либо осложнения, приводящие к гибели в 100 процентах случаев.

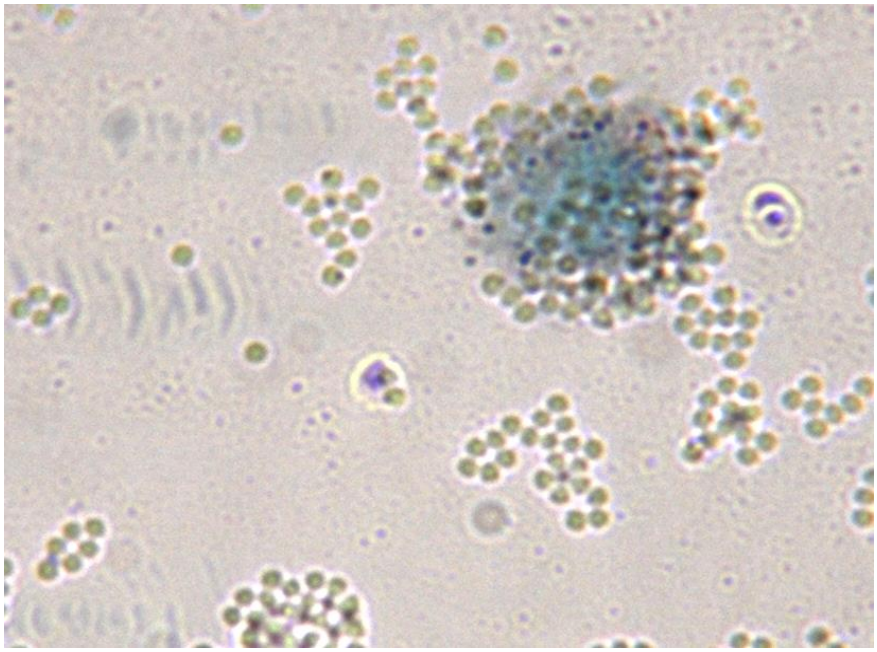

Рисунок 58 – Альвеолярный макрофаг 30-ти дневного животного, рожденного от интактной самки. В цитоплазме определяются частицы латекса, а также множественные гранулы диформазана. Окраска: нитросиний тетразолий по Виксману. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Таким образом, в результате исследования кислородзависимой метаболической активности мононуклеаров было выявлено угнетение исследуемого показателя у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени.

3.5. Цитохимическая характеристика клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

3.5.1. Содержание сукцинатдегидрогеназы клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

СДГ относится к флавопротеидным дегидрогеназам и представляет собой ферментативный комплекс, являющийся одновременно компонентом

дыхательной цепи митохондрий и цикла трикарбоновых кислот. (Плехова Н.Г., Сомова Л.М. с соавт., 2007). Данный фермент прочно укреплен на внутренней мембране митохондрий. По активности СДГ можно судить об энергетическом потенциале клетки, функциональном состоянии и числе активных митохондрий (Леонтьева Ю.М., 2001).

Анализ интенсивности цитохимической реакции на сукцинатдегидрогеназу в макрофагах различных компартментов у экспериментальных животных позволил выявить следующую закономерность (таблица 8, 9).

Таблица 8 – Активность СДГ перитонеальных и альвеолярных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального развития

	Средний цитохимический коэффициент, %									
	Перитонеальные марофаги					Альвеолярные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	0,77 (0,54-1,0)	0,86 (0,72-1,0)	0,89 (0,79-0,99)	1,01 (0,89-1,13)	1,12 (1,0-1,24)	0,82 (0,72-0,92)	0,88 (0,74-1,02)	1,04 (1,0 - 1,08)	1,19 (1,11-1,27)	1,17 (1,13 - 1,21)
О1	0,51 (0,33-0,69)	0,5* (0,38-0,62)	0,6* (0,54-0,66)	0,63* (0,55-0,71)	0,74* (0,53-0,95)	0,5* (0,42-0,58)	0,64* (0,56-0,72)	0,67* (0,59-0,75)	0,71* (0,67-0,75)	0,71* (0,67-0,75)
О2	0,64 (0,54-0,74)	0,59* (0,53-0,65)	0,61* (0,55-0,67)	0,62* (0,58-0,66)	0,7* (0,64-0,76)	0,69 (0,65-0,73)	0,82 (0,68-0,96)	0,81* (0,69-0,93)	0,76* (0,69-0,84)	0,79* (0,75-0,83)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Как видно из таблиц, у интактных крысят интенсивность данной цитохимической реакции в перитонеальных макрофагах и моноцитах

периферической крови после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения в период половой зрелости. В макрофагах легких и печени интактных животных интенсивность реакции после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости, после чего стабилизируется.

У крысят опытной группы 1 интенсивность цитохимической реакции на СДГ в макрофагах брюшной полости и моноцитах периферической крови после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения на 60-ый день постнатального онтогенеза. В альвеолярных и печеночных макрофагах иследуемый показатель к 45-му дню после рождения также постепенно увеличивается, достигает максимальных значений и стабилизируется.

Таблица 9 – Активность СДГ моноцитов периферической крови и печеночных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального развития

	Средний цитохимический коэффициент, %									
	Моноциты крови					Печеночные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	0,53 (0,43-0,63)	0,6 (0,52-0,68)	0,78 (0,64-0,92)	0,89 (0,77-1,01)	1,01 (0,91-1,11)	0,55 (0,45-0,65)	0,59 (0,53-0,65)	0,76 (0,68-0,84)	0,95 (0,83-1,07)	0,93 (0,79-1,07)
О1	0,36 (0,26-0,46)	0,5 (0,44-0,56)	0,55 (0,41-0,69)	0,54* (0,4-0,68)	0,64* (0,43-0,85)	0,41 (0,33-0,49)	0,42* (0,36-0,48)	0,48* (0,44-0,52)	0,57* (0,47-0,67)	0,53* (0,49-0,57)
О2	0,39 (0,27-0,51)	0,45 (0,35-0,55)	0,5* (0,42-0,58)	0,55* (0,49-0,61)	0,53* (0,47-0,59)	0,5 (0,44-0,56)	0,48* (0,44-0,52)	0,52* (0,46-0,58)	0,55* (0,49-0,61)	0,58* (0,5-0,66)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Интенсивность цитохимической реакции на СДГ у опытных животных группы 2 в макрофагах различных компартментов, как видно из таблицы, после рождения меняется незначительно. Исследуемый показатель в мононуклеарах перитонеального экссудата животных опытной группы 2 после рождения несколько снижается, а затем постепенно увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости. В легочных макрофагах данной группы животных интенсивность реакции после рождения к подсосному периоду увеличивается и стабилизируется. В макрофагах печени исследуемый показатель первоначально несколько снижается, а затем постепенно увеличивается и достигает максимального значения в период половой зрелости. В моноцитах периферической крови интенсивность цитохимической реакции у данной группы животных после рождения увеличивается до периода половой зрелости и стабилизируется.

На всех сроках исследования интенсивность цитохимической реакции на СДГ в макрофагах различных компартментов потомства самок крыс с экспериментальным лекарственным поражением печени снижена по сравнению с контролем.

Полученные нами данные тесно согласуются с результатами других исследователей. Так было выявлено (Мурзова О.А., Григанов В.И., 2008; Бабайлов М.С., 2012), что активность цитохимической реакции на выявление СДГ у пациентов, страдающих бронхиальной астмой, а также хроническим вирусным гепатитом С в сочетании с наркозависимостью (Черенова В.К., Галимзянов Х.М. с соавт., 2010) была достоверно угнетена. Кроме того, у беременных женщин с высоким риском развития инфекционно-воспалительных осложнений (Кадыков А.М., Галимзянов Х.М. с соавт., 2011) также наблюдалось снижение активности СДГ.

Вместе с тем было выявлено, что активность ферментативной реакции цикла Кребса зависит от характера течения воспалительного процесса (Егорова Е.А., Красков А.В. с соавт., 2010). В результате проведенного исследования был выявлен дисбаланс ферментативной активности моноцитов периферической крови, выражающийся в высоких значениях активности СДГ при неосложненной лакунарной ангине и резком ее угнетении при возникновении такого осложнения, как паратонзиллярный абсцесс.

Кроме того, анализируя активность СДГ в мононуклеарных фагоцитах, зараженных вирусом клещевого энцефалита (Плехова Н.Г., Сомова Л.М.с соавт., 2007), было выявлено изменение активности данного фермента при регистрации ее в различные временные интервалы. Весь эксперимент продолжался в течение 48 часов, при этом в течение первых четырех часов после цитохимическая реакция оказалась ярко выраженной, а затем наблюдалось ее постепенное угнетение вплоть до окончания периода наблюдения.

При изучении изменений работы дыхательной цепи митохондрий при карциноме Герена (Волощук О.Н., Марченко М.М., 2013) наибольшая активность СДГ была зарегистрирована в период активного роста опухоли, тогда как на терминальном этапе канцерогенеза активность оказалась существенно ниже. Данное явление авторы связывают с нарушением функционирования компонентов дыхательной цепи, в частности, NADH-дегидрогеназы, что ведет к компенсаторному увеличению активности фермента.

Вместе с тем, в результате экспериментального исследования по изучению влияния острой циркуляторной гипоксии, вызванной острой кровопотерей, на сукцинатдегидрогеназную активность гепатоцитов (Иванская Н.Н. с соавт., 2004), было установлено, что активность данного фермента возрастает как через 3 часа, так и через 7 часов после начала эксперимента, что связано, по-видимому, с высокой интенсивностью метаболических процессов в печени.

Стимулирующее действие на активность указанного фермента в гепатоцитах оказывал и мелатонин, введенный крысам с экспериментальным

холестатическим гепатитом (Мохорева С.И.,2008), что объясняется, по мнению авторов, антиоксидантным действием мелатонина, а также его способностью замедлять процессы перекисного окисления липидов.

Таким образом, анализируя результаты исследования кислородзависимой биоцидности мононуклеаров различных компартментов у потомства самок с экспериментальным лекарственным гепатитом, можно сделать вывод о том, что в многостадийном процессе фагоцитоза клеточные элементы подопытных животных претерпевают ряд изменений, нарушающих кислородзависимую составляющуюих метаболизма.

3.5.2. Характеристика миелопероксидазной активности клеточных элементах системы мононуклеарных фагоцитов

Среди множества различных механизмов, которыми оснащены клеточные элементы неспецефической резистентности, особая роль принадлежит миелопероксидазе (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). Существует мнение, что именно миелопероксидазной системе отводится ведущая роль в механизмах бактерицидности, в то время как лизосомальные гидролитические ферменты участвуют в «очищении» клетки от поврежденного и уже обработанного пероксидазой материала (Маслов А.К., 2007).

В результате взаимодействия миелопероксидазы с одним из основных продуктов «респираторного взрыва» перекисью водорода образуются активные формы кислорода, а также оксид азота, принимающие самое активное участие в киллинге захваченных микроорганизмов. Кроме того, данный фермент способен непосредственно связываться с компонентами клеточной стенки бактерий, что ведет к нарушению ее проницаемости и гибели микроорганизмов (Ашкинази В.И. с соавт., 2009; Рязанцева Л.Т., 2009).

Исходя из вышеизложенного, для оценки всех механизмов, участвующих в уничтожении патогенных бактерий, была проведена оценка миелопероксидазной активности мононуклеаров у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени.

Результаты анализа интенсивности энзимогистохимической реакции на пероксидазу отражены в таблице 10.

Таблица 10 – Интенсивность цитохимической реакции на миелопероксидазу перитонеальных и альвеолярных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального онтогенеза

	Содержание бензидинпозитивных клеток, %									
	Перитонеальные макрофаги					Альвеолярные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	18,44 (13,64-23,24)	17,92 (13,9-21,94)	18,21 (15,49-20,93)	14,98 (9,83-20,13)	11,89 (7,79-15,99)	17,5 (9,46-25,54)	18,75 (16,24-21,26)	15,62 (11,99-19,25)	9,09 (4,17-14,01)	6,45 (5,45-7,45)
О1	13,78 (9,65-17,91)	12,11 (8,66-15,56)	9,25* (5,1-13,4)	7,12* (4,46-9,78)	6,37 (8,58-5,81)	6,37* (3,61-9,13)	5,76* (3,04-8,48)	4,87* (1,48-8,26)	3,44 (0,83-6,05)	2,55* (1,9-3,2)
О2	12,89 (8,05-17,83)	11,43* (9,02-13,84)	9,71* (4,2-15,22)	6,62* (4,07-9,17)	6,01* (4,34-7,68)	6,25 (2,66-9,84)	7,62* (4,15-11,09)	6,01* (3,91-8,11)	3,62 (0,33-6,91)	2,25* (0,23-4,27)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Интенсивность реакции на миелопероксидазу в перитонеальных макрофагах интактных животных после рождения до 30-го дня постнатального онтогенеза практически не изменяется, а затем снижается и достигает минимального

значения в период половой зрелости. Аналогичная закономерность выявлена и у других мононуклеаров.

У крысят опытной группы 1 интенсивность гистохимической реакции на пероксидазу в макрофагах различных компартментов после рождения постепенно снижается и достигает минимального значения в период половой зрелости. В моноцитах периферической крови исследуемый показатель первоначально после рождения снижается и стабилизируется до периода половой зрелости, достигая минимального значения на 60-ый день исследования.

Таблица 11 – Интенсивность цитохимической реакции на миелопероксидазу моноцитов периферической крови и печеночных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального онтогенеза

	Содержание бензидинпозитивных клеток, %									
	Моноциты периферической крови					Печеночные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	27,67 (20,48-34,86)	25,87 (18,58-33,16)	29,42 (25,44-33,4)	22,11 (16,7-27,52)	18,8 (15,25-22,35)	15,28 (10,52-20,04)	12,71 (10,59-14,83)	14,86 (12,76-16,96)	11,3 (9,44-13,16)	7,86 (5,98-9,74)
О1	20,33 (14,14-26,52)	17,57 (11,18-23,96)	15,57* (11,67-19,47)	17,71 (14,01-21,41)	13,57* (12,24-14,9)	11,29 (6,39-16,19)	9,86 (8,74-10,98)	7,28* (5,81-8,75)	5,09* (2,86-7,32)	4,11* (2,29-5,93)
О2	18,12 (15,46-20,78)	15,28* (12,14-18,42)	13,71* (10,54-15,88)	12,86* (10,76-14,96)	10,57* (7,2-13,94)	9,43 (3,69-15,17)	8,71* (8,5-8,92)	11,14 (8,77-13,51)	7,2* (5,18-9,22)	5,5 (4,46-6,54)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Интенсивность энзимогистохимической реакции на пероксидазу в мононуклеарных фагоцитах различных компартментов у крысят опытной группы

2 после рождения также постепенно снижается и достигает минимального значения в период половой зрелости. Исключение составили печеночные макрофаги данной группы животных, у которых исследуемый показатель к подсосному периоду несколько снижается, а затем на 30-й день постнатальной жизни увеличивается до уровня, превышающего исходный. К периоду половой зрелости интенсивность реакции существенно снижается до уровня более низкого, чем исходный.

При исследовании интенсивности энзимогистохимической реакции на миелопероксидазу было обнаружено, что наибольшее содержание данного фермента характерно для моноцитов периферической крови (таблица 11), что согласуется с данными литературы (Маянский А.Н., 1983; Луговская С.А., 1997), указывающими на то, что именно моноциты обладают наибольшей пероксидазной активностью, а по мере их созревания и превращения в тканевые макрофаги активность данного фермента угасает.

Рисунок 59 – Перитонеальный макрофаг 30-ти дневного животного, рожденного от самки с парацетамольным поражением печени. В цитоплазме отсутствуют

гранулы пероксидазы. Окраска по Грэхему-Кноллю. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Имеется мнение о том, что уменьшение содержания пероксидазных гранул в клеточных элементах системы мононуклеарных фагоцитов по мере их трансформации из моноцита в макрофаг позволяет судить о степени их дифференцировки (Луговская С.А., 1997).

Обращает на себя внимание, что на всех сроках исследования интенсивность энзимогистохимической реакции на миелопероксидазу в макрофагах различных компартментов подопытных крысят обеих групп снижена по сравнению с контролем (рисунок 59, 60).

В результате исследования содержания миелопероксидазы в макрофагах различных компартментов у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени было выявлено угнетение количества бензидинпозитивных клеток, что находится в соответствии с данными литературы. Так аналогичные данные были получены при экспериментальном хроническом гепатите различной этиологии (Брюхин Г.В., 1994; Брюхин Г.В., Шаврина Е.Ю., 2013), а также при бронхиальной астме (Бабайлов М.С., 2012), экспериментальной лепре (Маслов А.К., 2001; Маслов А.К., 2007) и хроническом миелолейкозе (Гусева С.А., 1990). Кроме того, показатели миелопероксидазной активности оказались сниженными при туберкулезе легких (Маслов А.К., 1999).

Повышенная интенсивность пероксидазы в клетках обнаруживалась при ряде других патологических состояний. Так при ОРВИ, серозном и, особенно, гнойном менингите содержание миелопероксидазы в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости было достоверно выше, чем в группе сравнения (Ботерашвили Н.М., Алешина Г.М. с соавт., 2002). Кроме того, увеличение показателя миелопероксидазы наблюдалось при экспериментальном бластоцистозе (Карпеева Е.А., Захаров А.А., 2010).

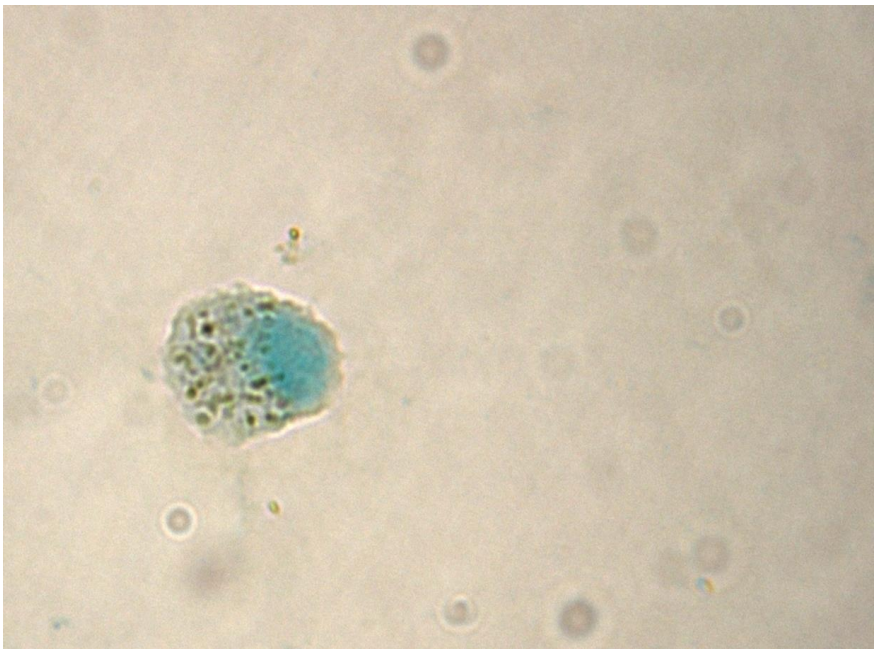

Рисунок 60 – Альвеолярный макрофаг 60-ти дневного животного, рожденного от интактной самки. В цитоплазме определяются бензидинпозитивные гранулы пероксидазы в большом количестве. Окраска по Грэхему-Кноллю. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Известно, что в процессе созревания и активации макрофагальных клеток, заканчивающегося образованием специализированных тканевых макрофагов, данные клетки приобретают новые свойства. Так клетки приобретают многочисленные псевдоподии, в них увеличивается содержание адгезивных молекул, а также лизосом и гидролитических ферментов (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Плехова Н.Г. с соавт., 2007).

В тоже время, в силу высокого влияния на системы жизнеобеспечения медиаторов стресса, сенсибилизированных лимфоцитов, циркулирующих иммунных комплексов, аутоантител, образующихся в результате стресс – реакции, макрофагальные клетки не способны в полной мере активизировать свои защитные приспособления, что отражается, прежде всего, на основной их функции – способности уничтожать бактериальные агенты.

Вместе с тем, вследствие недостаточного содержания миелопероксидазы в моноцитах/макрофагах начинают накапливаться активные метаболиты кислорода, в первую очередь, пероксид водорода. Обладая повышенной реактивностью, перекись водорода стимулирует образование продуктов перекисного окисления липидов (Лукина Е.А., 1999), нарушающих клеточный метаболизм и ведущих к гибели клетки.

Полученные нами результаты, выявившие угнетение энзимогистохимической реакции на миелопероксидазу, согласуются с результатами исследования кислородзависимых (спонтанный и стимулированный НСТ-тест, сукцинатдегидрогеназа) и кислороднезависимых (лизосомальная активность) механизмов бактерицидности у экспериментальных животных обеих опытных групп.

Таким образом, у потомства самок крыс с лекарственной гепатопатией имеет место существенное угнетение способности к уничтожению захваченных мононуклеарными фагоцитами микроорганизмов.

3.5.3. Содержание гликогена клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

Известно, что многочисленные этапы фагоцитоза не могут протекать в условиях энергодефицита. Процессы хемотаксиса, распознавания, а также захвата и уничтожения корпускулярных частиц сопряжены с высоким энергетическим потенциалом фагоцита, в противном случае многоуровневая фагоцитарная система не может справиться со своей функцией, возникает нарушение реактивности и резистентности всего организма в целом.

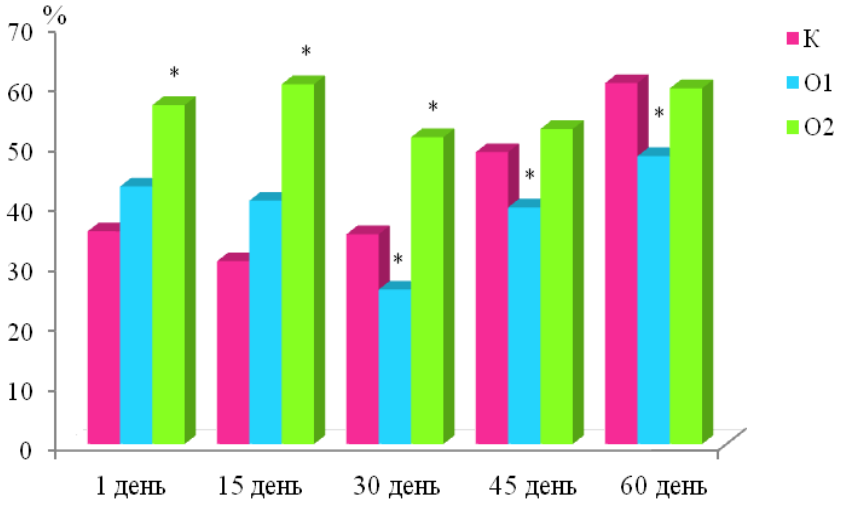

Рисунок 61 – Содержание ШИК-позитивных макрофагов перитонеального экссудата в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

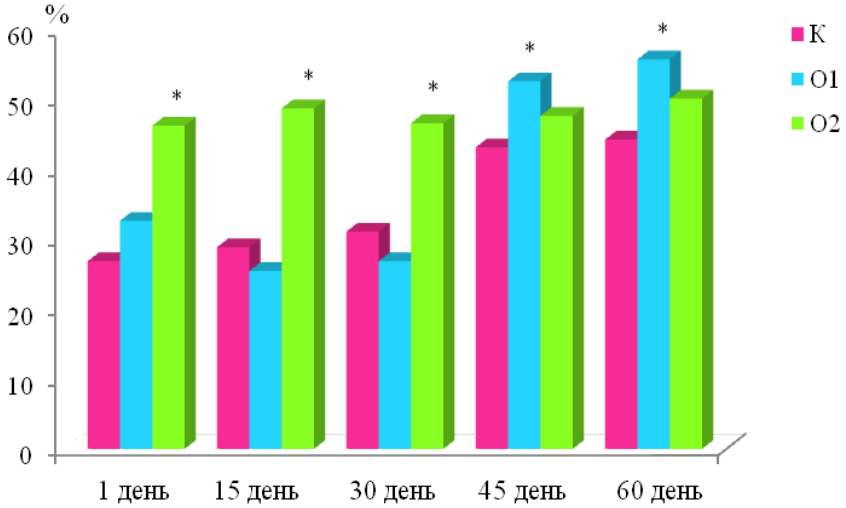

Рисунок 62 – Содержание ШИК-позитивных легочных макрофагов в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Основным энергетическим субстратом различных клеточных элементов является гликоген, который может определяться в цитоплазме клеток в виде гранул различного размера (Луговская С.А., 1997; Турицына Е.Г., 2009; Сурков А.Н., 2012). Число гликогеновых гранул в цитоплазме клетки позволяет оценить

ее функциональное состояние и является одним из важных показателей ее жизнедеятельности (Юхновец А.А., 2003).

Для всестороннего анализа фагоцитарного процесса целесообразным явилось изучение энергетического потенциала различных клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов, выражающееся в процентном содержании ШИК – позитивных макрофагов.

Результаты анализа содержания ШИК – позитивного материала в макрофагах различных компартментов экспериментальных животных отражены на рисунке 61, 62, 63, 64.

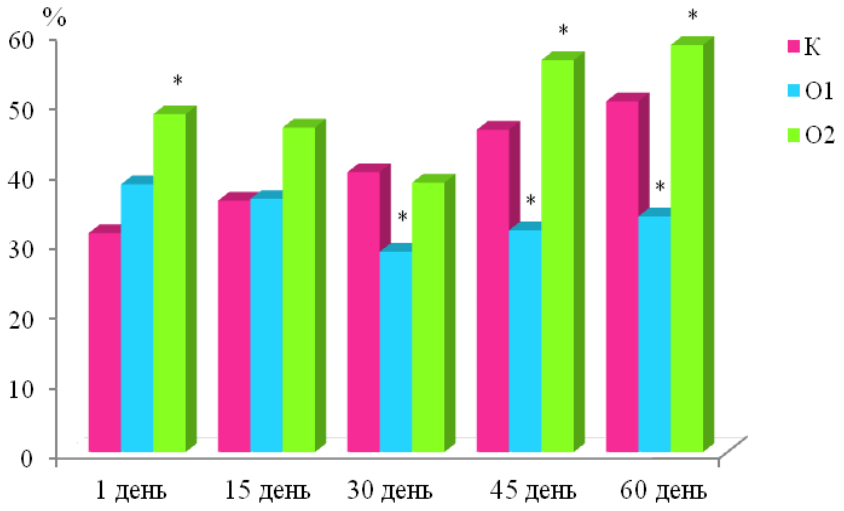

Рисунок 63 – Содержание ШИК-позитивных моноцитов периферической крови в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Как видно из рисунков 61, 62, 63, 64, у интактных животных содержание ШИК – позитивного материала во всех исследуемых мононуклеарах после рождения постепенно увеличивается и достигает максимального значения к периоду половой зрелости. Исключение составили макрофаги перитонеального экссудата, у которых содержание гликогена после рождения к подсосному периоду снижается, а затем вновь увеличивается и достигает максимального значения в период половой зрелости.

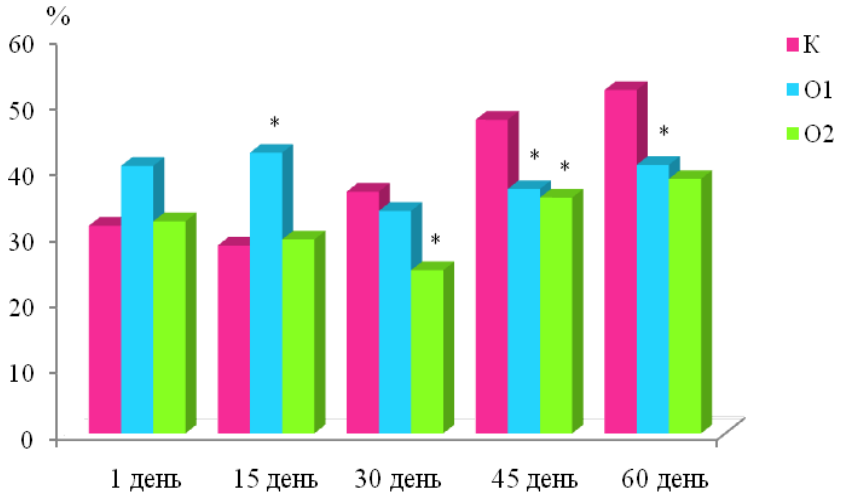

Рисунок 64 – Содержание ШИК-позитивных печеночных макрофагов в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

У подопытных крысят группы 1 содержание гликогена в перитонеальных макрофагах после рождения снижается и достигает минимального уровня на 30-й день постнатальной жизни, а затем увеличивается к периоду половой зрелости и превышает исходный уровень.

Содержание гликогена в легочных макрофагах у животных данной группы также после рождения существенно снижается, а затем резко увеличивается к периоду половой зрелости. В то же время исследуемый показатель в печеночных макрофагах данной группы животных после рождения снижается к 30-му дню наблюдения, а затем увеличивается к периоду половой зрелости и достигает исходного уровня. Содержание ШИК – позитивного материала в моноцитах периферической крови после рождения к началу периода полового созревания снижается и стабилизируется.

У животных опытной группы 2 содержание гликогена в перитонеальных макрофагах после рождения увеличивается, а затем снижается до уровня более низкого, чем исходный, а в период половой зрелости вновь увеличивается.

Исследуемый показатель в альвеолярных макрофагах данной группы животных после рождения до периода половой зрелости практически не изменяется, а затем несколько увеличивается к периоду половой зрелости до уровня, превышающего исходный. Содержание гликогена в печеночных фагоцитах у крысят данной группы после рождения снижается до 30-го дня постнатальной жизни, а затем имеет место увеличение содержания энергетического субстрата, достигающего максимального значения на 60-ый день.

Содержание ШИК – позитивного материала в моноцитах периферической крови крысят опытной группы 2 также после рождения снижается до 30-го дня постнатальной жизни, а затем существенно увеличивается и достигает максимального значения в период половой зрелости.

Обращает на себя внимание, что у животных опытной группы 1 содержание гликогена в макрофагальных клетках различных компартментов на ранних стадиях исследования превышает таковое в контроле, а на поздних, напротив, наблюдается его снижение по сравнению с группой контроля. Исключение составили альвеолярные макрофаги, у которых содержание ШИК – позитивного материала на поздних стадиях (45-ый и 60-ый день постнатальной жизни) превышает таковое в контроле.

У крысят опытной группы 2 содержание гликогена в макрофагах различных компартментов на большинстве сроков исследования превышает данный показатель в группе сравнения. Исключение составили альвеолярные макрофаги, у которых на всех сроках исследования содержание энергетического субстрата превысило таковое в контроле (рисунок 65).

Результаты, полученные при исследовании количества гликоген-содержащих клеточных элементов, согласуются с данными литературы. Так было выявлено, что при экспериментальном токсическом, аутоиммунном и холестатическом гепатите количество ШИК – позитивных клеток увеличивается (Брюхин Г.В., 1994; Грачев А.Ю., 1994). Кроме того, такие заболевания щитовидной железы, как аутоиммунный тиреоидит, диффузный токсический зоб,

а также рак щитовидной железы сопровождаются усилением энергетического обмена, проявляющимся увеличением числа клеток, содержащих гранулы гликогена (Юхновец А.А., 2003). Кроме того, Бабайловым М.С. (2011) было показано повышение содержания гликогена в альвеолярных макрофагах при бронхиальной астме.

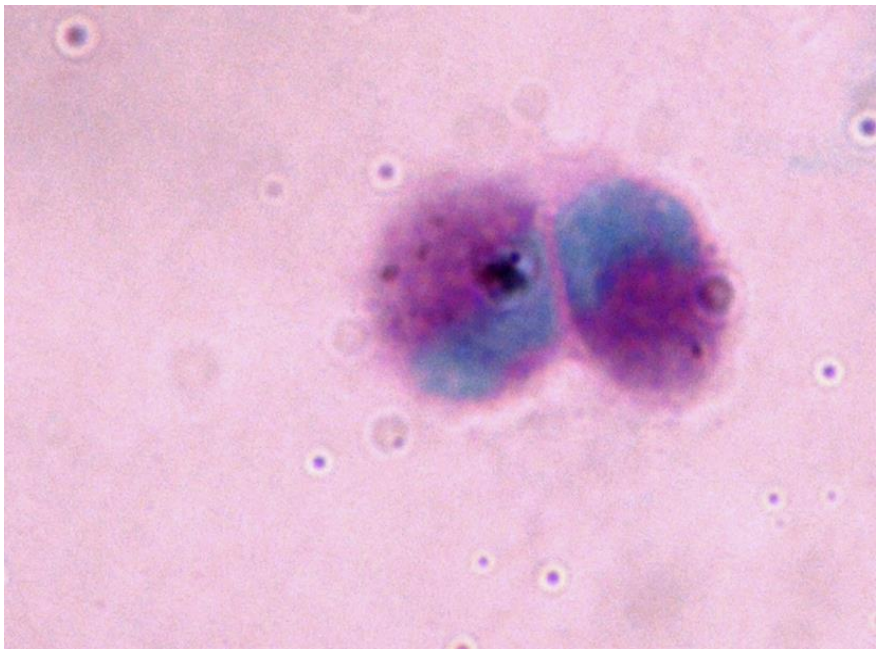

Рисунок 65 – ШИК-позитивные перитонеальные макрофаги 60-ти дневного животного второй опытной группы. Окраска: Шифф – йодная кислота по Мак-Манусу. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Противоположные результаты были получены при экспериментальной кровопотере (Кузнецов М.Е., 2004). Так автором было показано, что экспериментальная кровопотеря обусловливала активацию фагоцитарных процессов мононуклеаров с участием энергетических субстратов, что проявлялось снижением числа клеток, содержащих гранулы гликогена. Вместе с тем, количество ШИК – позитивного материала оказалось снижено при экспериментальном хроническом поражении печени, вызванном введением D-галактозамина и E. coli (Невзорова Н.В., Брюхин Г.В., 2012; Шаврина Е.Ю.,

Брюхин Г.В., 2012). Кроме того, было выявлено (А.Ю. Богдасаров, Р.А. Родкина с соавт., 2002) снижение уровня содержания гранул гликогена в эпителии шейки матки по мере усугубления в нем диспластических процессов.

Таким образом, оценивая неоднозначные результаты исследования энергетических процессов в мононуклеарных фагоцитах потомства самок крыс с лекарственной патологией печени, можно предположить, что в результате пренатального стресса (Резников А.Г. с соавт., 2004) возникает угнетение функционального статуса макрофагов, проявляющееся в снижении рецепторного аппарата, а также фагоцитарной, киллинговой, лизосомальной активности. В результате возникает дефицит оптимальной метаболической активности фагоцитов, вследствие чего происходит изменение содержания цитозольных запасов гликогена.

3.6. Фагоцитарная активность клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

3.6.1. Фагоцитоз микросфер латекса

Защита организма от различного рода инфекционных агентов состоит в последовательном взаимодействии с ними трех протекторных механизмов – неспецифической резистентности, активации секреторной активности клеток с высвобождением цитокинов, и, наконец, включением специфического адаптивного иммунного ответа (Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2000). Именно компоненты естественной резистентности в первую очередь вступают во взаимодействие с проникшими в организм чужеродными агентами, так как имеют целый спектр необходимых для их элиминации средств и, в большинстве случаев, способствуют их гибели (Игнатов П.Е., 2002). Однако наибольшую роль в устранении проникших возбудителей имеют клеточные факторы. Так нейтрофилы

и макрофаги при контакте с экзогенной частицей быстро запускают фагоцитарный процесс, включающий цепь последовательных событий, начиная с распознавания объекта и кончая его разрушением (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Маянский А.Н., Пикуза О.И., 1993; Мазуров Д.В. с соавт., 2000). Появление в ткани компонентов микроорганизмов (липополисахаридов, бактериальной ДНК, гликолипидов) способствует быстрому улавливанию их фагоцитами с последующей активацией и поглощением (Ивашкин В.Т., 2008). Наиболее сильными активаторами, оказывающими на мононуклеары стимулирующее действие, являются компоненты бактерий (St. aureus), их токсины, а также форболовый эфир уксусной кислоты, ионы кальция и опсонизированный зимозан (Fleming S.D. et al., 1991).

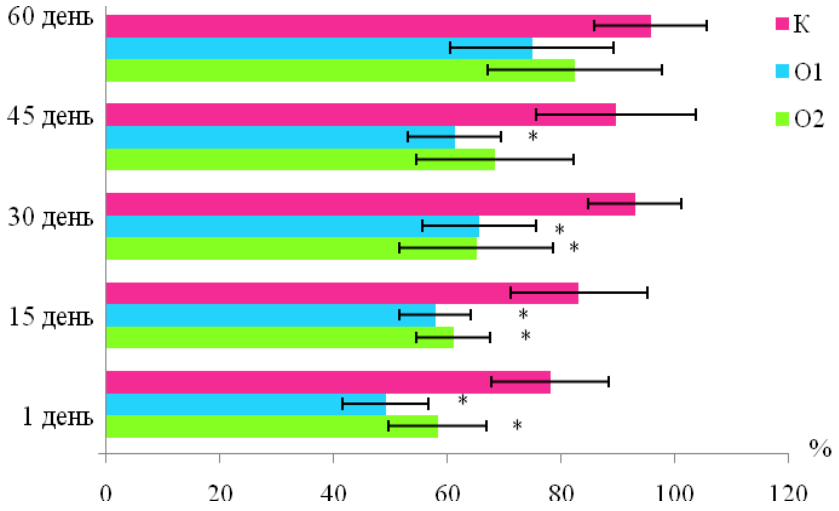

Рисунок 66 – Фагоцитарный показатель микросфер полистирольного латекса перитонеальных макрофагов в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Однако инициирующим звеном фагоцитоза является, прежде всего, распознавание частицы, лиганд – рецепторное взаимодействие (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Фрейдлин И.С., 1995).

Исходя из вышеизложенного, для оценки неспецифической защитной реакции мононуклеаров в ответ на нарушение условий внутриутробного развития необходимым является оценка их фагоцитарной активности.

Для определения фагоцитарных свойств клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов были использованы такие параметры, как процент фагоцитирующих клеток (фагоцитарный показатель), позволяющий судить об активности фагоцитоза, и число фагоцитированных частиц в пересчете на 1 клетку (фагоцитарный индекс), говорящий об интенсивности фагоцитоза.

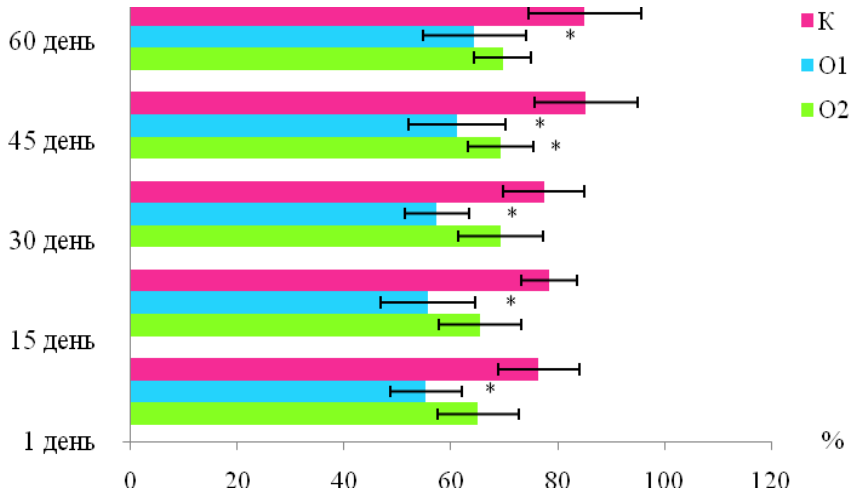

Рисунок 67 – Фагоцитарный показатель микросфер полистирольного латекса альвеолярных макрофагов в различные периоды постнатального развития
* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Так при проведении экспериментального исследования было выявлено, что как активность, так и интенсивность фагоцитоза частиц латекса во всех исследуемых клетках нарастает в соответствии с увеличением срока постнатального онтогенеза, при этом наибольшие значения регистрируются к 60-му дню эксперимента (рисунок 66, 67, 68, 69, таблица 12, 13).

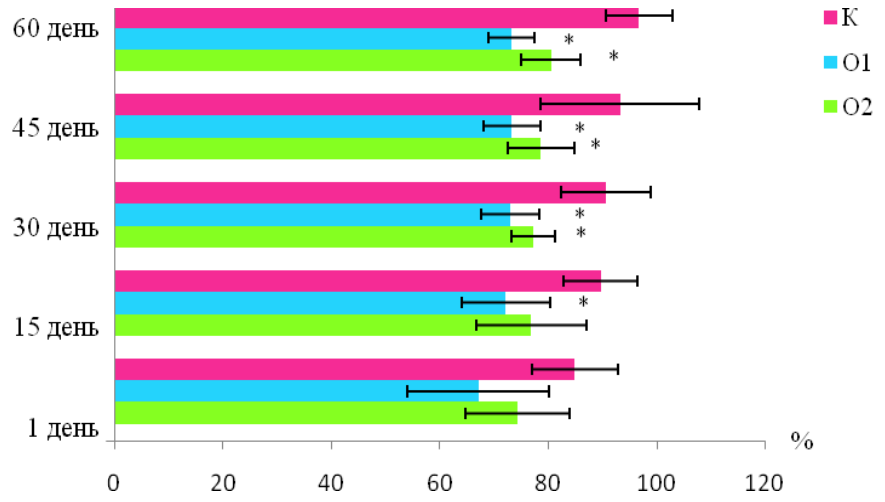

Рисунок 68 – Фагоцитарный показатель микросфер полистирольного латекса моноцитов периферической крови в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

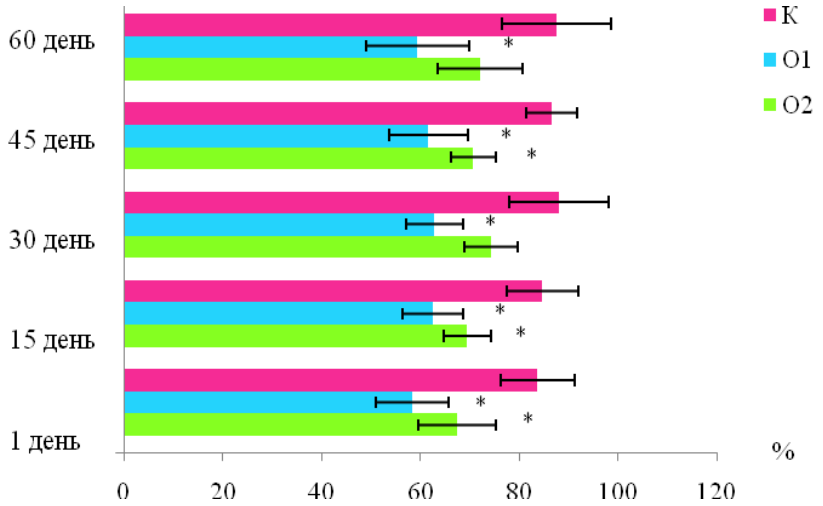

Рисунок 69 – Фагоцитарный показатель микросфер полистирольного латекса клеток Купфера в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Однако при исследовании клеток Купфера всех экспериментальных групп было выявлено, что в процессе становления половой зрелости фагоцитарная

активность в них незначительно снижается, что проявляется уменьшением фагоцитарного показателя на 45-ый и 60-ый дни онтогенеза (рисунок 69).

Анализируя данные, полученные при изучении интенсивности фагоцитоза (таблица 12, 13), было выявлено постепенное нарастание количественного состава микросфер латекса в макрофагах различной локализации пропорционально процессу постнатального развития. Однако на 45-ый день исследования фагоцитарный индекс макрофагов перитонеального экссудата в группе контроля и в опытной группе 2 оказался сниженным по сравнению с 30-ым днем (таблица 12).

Таблица 12 – Фагоцитарный индекс инертных микросфер латекса перитонеальных и альвеолярных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального развития

Группа / День	Фагоцитарный индекс, %									
	Перитонеальные макрофаги					Альвеолярные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	5,55 (4,69-6,41)	7,87 (7,28-8,46)	10,86 (10,06-11,66)	9,28 (7,97-10,59)	11,64 (9,64-13,64)	6,91 (5,34-8,48)	6,99 (5,62-8,36)	7,99 (7,58-8,4)	8,67 (7,49-9,85)	9,89 (8,11-11,67)
О1	2,69* (2,04-3,34)	3,25* (2,27-4,23)	5,06 (4,63-5,49)	5,92* (5,0-6,84)	8,26 (6,38-10,14)	2,89* (2,15-3,63)	2,95* (2,13-3,77)	3,05* (2,01-4,09)	4,28* (2,95-5,61)	4,98* (3,8-6,16)
О2	3,06* (2,61-3,51)	3,98* (3,65-4,31)	7,24 (6,32-8,16)	5,55* (4,96-6,14)	7,91* (7,52-8,3)	3,97* (3,11-4,83)	4,01* (3,11-4,91)	4,61* (3,96-5,26)	4,81* (3,85-5,77)	5,23* (4,0-6,46)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

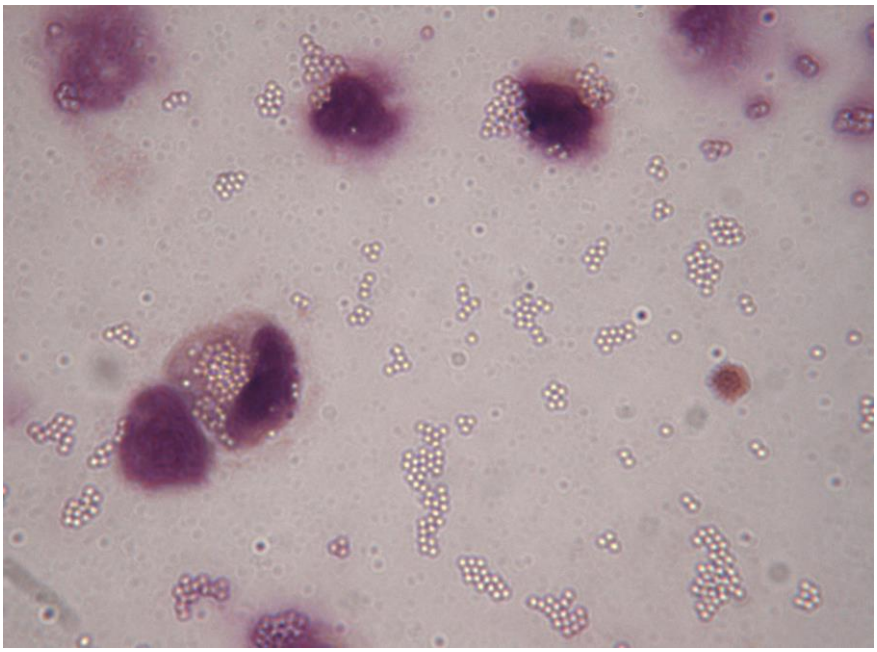

Рисунок 70 – Перитонеальный макрофаг 60-ти дневного животного, рожденного от интактной самки. В цитоплазме определяется большое количество микросфер латекса. Окраска по Романовскому – Гимзе. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

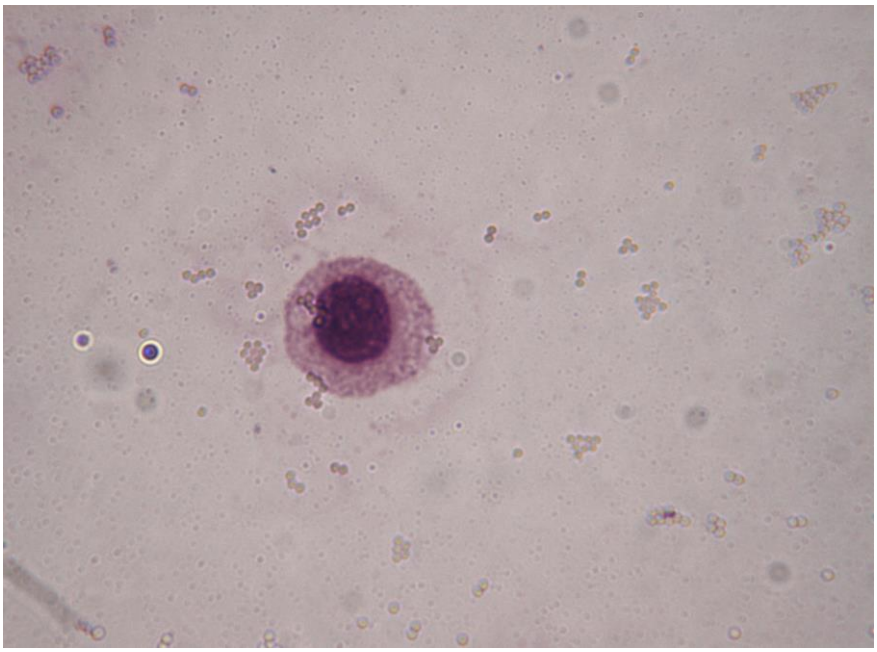

Рисунок 71 – Альвеолярный макрофаг 45-ти дневного животного, рожденного от самки с парацетамольным поражением печени. В цитоплазме определяются

единичные частицы латекса. Окраска по Романовскому – Гимзе. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

В целом, анализируя характер влияния лекарственного поражения печени на активность фагоцитарного процесса мононуклеаров потомства, было установлено угнетение соответствующих параметров в обеих подопытных группах (рисунок 70, 71). При этом наиболее выраженные изменения отмечались у крысят, рожденных от матерей с парацетамоловым поражением печени (таблица 12, 13).

Таблица 13 – Фагоцитарный индекс инертных микросфер латекса печеночных макрофагов и моноцитов периферической крови у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального развития

Группа / День	Фагоцитарный индекс, %									
	Моноциты крови					Печеночные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	10,93 (10,09-11,77)	10,82 (9,88-11,76)	10,89 (9,83-11,95)	11,13 (10,35-11,91)	11,25 (9,25-13,25)	8,11 (7,46-8,75)	9,53 (8,88-10,18)	9,66 (8,96-10,36)	10,93 (9,4-12,46)	9,6 (7,56-11,64)
О1	4,43* (3,67-5,19)	4,49* (3,69-5,29)	5,64* (4,76-6,52)	6,37* (5,21-7,53)	6,51* (4,91-8,11)	3,61* (2,89-4,33)	4,3* (3,5-5,1)	4,36* (3,4-5,32)	4,7* (4,03-5,37)	5,27* (4,7-5,84)
О2	5,59* (4,98-6,2)	6,7* (5,88-7,52)	6,65* (5,89-7,41)	6,68* (5,84-7,52)	7,73* (6,99-8,47)	4,96* (4,35-5,57)	5,46* (4,74-6,18)	5,54* (4,85-6,23)	5,95* (5,26-6,64)	5,94* (4,51-7,37)

В скобках границы 95% ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

3.6.2. Фагоцитоз бактериальной культуры S. aureus

С целью проведения комплексной оценки фагоцитарных свойств мононуклеаров, в следующей серии исследований был проведен анализ их

фагоцитарной активности в отношении живой однодневной культуры золотистого стафилококка.

При оценке влияния лекарственной патологии печени матери на активность фагоцитоза бактериальных частиц S. aureus было установлено, что в процессе постнатального развития активность фагоцитоза в мононуклеарах перитонеального экссудата и клетках Купфера постепенно увеличивается и достигает наибольших значений к 30-му дню онтогенеза, после чего происходит его незначительное снижение на 45-ый и 60-ый день (рисунок 72, 75).

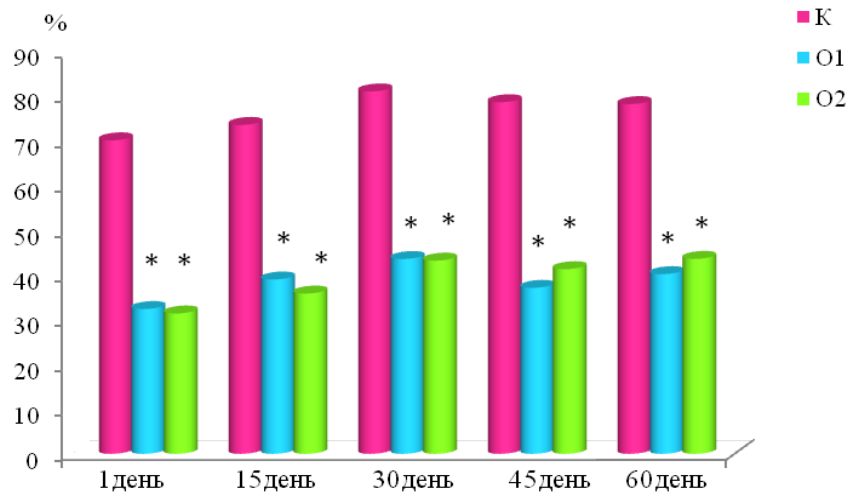

Рисунок 72 – Фагоцитарный показатель суточной культуры S. aureus макрофагов перитонеального экссудата в различные периоды постнатального развития ($p<0,05$)

Иная зависимость была выявлена при изучении фагоцитарного показателя альвеолярных макрофагов и моноцитов периферической крови (рисунок 73, 74), где наблюдалось небольшое снижение активности фагоцитарного процесса на 45-е сутки исследования.

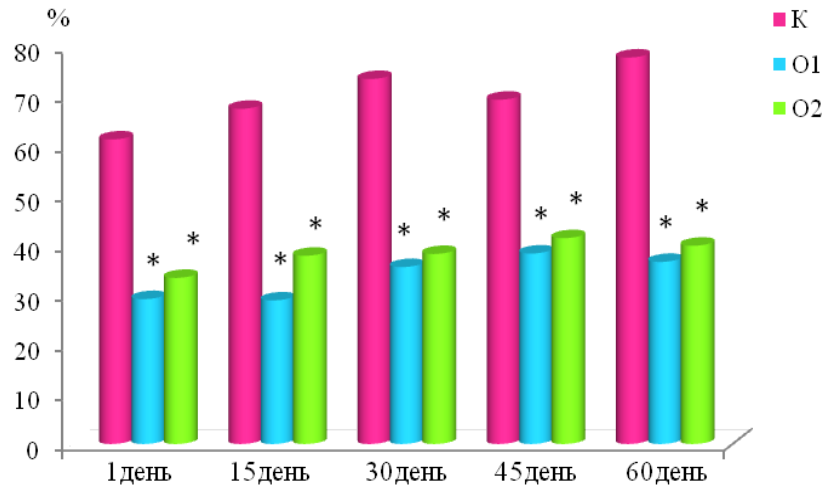

Рисунок 73 – Фагоцитарный показатель суточной культуры S. aureus альвеолярных макрофагов в различные периоды постнатального развития ($p<0,05$).

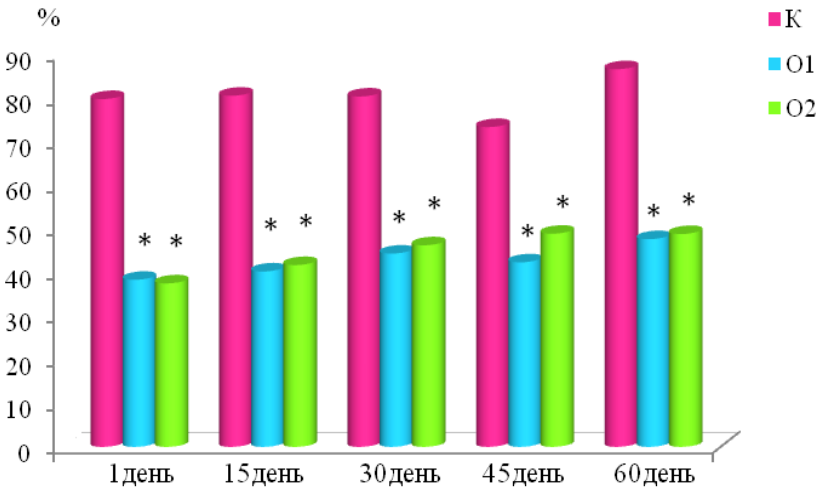

Рисунок 74 – Фагоцитарный показатель суточной культуры S. aureus моноцитов периферической крови в различные периоды постнатального развития ($p<0,05$).

Следует отметить, что при сравнительной оценке активности фагоцитоза золотистого стафилококка интактных и подопытных крысят, было выявлено достоверное угнетение исследуемого показателя у крысят, рожденных от матерей с лекарственным поражением печени.

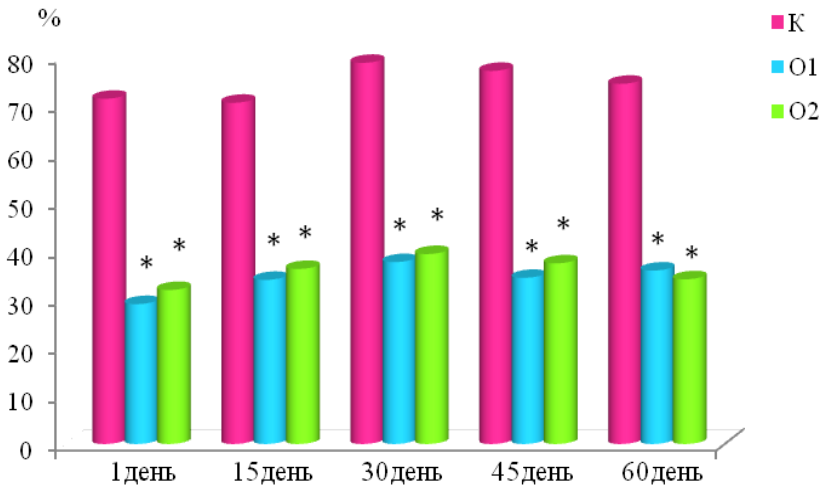

Рисунок 75 – Фагоцитарный показатель суточной культуры S. aureus печеночных макрофагов в различные периоды постнатального развития ($p<0,05$).

При исследовании интенсивности фагоцитоза была отмечена тенденция к повышению количества бактериальных частиц, захваченных перитонеальными и альвеолярными макрофагами, по мере увеличения срока постнатального развития (таблица 14). Исключение составили перитонеальные макрофаги первой опытной группы, где наблюдалось снижение фагоцитарного индекса на 15-е и 45-е сутки.

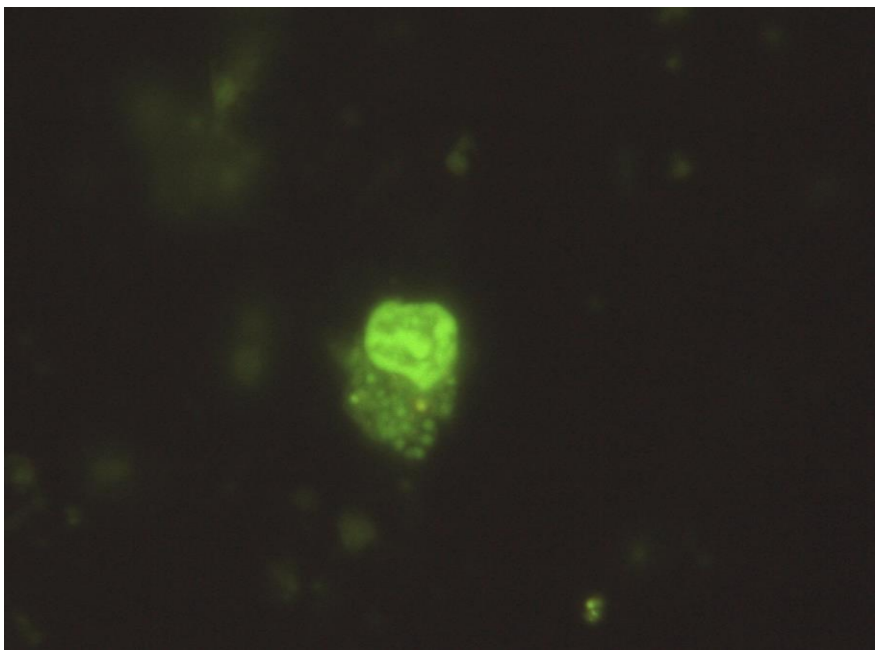

Рисунок 76 – Перитонеальный макрофаг 60-ти дневного животного, рожденного от интактной самки. В цитоплазме определяются несколько живых и одна убитая

бактериальные клетки. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Таблица 14 – Фагоцитарный индекс суточной культуры S. aureus перитонеальных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального развития

Группа / День	Фагоцитарный индекс, %									
	Перитонеальные макрофаги					Альвеолярные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	4,94 (4,14-5,74)	4,55 (3,81-5,29)	5,46 (4,76-6,16)	6,18 (4,77-7,59)	6,61 (5,92-7,3)	3,53 (2,67-4,39)	3,96 (3,41-4,51)	4,62 (3,19-6,05)	5,55 (4,59-6,51)	6,03 (4,95-7,11)
О1	2,73* (1,93-3,53)	2,48* (1,7-3,26)	3,15* (2,52-3,78)	3,06* (2,28-3,84)	3,28* (2,73-3,83)	2,18 (1,06-3,3)	2,85 (1,97-3,73)	3,07 (1,88-4,26)	3,93* (3,26-4,6)	4,38* (3,79-4,97)
О2	2,59* (1,45-3,73)	2,89* (2,19-3,59)	3,16* (2,46-3,86)	3,49* (2,75-4,23)	3,31* (2,61-4,01)	2,52 (1,7-3,34)	2,41* (1,63-3,19)	3,72 (2,7-4,74)	4,35 (3,25-5,45)	4,18* (3,71-4,65)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

При анализе интенсивности фагоцитоза в моноцитах периферической крови и печеночных макрофагах было выявлено угнетение исследуемого показателя на 45-е сутки постнатального развития (таблица 15).

Анализируя данные фагоцитарных свойств клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов, полученных у потомства матерей с лекарственной патологией печени, было выявлено, что наибольшее угнетение показателей фагоцитоза инертных микросфер латекса отмечается в экспериментальной группе с парацетамоловым поражением печени. В то же время, активность и

интенсивность фагоцитоза бактериальной культуры снижены в большей мере у подопытных крысят от матерей с тетрациклиновой гепатопатией.

В целом полученные результаты исследования позволили выявить тенденцию к угнетению фагоцитарных свойств клеток СМФ у крысят, рожденных от матерей с лекарственным поражением печени (рисунок 76, 77).

Таблица 15 – Фагоцитарный индекс суточной культуры S. aureus моноцитов периферической крови и печеночных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального развития

Группа / День	Фагоцитарный индекс, %									
	Моноциты крови					Печеночные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	3,07 (2,56-3,58)	4,23 (3,41-5,05)	4,17 (3,37-4,97)	3,75 (3,5-4,0)	4,86 (4,37-5,35)	3,01 (2,52-3,5)	3,21 (2,58-3,84)	3,49 (3,24-3,74)	3,2 (2,87-3,53)	3,76 (3,04-4,48)
О1	2,07 (1,31-2,83)	1,9* (1,12-2,68)	2,77 (2,16-3,38)	2,44* (1,7-3,18)	2,62* (1,9-3,34)	1,82* (1,15-2,49)	1,95 (1,13-2,77)	2,29* (1,45-3,13)	1,95* (1,4-2,5)	2,09* (1,62-2,56)
О2	2,13 (1,56-2,7)	2,16* (1,67-2,65)	2,73* (2,24-3,22)	2,64* (2,19-3,09)	2,81* (2,28-3,34)	1,78 (1,02-2,54)	2,09 (1,58-2,6)	2,53* (1,98-3,08)	2,26* (1,75-2,77)	2,88 (1,9-3,86)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Похожие результаты были получены другими исследователями, показавшими угнетение фагоцитарных свойств мононуклеаров при моделировании поражения печени иного генеза, а именно хроническом аутоиммунном, холестатическом и токсическом гепатите, а также гепатите, вызванном введением супернатанта E. Coli и D – галактозамина (Брюхин Г.В.,

Грачев А.Ю., 1990; Брюхин Г.В., 1994, 1997; Брюхин Г.В., Шаврина Е.Ю., 2011; Шаврина Е.Ю., 2011). Ослабление фагоцитарных свойств было выявлено также при взаимодействии макрофагов с димерной формой РНКазы Bacillus intermedius (Калачева Н.В., Коновалова О.А. с соавт., 2008), азидом натрия (Милюкене В.В. с соавт., 2007), а также при экстремальных воздействиях на организм (Харин Г.М., 1994) и экспериментальном моделировании цирроза печени (Муслимов С.А., Мусина Л.А., 2006).

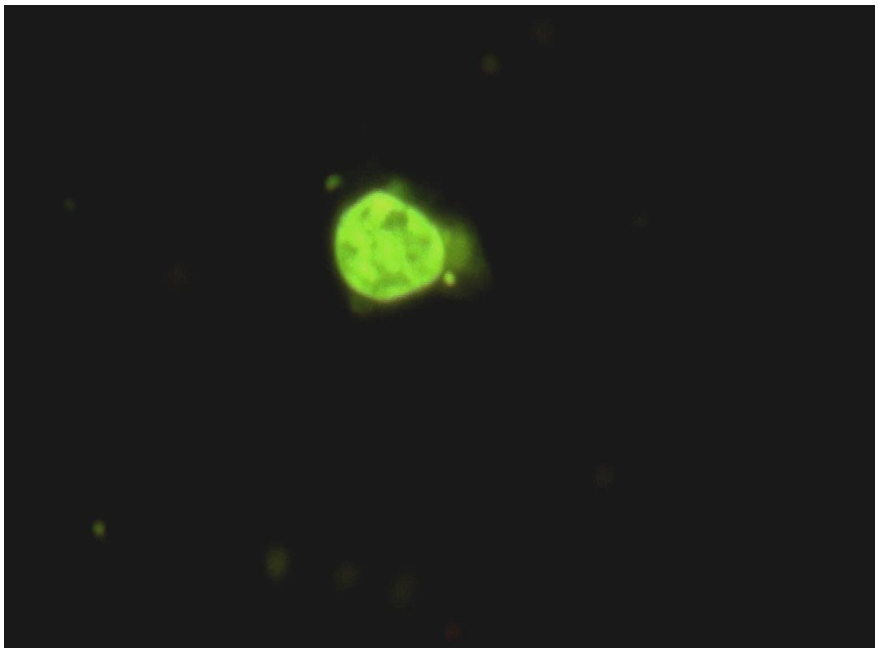

Рисунок 77 – Альвеолярный макрофаг 45-ти дневного животного, рожденного от самки с тетрациклиновым поражением печени. В цитоплазме определяется одна живая бактериальная клетка. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Интересные данные были получены Ляминой С.В. с соавт. (2011) при выявлении различий фагоцитарных свойств макрофагов М1 и М2 фенотипов. В ходе исследования было установлено, что М1 макрофаги обладают значительно более выраженными фагоцитарными свойствами, чем мононуклеары М2 фенотипа, что связано с более высокой активностью рецепторного поля М1

клеток (Platt N., Haworth R. et al., 1999) и в то же время большей специализацией М2 фагоцитов на захвате поврежденных и разрушенных клеток (Cairo G., Locati M. et al., 2010).

При изучении фагоцитарного процесса мононуклеаров при воспалительных заболеваниях матки и придатков (Храмова И.А., Кольцов И.П. с соавт., 2010) были получены неоднозначные результаты. Так, совершенно очевидным стал тот факт, что показатели фагоцитарной реакции определялись характером течения основного заболевания, при этом острый метроэндометрит сопровождался усилением фагоцитоза, хронический – его угнетением, что связано, вероятно, с увеличением общего числа мононуклеаров при воспалительных процессах (Моисеева Е.Г., 2008), и как следствие, усилением их фагоцитарной активности. Кроме того, исследуя влияние общей гипертермии на функциональную активность альвеолярных макрофагов (Самсонов А.В., Долотина Н.В., 2011) было определено ее стимулирующее влияние на характер фагоцитарных реакций, тогда как при сочетанном действии гипоксии и гипертермии наблюдался обратный эффект (Лобанова Е.М., Таганович А.Д., 2005). Исследование влияния наночастиц ферромагнетика на клетки иммунной системы позволило установить зависимость фагоцитоза от дозы и времени их воздействия (Белова О.Б., Винничук Ю.Д., 2011). Курбановым А.И. (2008) было выявлено модулирующее влияние на механизмы фагоцитоза различных антиоксидантов, таких как аскорбиновая кислота, витамин Е, мелатонин, что связано, главным образом, с нейтрализацией продуктов респираторного взрыва, кислородных радикалов, всегда образующихся при фагоцитозе (Брудастов Ю.А., Журлов О.С., 2008; Bals R., Hiemstra P.S., 2004).

Интересные результаты были получены при исследовании мононуклеаров крови у больных туберкулезом легких (Новицкий В.В., Уразова О.И., 2006), у которых на фоне сниженной концентрации специализированных для фагоцитоза рецепторов наблюдалось усиление фагоцитарной активности клеток, связанное, по-видимому, с воздействием цитокинзависимых механизмов (Ерохин В.В., Ельшанская М.П., 1990).

В тоже время использование экспериментальной терапевтической вакцины Flu/ESAT-6 (Заболотных Н.В., Стукова М.А. с соавт., 2009), а также легочного сурфактанта (Ерохин В.В., Лепеха Л.Н. с соавт., 2012) у животных, зараженных туберкулезом легких, вызывала стимуляцию Th-1 – зависимого иммунного ответа, поглотительной и микробоцидной способности макрофагов. Кроме того, усилению фагоцитарных свойств способствовал иинтерфероиндуцирующий молекулярный комплекс дрожжевой РНК – тилорон (Karpov A.V., Yakovenko L.F., 2006) и синтетические пептиды сумки Фабрициуса (Степанов А.В., Цепелев В.Л., 2014).

Не подлежит сомнению, что при внедрении в организм чужеродных микроорганизмов незамедлительно включаются различные уровни его защиты. Прежде всего, активизируются факторы естественной резистентности, которые первыми вступают в борьбу с инфекционными агентами после преодоления ими поверхностных барьеров. При этом ключевым звеном в механизмах неспецифической защиты служит клеточно – опосредованный ответ специализированных тканевых макрофагов, нейтрофилов, дендритных клеток и натуральных киллеров (Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2000), которые обеспечивают фагоцитарную реакцию с последующим уничтожением захваченных частиц (Маянский А.Н., Пикуза О.И., 1993; Дамбаева С.В., с соавт., 2002; Bassoe C.F.et al., 2000). Однако для макрофагов характерна еще одна функция, связанная с преобразованием антигенов и последующей передачей их Т – лимфоцитам (Чкадуа Г.З., с соавт., 2002; А.И. Курбанов, 2008; G. Nau, et al., 2002).

Фагоцитарный процесс, являясь прямым механизмом защиты макроорганизма, включает последовательно сменяющие друг друга стадии хемотаксиса, адгезии, захвата, киллинга и деградации бактериальных частиц (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Долгушин И.И., 2009). При этом следует отметить, что активация макрофагов и запуск каскада реакций фагоцитоза инициируются, прежде всего, появлением какого-либо раздражителя, а особенно живых бактериальных агентов, их токсинов, а также ионов кальция и гранул

зимозана (Fleming S.D., 1991). В результате в мононуклеарах резко усиливаются метаболические процессы, в цитоплазме увеличивается активность лизосомального аппарата и органоидов синтеза (Воскресенский А.М., 1984; Y. Lombard et al., 1988).

Однако при развитии стрессовой реакции в ответ на какое – либо воздействие на определенном этапе возникает сбой, сопровождающийся снижением числа синтезирующихся молекул адгезии, рецепторов и нарушением лиганд – рецепторного взаимодействия. Кроме того, нарушения затрагивают и актиновый цитоскелет фагоцитов, тем самым угнетая явление миграции и положительного хемотаксиса (Ke X., Terashima M., 2001). Так, активирующийся в макрофагах оксид азота и цГМФ в присутствии ионов Ca^{2+} вызывают дезорганизацию актиновых филаментов (Hall A., 1998).

Общеизвестно, что аппарат цитоскелета принимает непосредственное участие в процессах фагоцитоза (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Мухамедова Н.М. с соавт., 2011), причем компоненты цитоскелета при этом претерпевают некоторые изменения, например, увеличивая содержание F – актина (Capo C. et al., 1998). Ключевым компонентом сигнального каскада являются ионы кальция, которые с помощью белка – рецептора кальмодулина запускают активацию фосфолипазы С, которая, в свою очередь, регулирует реакцию преобразования инозитолбифосфата в инозитолтрифосфат, способствующий повышению концентрации ионов Са, и диацилглицерол, запускающий протеинкиназу С (Илларионов В.Е., 1992). В результате повышения цитозольного Ca^{2+} фагоциты быстро активируются и вовлекаются в фагоцитарный процесс.

Вместе с тем можно предположить, что при моделировании поражения печени матери у потомства возникает повреждение компонентов цитоскелета (Брюхин Г.В., 2000), в частности актиновых нитей, а также снижение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+}, обусловленное нарушением гематоплацентарного барьера и воздействием на плазмолемму клеток токсичных

продуктов метаболизма, поступающих из материнского организма (Савченков Ю.И., Лобынцев К.С., 1980; Шехтман М.М., 1987; Медведь В.И., 2007).

Таким образом, при исследовании влияния лекарственно-индуцированной патологии печени на становление системы мононуклеаров потомства было выявлено угнетение фагоцитарных свойств клеточных элементов всех изучаемых компартментов, что связано, в первую очередь, с нарушением неспецифических механизмов защиты организма плода.

3.6.3. Микробоцидная активность бактериальной культуры S. aureus

Для определения степени завершенности и эффективности фагоцитоза была произведена оценка числа погибших в фагоцитах бактерий. В ходе исследования было отмечено, что бактерицидная активность в большей степени выражена у альвеолярных макрофагов и макрофагов перитонеального экссудата (рисунок 78, 79).

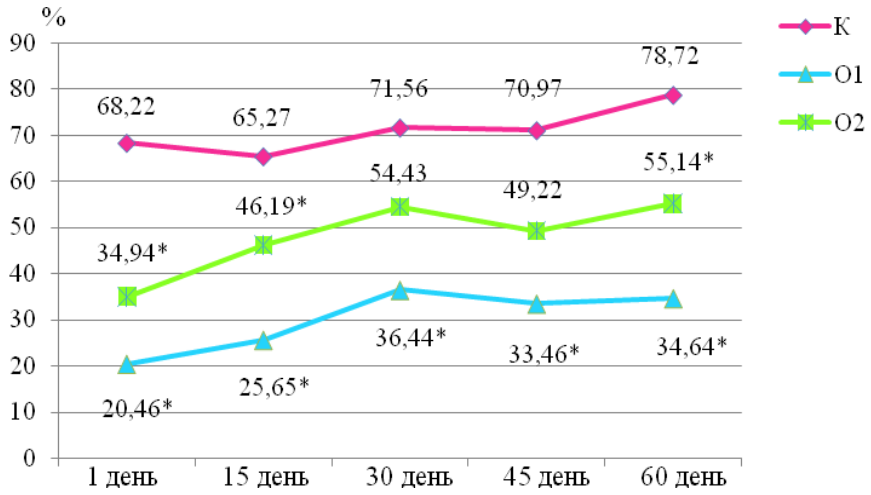

Рисунок 78 – Киллинговая активность суточной культуры S. aureus перитонельных макрофагов в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

В то же время, анализируя данные, полученные в ходе изучения влияния патологии печени матери на микробоцидные механизмы мононуклеаров у потомства, было выявлено, что во всех исследуемых клетках показатель киллинговой активности достоверно ниже у подопытных крысят по сравнению с контрольными (рисунок 78, 79, 80, 81).

Данные, полученные при изучении влияния патологии гепатобилиарной системы матери на бактерицидную активность мононуклеаров потомства тесно согласуются с данными литературы. Так, при исследовании киллинговой активности фагоцитов у больных хронической гранулематозной болезнью (Дамбаева С.В., Мазуров Д.В. с соавт., 2002) был выявлен дефект НАДФН – оксидазы, катализирующей реакцию образования кислородных радикалов, что вело, в конечном счете, к торможению явления микробоцидности. В то же время прием этими пациентами некоторых иммуномодуляторов, например, полиоксидония, резко повышал значения киллинговой активности (Дамбаева С.В., Мазуров Д.В. с соавт., 2000).

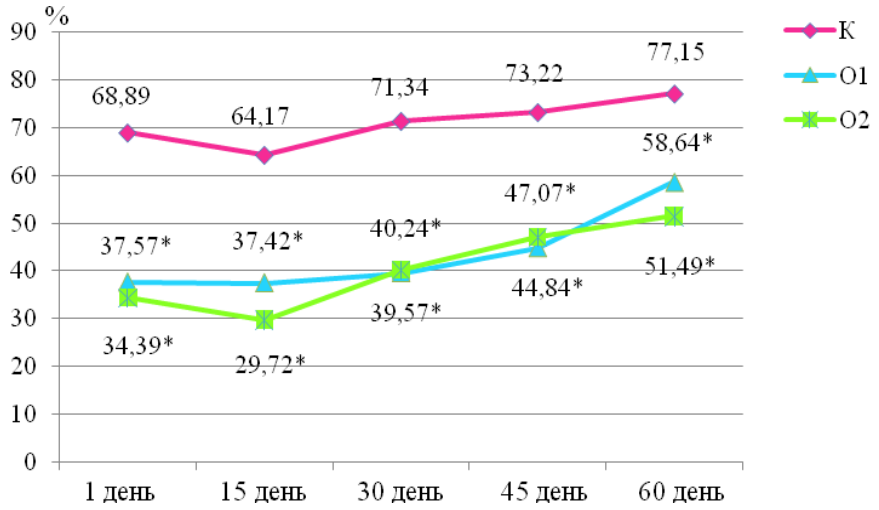

Рисунок 79 – Киллинговая активность суточной культуры S. aureus альвеолярных макрофагов в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

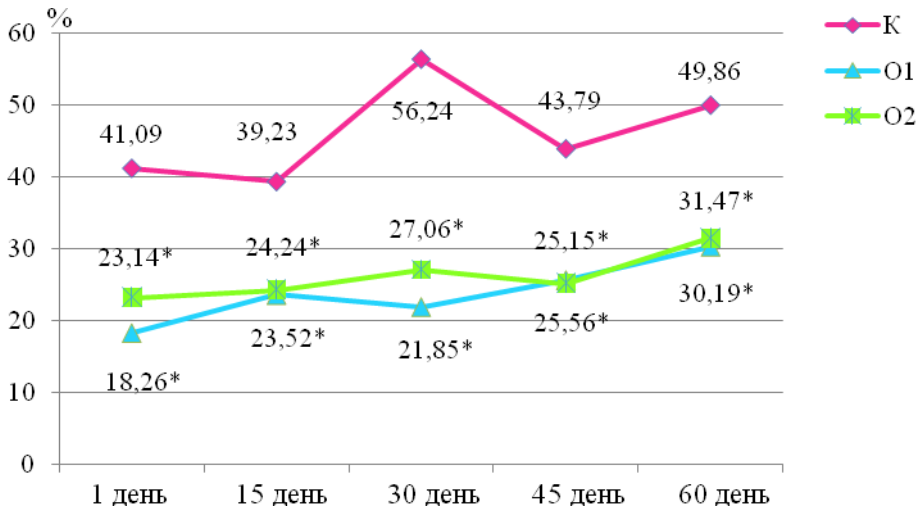

Рисунок 80 – Киллинговая активность суточной культуры S. aureus моноцитов периферической крови в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

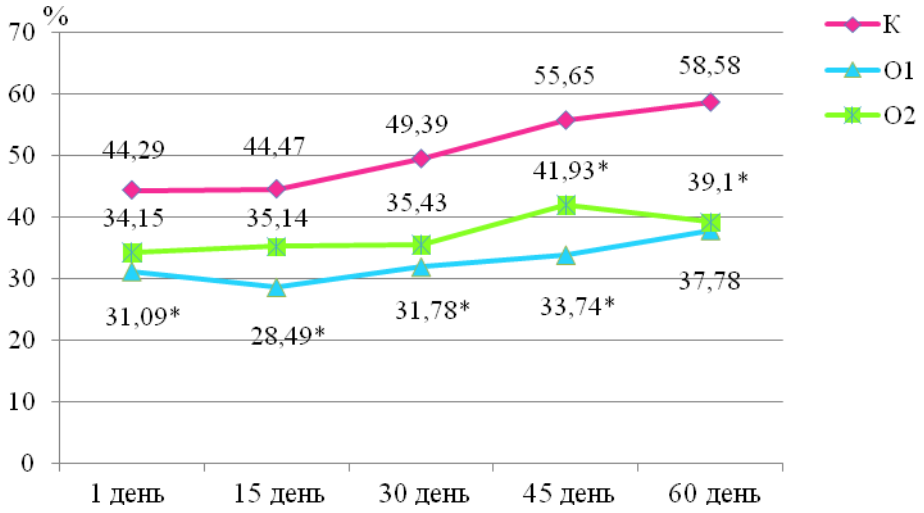

Рисунок 81 – Киллинговая активность суточной культуры S. aureus клеток Купфера в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Неотъемлемой частью фагоцитарного процесса является преобразование поглощенных фагоцитами частиц гидролитическими энзимами лизосом, ведущее к полному или частичному их лизису (Парохонский А.П., 2005; Рудик Д.В., Тучина Е.С. с соавт., 2006; Тихомирова Е.И. с соавт., 2008). При этом механизмы,

участвующие в этом процессе, достаточно многочисленны и связаны с содержанием цитозольного кислорода. Причем если бактерицидная активность мононуклеаров осуществляется как кислородзависимой, так и кислороднезависимой системами, а эффективность киллинга зависит от соотношения и взаимодействия данных механизмов (Мазуров Д.В., с соавт., 2000; Shiloh M.U. et al., 1999), все же большее значение уделяется именно кислородзависимым механизмам, активация которых связана с продукцией свободнорадикальных продуктов (Коркина Л.Г., Величковский Б.Т., 1988; Брудастов Ю.А. с соавт., 2008; Курбанов А.И., 2008; Fazal N., 1997; Coste A., Linas M.D. et al., 2002).

При попадании чужеродной частицы в гиалоплазму фагоцита в плазматической мембране формирующейся фагосомы начинается незамедлительная активация ферментов дыхательной цепи. В результате в клетке появляются высокоактивные кислородные метаболиты, такие как перекись водорода, синглетный кислород, гидроксильный радикал, супероксид-анион, действие которых направлено на активацию перекисного окисления липидов и уничтожение фагоцитированных микроорганизмов (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Brunk U., Gadenas E., 1988; Stites B.P., 1997; Nauseef W.M., 1999).

Логично предположить, что при моделировании лекарственного поражения гепатобилиарной системы самок крыс развивается печеночная недостаточность, что проявляется нарушением белковосинтетической, инактивирующей, дезинтоксикационной функции. В результате продукты нарушенного метаболизма оказывают токсическое действие на гемато-плацентарный барьер, что приводит к повышению его проницаемости и нарушению условий внутриутробного развития, что обуславливает дисморфогенез различных функциональных систем у потомства. Изменения метаболизма затрагивают различные уровни организации живой материи, в том клеточный, где наряду с повреждением компонентов цитоскелета клеток наблюдается нарушение

активации ферментов дыхательной цепи, продукции свободных радикалов и процессов перекисного окисления липидов.

3.7. Ловушкообразующая способность клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов

В настоящее время не вызывает сомнения, что функционирование иммунной системы организма находится под неукоснительным влиянием различных факторов неспецифической резистентности (Грачев А.Н., 2008). При этом ключевую роль в реализации защитного потенциала играет иммунофагоцитарная система, выполняющая, одновременно, и функцию регулирования гомеостаза (Исачкова Н.Ю., Плехова Н.Г., 1997; Еремеев В.В., Майоров К.Б., 2002)

Основными клетками, которым отводится роль «защитников», осуществляющих реакции регулирования механизмов врожденного иммунитета, являются макрофаги (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1989; Маянский Д.Н., Пикуза О.И., 1993; Черешнев В.А. с соавт., 2002; Азнаурян А.В., 2004), входящие в состав системы мононуклеарных фагоцитов (Van Furth R.et al, 1972). Многочисленными исследованиями установлена полифункциональность данных клеток (Маянский Д.Н., 1985; Маянский Д.Н., 1991; Титов В.Н., 2003; Лобанова Е.М.,2004; Лямина С.В. с соавт., 2011).

В процессе фагоцитоза поглотительная способность макрофагов постепенно снижается, что связано с нарушением рецепторного поля мононуклеаров и истощением функциональных резервов фагоцита и, как следствие, приводит к невозможности адекватного реагирования на внедрение чужеродных агентов. Наряду с фагоцитарными свойствами, осуществляемыми посредством внутриклеточной бактерицидности, а также высокоактивного поверхностно-рецепторного аппарата, выраженной цитохимической и секреторной активности,

было выявлено еще одно уникальное свойство макрофагов. Преодолев все резервы внутриклеточного фагоцитоза, мононуклеары запускают следующий механизм своей бактерицидности, образуя внеклеточные ДНК-содержащие сетеподобные структуры – внеклеточные ловушки. Однако первоначально ловушкообразующая способность была открыта в отношении нейтрофильных гранулоцитов (Brinkmann V. et. al., 2004).

В 2004 году в институте Макса Планка (Германия) группой ученых под руководством Brinkmann V. впервые был открыт механизм внеклеточной бактерицидности нейтрофилов периферической крови – нейтрофильные внеклеточные ловушки (Neutrophil Extracellular Traps NET´s, НВЛ) (Brinkmann V. et. al., 2004), способные к захвату, фагоцитозу корпускулярных частиц и их уничтожению (Коротина О.Л., 2012; Urban CF et. al., 2006; McDonald B., 2012; Pilsczek F. et. al., 2010; Fuchs T.A. et al., 2007; Steinberg B.E., Grinstein S., 2007; Neeli I. et al., 2009). Это событие явилось кульминацией в понимании жизненного цикла и антибактериальной функции нейтрофильных гранулоцитов (Долгушин И.И. с соавт., 2009).

Позднее было установлено, что к образованию внеклеточных ловушек способны не только нейтрофилы, но и клетки системы мононуклеарных фагоцитов (Долгушин И.И., с соавт., 2012; Helenbrand K.M., 2013; Mohanan S., 2013; Ohn A.Chow, 2010; Steve J. Webster, 2010; vonKöckritz – Blickwede M., 2009; Wong K.W., 2013).

Закономерным процессом завершения жизнедеятельности клетки является ее гибель. При этом окончание жизненного цикла связано как с развитием внутриклеточных патологических процессов, так и с естественным старением биологических структур, поэтому клеточная гибель разворачивается по одному из двух принципиально различных путей (Агол В.И., 1996; Манских В.Н., 2007; Едранов С.С., 2012). При апоптозе, генетически запрограммированной гибели, происходит конденсация хроматина, образование цитоплазматических выпячиваний, сморщивание органоидов, фрагментация ядра и распад клетки с

образованием апоптотических телец. Эти события ведут к уплотнению органелл, которые, однако, сохраняют свою целостность на всех стадиях апоптоза (Белушкина Н.Н., Белецкий И.П., 2004; Oppenheim R.W., 1999; Johnstone R. W., 2002; Nicotera P., Melino G., 2004; Okada H., Mak T. W., 2004; Degenhardt et al., 2006). При некрозе, возникающем вследствие патологического процесса, происходит разобщение внутриклеточных ионов, набухание клетки, разрыв актинового цитоскелета и разрушение цитоплазматической мембраны (Padanilam B.J., 2003; Фирсова В.Г., 2013). При образовании внеклеточных ловушек - «нетозе» (NETosis), третьем варианте судьбы нейтрофила - происходят принципильно отличные изменения клетки, ведущие, в конечном итоге, к прекращению ее жизнедеятельности (Takei H. et. al., 1996; Fuchs T., 2007; Urban C. et al., 2009).

При этом процесс формирования экстрацеллюлярных ловушек сопровождается характерными морфологическими изменениями. Прежде всего, происходит стимуляция образования свободнорадикальных продуктов (Кравцов А.Л., 2012). Форма клетки становится уплощенной, кариолемма утрачивает свою структуру, становясь более рыхлой, затем начинает постепенно разрушаться, одновременно нарушается целостность органоидов внутриклеточного пищеварения и компоненты лизосом смешиваются с ядерным хроматином (Кравцов А.Л., 2012), однако фрагментации ДНК не происходит (Fuchs T., 2007). Хроматин выходит в цитоплазму и заполняет весь внутриклеточный объем, затем происходит смешивание ядерного и цитоплазматического компартментов. Следующим этапом является выброс ДНК и других компонентов будущей ловушки во внеклеточное пространство с формированием сетеподобной структуры, куда попадают бактерии, при этом клетка погибает. В связи с тем, что под действием ДНКазы внеклеточные сети подвергаются инволюции, предполагается, что основным компонентом ловушек является ДНК (Кравцов А.Л., 2012) (рисунок 94, 95, 96, 97).

Таким образом, формирование внеклеточных ловушек является новым способом гибели клеток, отличающимся и от апоптоза, и от некроза (Коротина О.Л., 2012).

Данные литературы свидетельствуют о том, что новому механизму бактерицидности, осуществляемому фагоцитами, уделяется огромное внимание (Brinkmann V. et al., 2004; Urban C.F. et al., 2006; Brinkmann V., Zychlinsky A., 2007; Fuchs T.A. et al., 2007; Steinberg B.E., Grinstein S., 2007; Neeli I. et al., 2009; Florian H. Pilsczek et al., 2010).

Исходя из вышеизложенного, для комплексной оценки фагоцитарных свойств мононуклеаров при нарушении условий внутриутробного развития необходимым является оценка их способности к образованию внеклеточных ловушек. К тому же отсутствуют данные, показывающие, как изменяются процессы ловушкообразования мононуклеаров с возрастом.

Для определения ловушкообразующей способности клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов были использованы такие параметры, как число макрофагов, способных к образованию ловушек и их размеры (длина хвостов внеклеточных нитей). Об активности внеклеточных макрофагальных ловушек судили по числу активных ловушек (количество внеклеточных структур, захвативших S. aureus), индексу макрофагальной ловушки (число бактерий в 100 подсчитанных внеклеточных ловушках в пересчете на 1 ловушку) и киллинговой активности (процент убитых поглощенных микроорганизмов из расчета на одну макрофагальную ловушку).

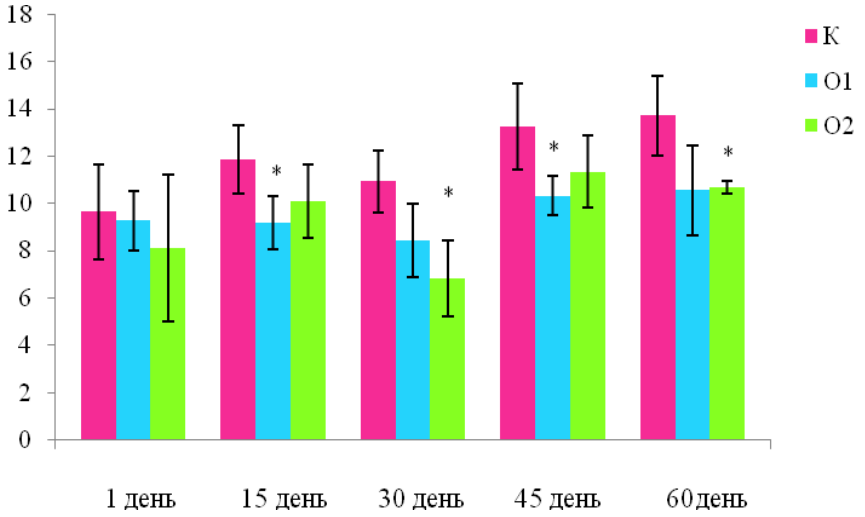

Рисунок 82 – Количество внеклеточных ловушек, образуемых макрофагами перитонеального экссудата в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

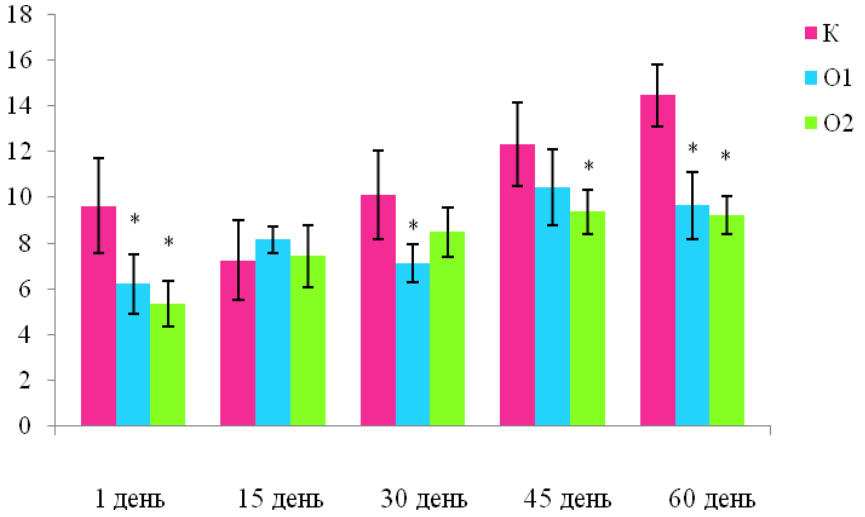

Рисунок 83 – Количество внеклеточных ловушек, образуемых альвеолярными макрофагами в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

При анализе результатов, полученных при исследовании количества ловушек было установлено, что как моноциты периферической крови, так и тканевые макрофаги способны к образованию внеклеточных ловушек (рисунок 82, 83, 84).

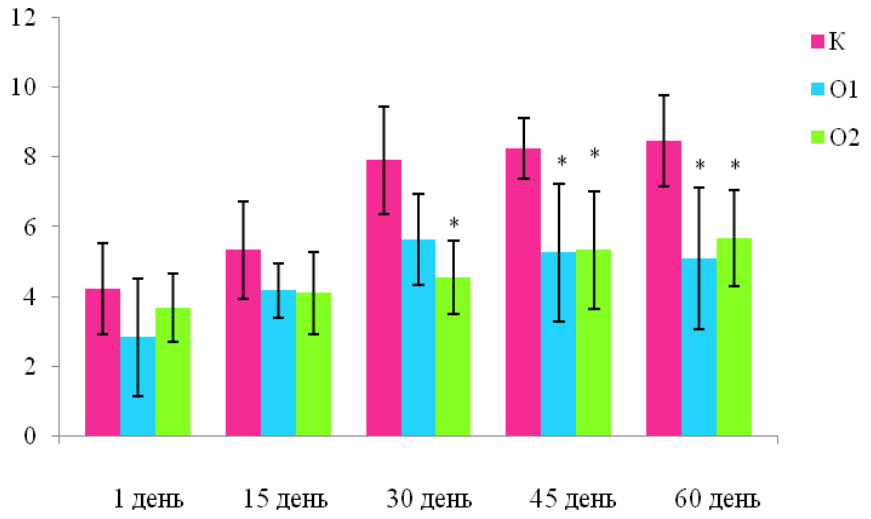

Рисунок 84 – Количество внеклеточных ловушек, образуемых моноцитами периферической крови в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

При этом наибольшей ловушкообразующей способностью обладают перитонеальные и альвеолярные макрофаги, в меньшей степени – моноциты периферической крови.

В то же время, анализируя динамику изменения количества макрофагальных внеклеточных ловушек с возрастом, отмечается тенденция к увеличению их числа к достижению периода половой зрелости (рисунок 82, 83, 84). Обращает на себя внимание, что у подопытных крысят ловушкообразующая способность исследуемых мононуклеаров снижена по сравнению с контролем.

Одним из показателей ловушкообразующей способности является длина внеклеточных нитей ДНК (Савочкина А.Ю., 2012).

Анализ величины хвоста макрофагальных внеклеточных ловушек позволил выявить следующую закономерность. У интактных животных наибольшая величина хвоста характерна для моноцитов периферической крови, а у подопытных животных максимальная длина хвоста зарегистрирована у макрофагов брюшной полости и альвеолярных макрофагов. При этом

исследуемый показатель у опытных крысят существенно превышает таковой в контроле (рисунок 85, 86, 87).

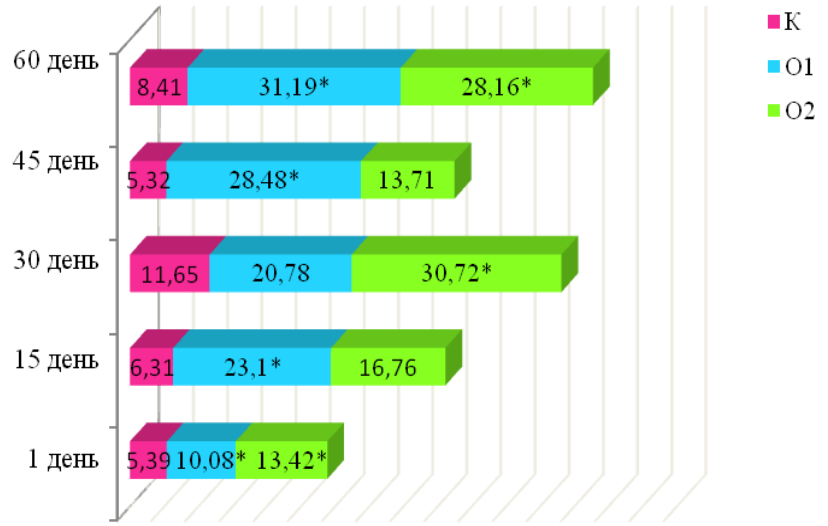

Рисунок 85 – Длина хвостов макрофагальных внеклеточных ловушек, образованных перитонеальными макрофагами в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

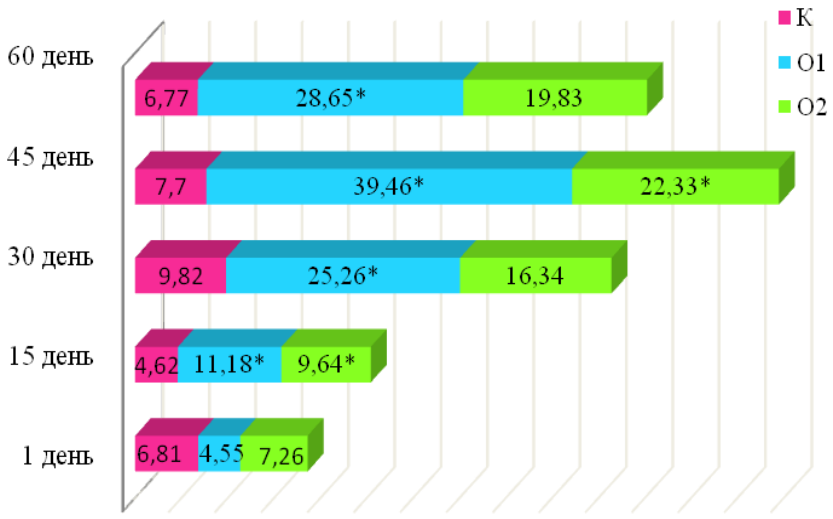

Рисунок 86 – Длина хвостов макрофагальных внеклеточных ловушек, образованных легочными макрофагами в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

При изучении активности исследуемых внеклеточных ловушек было выявлено, что с возрастом число сетеподобных структур с «прилипшими» на них стафилококками постепенно увеличивается (рисунок 88, 89, 90).

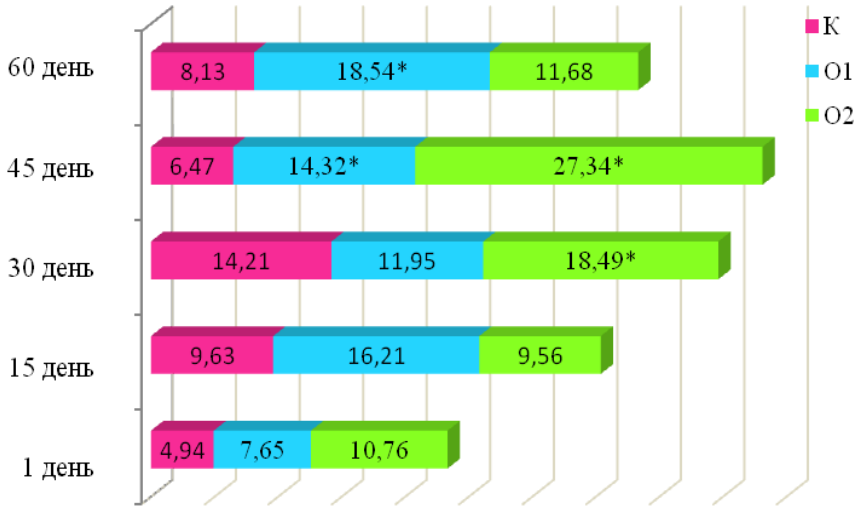

Рисунок 87 – Длина хвостов моноцитарных внеклеточных ловушек в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

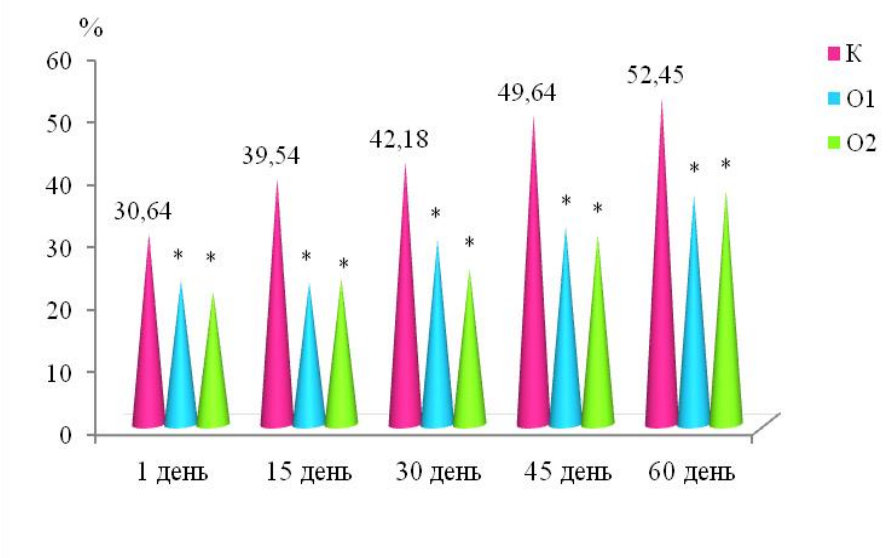

Рисунок 88 – Число активных макрофагальных внеклеточных ловушек, образованных перитонеальными макрофагами в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

В результате исследования среднего числа бактериальных частиц, захваченных одной образованной мононуклеарами ловушкой, было выявлено, что количество микроорганизмов в сетях нарастает соответственно сроку постнатального развития во всех исследуемых группах (таблица 16, 17). Исключение составили перитонеальные макрофаги первой опытной группы на 15-ый и 45-ый день экспериментального исследования, альвеолярные макрофаги второй опытной группы на 45-ый день исследования и моноциты крови первой опытной группы на 60-ый и второй опытной группы на 45-ый день онтогенеза.

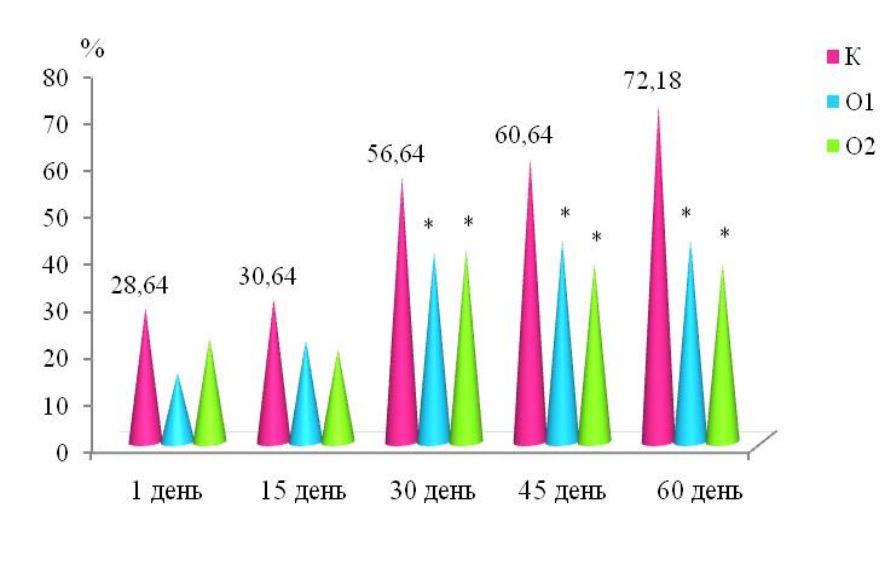

Рисунок 89 – Число активных макрофагальных внеклеточных ловушек, образованных альвеолярными макрофагами в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Внеклеточные ловушки благодаря своей трехмерной структуре способны неспецифически улавливать и фиксировать любые расположенные вне клетки частицы, которые необходимо уничтожить (Перова М.Д., Шубич М.Г., 2011; Плеханова Е.В. с соавт., 2012).

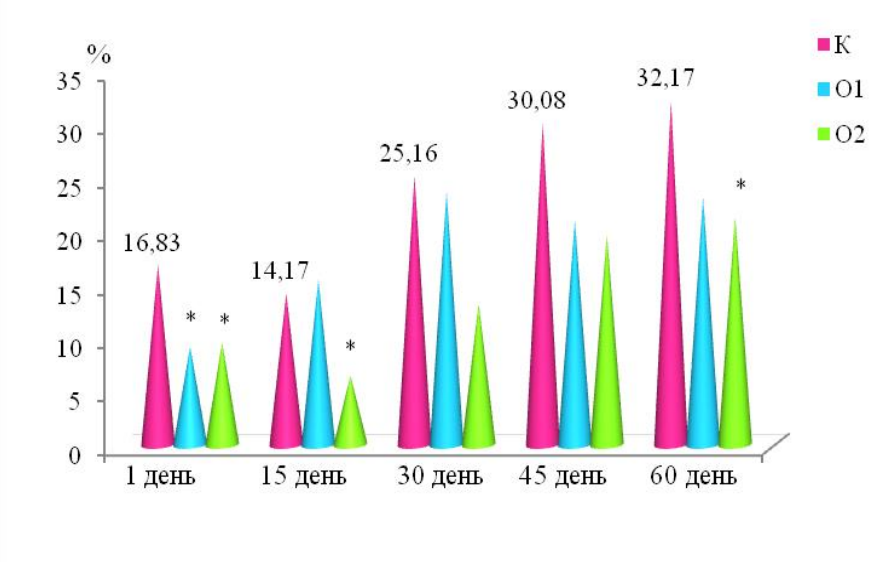

Рисунок 90 – Число активных моноцитарных внеклеточных ловушек в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Таблица 16 – Индекс внеклеточных макрофагальных ловушек перитонеальных и альвеолярных макрофагов у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального онтогенеза

	Индекс макрофагальной ловушки									
	Перитонеальные макрофаги					Альвеолярные макрофаги				
	1	15	30	45	60	1	15	30	45	60
К	4,15 (3,19-5,11)	4,82 (4,59-5,05)	5,6 (5,27-5,93)	5,81 (4,95-6,67)	6,12 (5,81-6,43)	1,52 (1,03-2,01)	2,66 (2,19-3,13)	3,73 (3,5-3,96)	3,64 (3,31-3,97)	3,91 (3,6-4,22)
О1	3,95 (3,05-4,85)	3,89* (3,32-4,46)	5,34 (4,89-5,79)	5,23 (5,05-5,41)	4,79* (4,14-5,44)	0,79 (0,38-1,2)	1,6* (1,35-1,85)	1,97* (1,7-2,24)	2,11* (1,64-2,58)	2,49* (1,71-3,27)
О2	2,64 (1,48-3,8)	2,5* (1,44-3,56)	4,92* (4,59-5,25)	5,07 (4,7-5,44)	5,24* (5,01-5,47)	1,47 (1,24-1,7)	1,57* (1,39-1,75)	2,17* (1,97-2,37)	1,88* (1,55-2,21)	2,31* (1,98-2,64)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Таблица 17 – Индекс внеклеточных ловушек, образованных моноцитами периферической крови у потомства экспериментальных животных в различные периоды постнатального онтогенеза

Группа	Индекс макрофагальной ловушки				
	Моноциты периферической крови				
День	1	15	30	45	60
К	2,1 (1,73-2,47)	2,45 (1,9-3,0)	3,96 (3,67-4,25)	3,03 (2,74-3,32)	3,16 (2,93-3,39)
О1	1,07* (0,76-1,38)	2,07 (1,84-2,3)	2,31* (1,98-2,64)	2,4* (2,07-2,73)	2,1* (1,98-2,22)
О2	1,85 (1,32-2,38)	2,22 (1,83-2,61)	2,34* (1,95-2,73)	2,43 (2,06-2,8)	2,66* (2,43-2,89)

В скобках границы 95%ДИ

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

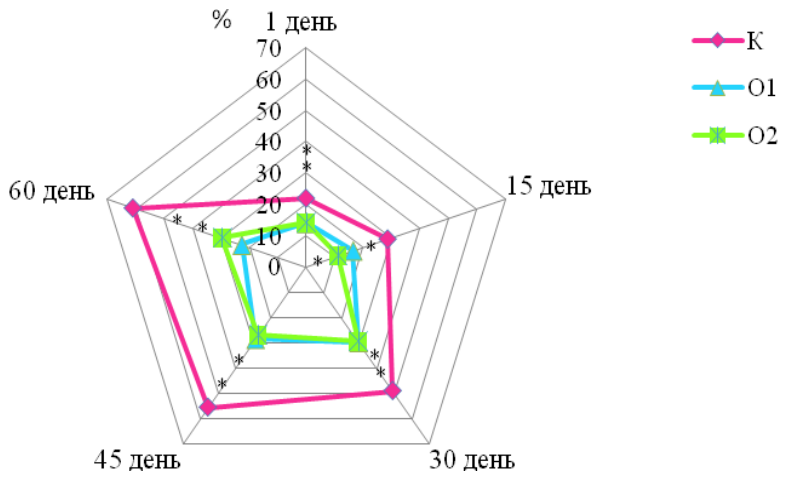

Рисунок 91 – Киллинговая активность макрофагальных внеклеточных ловушек, образованных перитонеальными макрофагами в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

При анализе количества погибающих во внеклеточных сетях микроорганизмов (рисунок 91, 92, 93) было выявлено, что киллинговая активность мононуклеаров всех исследуемых компартментов как у интактных, так и у опытных крысят нарастает с возрастом. Однако наибольшей способностью к уничтожению бактериальных агентов обладают альвеолярные макрофаги, а наименьшей – моноциты периферической крови (рисунок 92, 93).

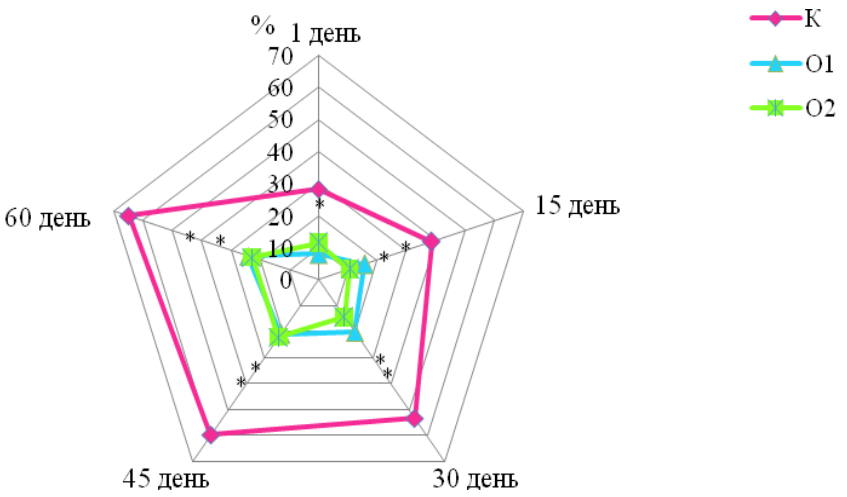

Рисунок 92 – Киллинговая активность макрофагальных внеклеточных ловушек, образованных легочными макрофагами в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем (p<0,05)

Интересным является тот факт, что в нормальных условиях, лейкоциты периферической крови ловушек не образуют. Так, по литературным данным (Савочкина А.Ю., 2012), инкубация цельной крови с возрастающей концентрацией C. albicans не приводила к образованию внеклеточных ловушек нейтрофилами цельной крови. В то же время установлено, что аутологичные сыворотка и плазма крови ингибируют внеклеточный выброс ДНК нейтрофилами, выделенными из периферической крови (Коротина О.Л., 2012). Данное явление

имеет большое клиническое значение, ведь образование сетей в кровеносных сосудах вызывало бы нарушение кровообращения (Clark S.R. et al., 2007), и приводило к развитию патологических процессов (Logters T. et al., 2009).

Еще одним интересным фактом является то, что бактерицидная активность ловушки является избирательной - компоненты внеклеточной ловушки активны в отношении патогенных и условнопатогенных микроорганизмов, при этом слабо влияют на непатогенную флору, в частности лакто - и бифидобактерии (Brinkmann V., Zychlinsky A., 2007).

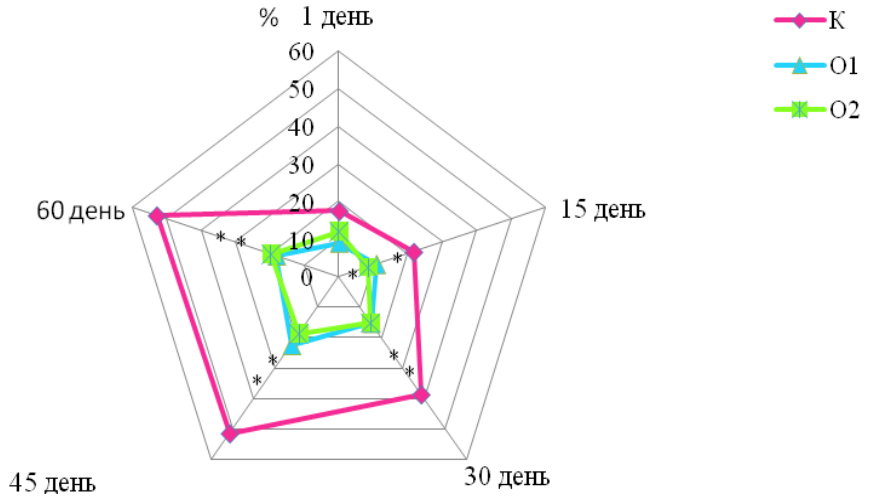

Рисунок 93 – Киллинговая активность моноцитарных внеклеточных ловушек в различные периоды постнатального развития

* - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p<0,05$)

Еще одним интересным фактом является то, что бактерицидная активность ловушки является избирательной - компоненты внеклеточной ловушки активны в отношении патогенных и условнопатогенных микроорганизмов, при этом слабо влияют на непатогенную флору, в частности лакто - и бифидобактерии (Brinkmann V., Zychlinsky A., 2007).

Согласно литературным данным, в настоящее время активно изучаются механизмы образования и функционирования внеклеточных ловушек при различной патологии - при экспериментальном шигеллезе и аппендиците

(Brinkmann V. et al., 2004), при осложнениях беременности – гестозе и преэклампсии (Gupta A.K. et al., 2005), васкулите микроциркуляторного русла (Kessenbrock K. et al., 2009), лейшманиозе (Guimaraes Costa A. B. et al., 2009), туберкулезе (Ramos Kichik V. et al., 2009), септическом артрите (Lugters T. et al., 2009), экспериментальном некротизирующем фасциите (Buchanan J. T. et al. 2006), тропической малярии (Baker V. et al., 2008), периодонтите (Vitkov L. et al. 2009), мастите (Lippolis V. et al., 2006), экспериментальном среднем отите (Reid S D. et al., 2009).

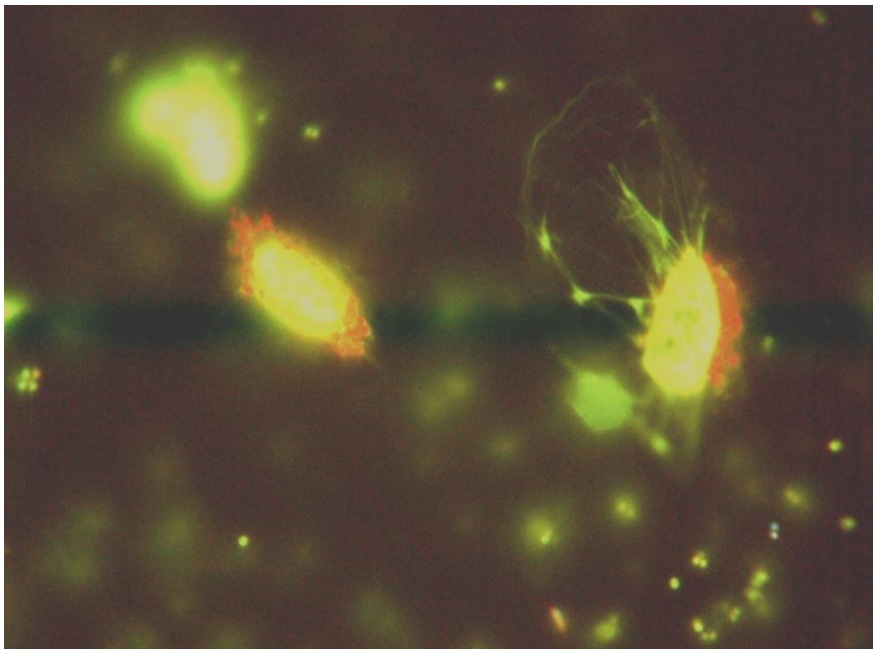

Рисунок 94 – Альвеолярный макрофаг 60-ти дневного животного, рожденного от интактной самки. Визуализируются внеклеточно расположенные нити ДНК и лизосомальные гранулы. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

Кроме того, было выявлено, что независимо от дозы вводимой вакцины Солкотриховак, она существенно повышает образование внеклеточных ловушек (Долгушин И.И. с соавт., 2009). Стимулирующее влияние на ловушкообразующую способность нейтрофилов оказывало воздействие на них

низкоинтенсивного лазерного излучения (О.И. Летяева, О.А. Гизингер, 2010), циклоферона (Долгушин И.И. с соавт., 2009), а также половых стероидных гормонов и пирогенала (Смирнова Т.Г., 2013). В то же время применение в эксперименте блокаторов цитоскелета и кальциевых каналов, напротив, приводило к угнетению выброса нитей ДНК во внеклеточное пространство (Савочкина А.Ю., 2012).

Совсем недавно было обнаружено еще одно, негативное свойство внеклеточных ловушек (Cools-Lartigue J. et al., 2013), связанное с их способностью в условиях имеющегося воспалительного процесса захватывать циркулирующие раковые клетки крови и оказывать на них активирующее воздействие, ведущее, впоследствии, к усилению их митотической активности и быстрой генерализации онкологического процесса.

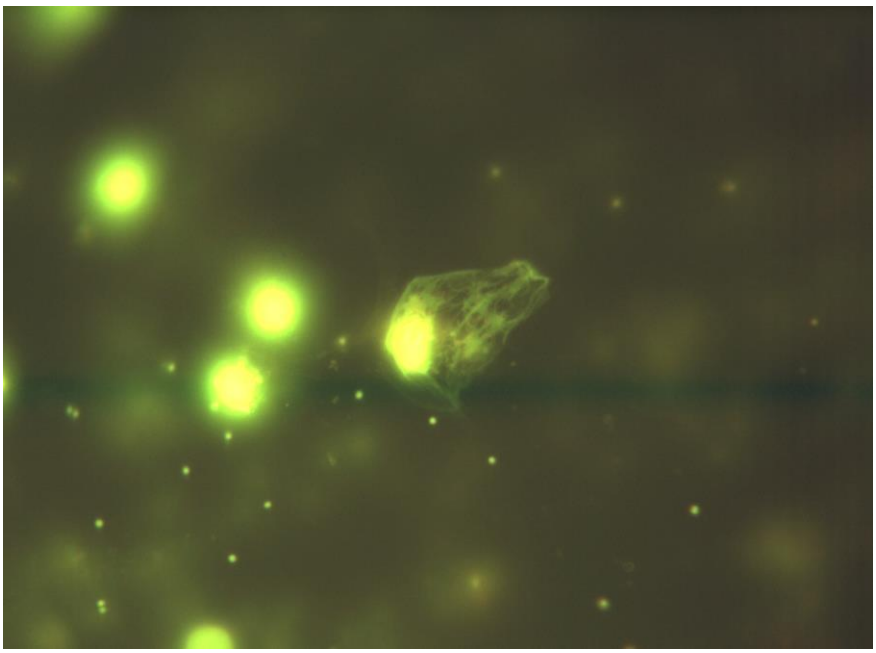

Рисунок 95 – Перитонеальный макрофаг 60-ти дневного животного, рожденного от самки с парацетамольным поражением печени. Визуализируются внеклеточно расположенные нити ДНК. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

В целом анализируя влияние лекарственно-индуцированного гепатита матери на способность макрофагов различных компартментов образовывать внеклеточные ловушки, а также на свойства данных сетей, можно сделать заключение, что параметры их эффективности, такие как число активных ловушек, индекс и киллинговая активность существенно снижены в обеих опытных группах. Данное явление связано, возможно, с тем, что моноциты, попадая из кровяного русла в различные ткани, дифференцируются и приобретают дополнительные функции (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). Именно поэтому свойство мононуклеаров образовывать внеклеточные ловушки, а также их активность в наибольшей мере выражены у тканевых специализированных макрофагов.

Однако морфологические параматры внеклеточных сетей, такие как длина хвоста, напротив, оказались более выраженными у крысят, рожденных от матерей с патологией печени. Эти результаты согласуются с данными литературы (Долгушин И.И. с соавт., 2012), где при изучении нейтрофильных внеклеточных ловушек была выявлена обратная зависимость эффективности ловушки от ее морфологии (среднего размера, периметра, длины и изрезанности).

В то же время, принимая во внимание тот факт, что образование ловушек останавливается при воздействии ингибитора актиновых филаментов цитохалазина и колхицина, связывающегося с тубулином, можно предположить, что компоненты цитоскелета активно участвуют в ловушкообразовании (Савочкина А.Ю., 2012).

При моделировании лекарственной патологии печени в организме матери возникают мультисистемные патологические процессы, связанные, прежде всего, с воздействием на систему мать – плацента – плод продуктов нарушенного метаболизма с развитием фетоплацентарной недостаточности (Лобынцев К.С., 1980; Шехтман М.М., 1987; Косенко Н.А., Волкова Н.Н., 2012). Впоследствии у потомства неизбежно развиваются многочисленные нарушения, которые затрагивают многие системы, в частности, на клеточном уровне развивается

недостаточность актинового цитоскелета (Брюхин Г.В., 2000), сопровождающаяся патологической перестройкой актиновых филаментов (Hall A., 1998). В результате компоненты цитоскелета макрофагов не могут адекватно принимать участие в ловушкообразовании, что проявляется снижением показателей внеклеточной бактерицидности у крысят, рожденных от матерей с лекарственно-индуцированным гепатитом.

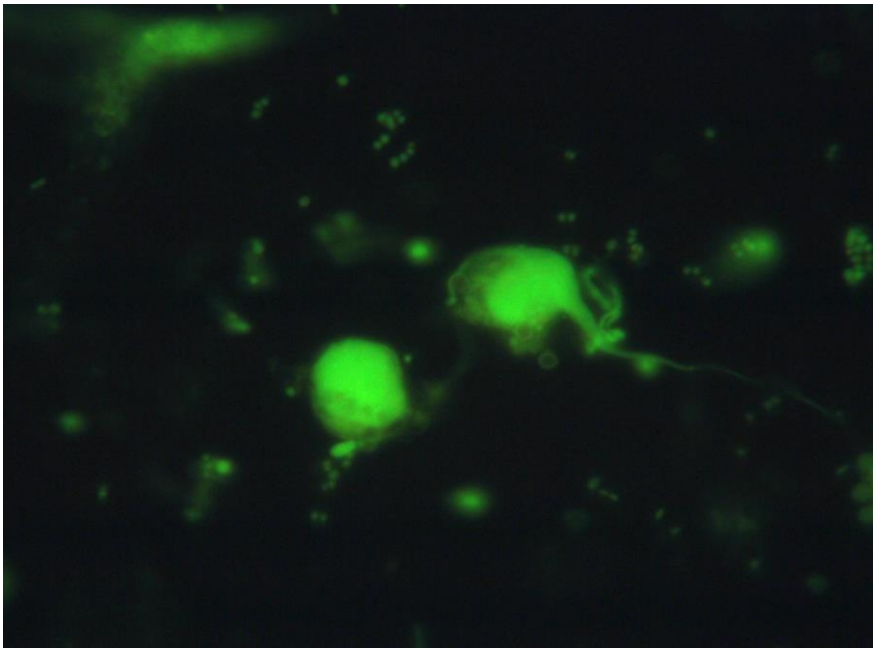

Рисунок 96 – Перитонеальные макрофаги 45-ти дневного животного, рожденного от самки с парацетамольным поражением печени. Визуализируются внеклеточно расположенные нити ДНК. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

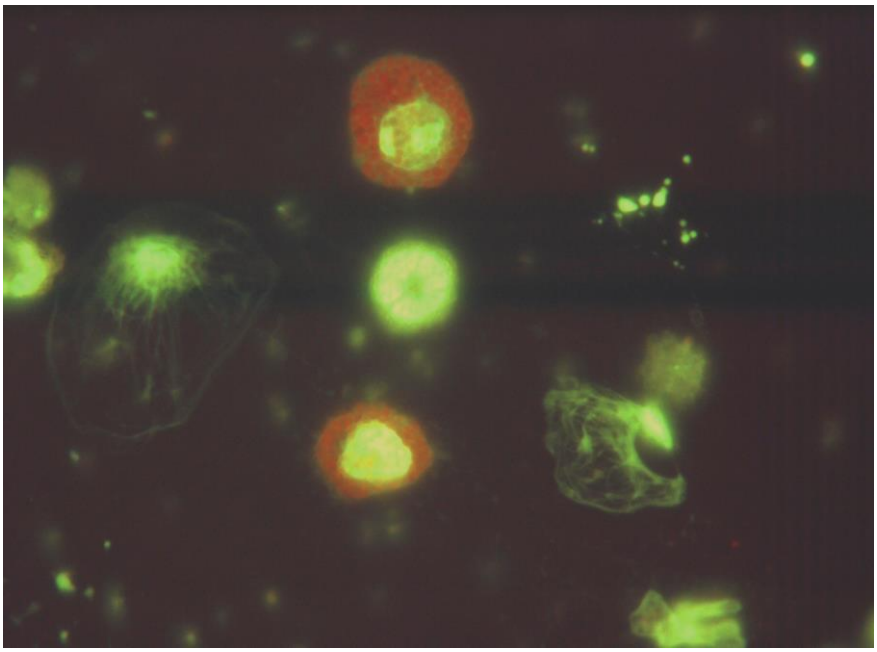

Рисунок 97 – Альвеолярные макрофаги 30-ти дневного животного, рожденного от самки с тетрациклиновым поражением печени. Визуализируются внеклеточно расположенные нити ДНК. Окраска: акридиновый оранжевый. Микрофото. Ув. 900 (об.×90; ок.×10).

3.8. Влияние иммобилизационного стресса на морфофункциональное состояние макрофагов различных компартментов потомства самок крыс с лекарственно – индуцированным поражением печени

Система мононуклеарных фагоцитов является неотъемлемым звеном неспецифической резистентности. Именно мононуклеарным фагоцитам принадлежит ключевая роль в процессах адаптации организма к стрессорным факторам различного происхождения (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Харин Г.М., 1994).

Стрессом можно называть любую неспецифическую приспособительную реакцию организма, возникающую в ответ на действие сильных или длительно действующих факторов (Хаитов Р.М., Лесков В.П., 2001).

Установлено, что влияние относительно длительно действующих экстремальных факторов вызывает функциональную перестройку на всех уровнях организации, которую можно описать последовательно сменяющими друг друга периодами – активация функциональной активности системы, стабилизация функции, отвечающая требованиям организма, и истощение резервов системы. Вследствие этого, сверхсильные и чрезвычайно длительные стрессорные воздействия сопровождаются быстрым угнетением компенсаторных процессов и развитием заболеваний (Глинник С.В., 2010; Шефер Е.Г., 2011; Пухальский А.Л., Шмарина Г.В., 2014).

В основе реализации адаптационных реакций организма в ответ на стрессирующее воздействие лежит изменение функционирования при стрессе эндокринной и центральной нервной системы. Общеизвестно, что главной реакцией, сопровождающей многочисленные изменения функциональных систем при стрессе, является активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, которую регулирует кортикотропин-рилизинг фактор. При этом инициирующим механизмом, вовлекающим остальные системы в каскад стресс – индуцированных реакций, является активация их центрального звена – паравентрикулярного ядра гипоталамуса (Пшенникова М.Г., 2000) с последующим вовлечением гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, а также симпатической и парасимпатической нервной системы (Мариотти С., 2005; Томова Т.А., Просекина Е.Ю., 2014).

В результате активации оси «гипоталамус-гипофиз-надпочечники» наблюдается повышение уровня основных медиаторов стресса – адренокортикотропного гормона гипофиза, глюкокортикоидов, а также катехоламинов. Установлено, что адренокортикотропный гормон (АКТГ), обнаруживаемый в высокой концентрации при стрессе, имеет не только гипофизарное происхождение, но и может синтезироваться лимфоцитами (Хаитов Р.М., Лесков В.П., 2001). Влияние кортикотропин-рилизинг фактора, а также соматостатина на хромофильные клетки аденогипофиза вызывает усиление

выработки тиреотропного и соматотропного гормонов, обладающих анаболическими эффектами. Кроме того, активируется эндокринная деятельность паращитовидных желез, вследствие чего в крови, а также в цитоплазме клеток повышается уровень Ca^{2+}. Увеличение концентрации цитозольного Ca^{2+} способствует повышению функциональной активности клетки и органа в целом. Избыток Ca^{2+} активирует ферментный комплекс кальмодулин – протеинкиназа С, что приводит к усилению процессов перекисного окисления липидов, нарушению пространственного расположения компонентов биомембраны и усилению продукции оксида азота (Малышев И.Ю., Манухина Е.Б., 2000; Глинник С.В., 2010). Кроме того, к молекулярным механизмам стресса относятся активация белков теплового шока и подавление активности Na-K АТФ-азы (Маслова М.Н., 2005).

Важно отметить, что влияние на организм продолжительного стресса высокой интенсивности быстро нарушает защитные механизмы данных систем и приводит к угнетению адаптивных факторов различных систем (Пшенникова М.Г., 2000). В результате супрессивного влияния медиаторов стресса высокой интенсивности на системы жизнеобеспечения организма возникает ряд изменений, приводящих к истощению компенсаторных механизмов, поддерживающих адекватный уровень гомеостаза. Так в фазу угнетения стресс – реакции наблюдаются эффекты централизации кровообращения, нарушение сократительной функции сердца, а также подавление метаболического статуса иммунокомпетентных клеток (Харин Г.М., 1994; Камскова Ю.Г., 2000; Хулуп Г.Я., 2005; D.A. Padgett, R. Glaser, 2003).

Исходя из вышеизложенного, существенное значение имеет исследование стрессрезистентности клеточных элементов неспецифической защиты у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени. Для этого у экспериментальных животных производилось моделирование иммобилизационного стресса (Брюхин Г.В., Грачев А.Ю., 1994).

3.8.1. Влияние иммобилизационного стресса на содержание мононуклеаров экспериментальных животных

В запуске стресс – реакции, помимо нейроэндокринных механизмов, существенная роль отводится изменениям гематологических показателей. Так кровь является системным фактором, наиболее чувствительно реагирующим как на острую, так и на хроническую стресс-реакцию (Горизонтов П.Д. с соавт., 1983; Васильев Н.В. с соавт., 1992).

Подтверждением этому стало изменение количественных показателей моноцитарных клеток периферической крови (таблица 18). Как видно из таблицы, содержание моноцитов периферической крови при стресс-индуцированной реакции увеличилось во всех исследуемых группах, что согласуется с многочисленными данными литературы. Так было показано (Шилов И.Ю., Орлова Е.Г., 2002) непродолжительное снижение числа моноцитов периферической крови при иммобилизационном стрессе через 30 минут эксперимента, тогда как уже через 48 часов обездвиживания в крови наблюдался стойкий моноцитоз.

Таблица 18 – Оценка сочетанного влияния поражения гепатобилиарной системы матери и иммобилизационного стресса на количественные показатели 60-дневных экспериментальных животных

	Клетки	К	К стресс	О1	О1 стресс	О2	О2 стресс
Содержание	Перит. 10^6/орган	12,31 (10,21-14,41)	$10,95^{b}$ (9,34-12,56)	$7,39^{a}$ (6,9-7,88)	$4,89^{abc}$ (3,91-5,87)	$9,55^{a}$ (9,1-10,0)	$8,04^{ab}$ (6,94-9,14)
	Альв. 10^6/1мл	6,66 (6,19-7,13)	$5,13^{b}$ (4,07-6,19)	$3,5^{a}$ (3,09-3,91)	$1,38^{abc}$ (0,6-2,16)	$4,06^{a}$ (3,86-4,26)	$1,79^{abc}$ (1,32-2,26)

Продолжение таблицы 18

	Моноц. 10^5/1мл	6,67 (6,06-7,28)	9,78[b] (7,86-11,7)	3,63[a] (3,26-4,0)	10,23[abc] (6,92-13,54)	4,2[a] (3,79-4,61)	8,88[abc] (6,23-11,53)
	Печен. 10^6/орган	12,65 (11,42-13,88)	9,03[b] (7,11-10,95)	19,6[a] (18,31-20,89)	8,39[abc] (7,31-9,47)	18,88[a] (16,84-20,92)	9,22[abc] (7,77-10,67)

a – статистически значимое влияние экспериментального поражения печени матери

b – статистически значимое влияние иммобилизационного стресса

c – статистически значимое взаимодействие между факторами

При изучении содержания моноцитов при длительной иммобилизации в течение 15 суток наблюдалась аналогичная тенденция (Насибуллин Б.А. с соавт., 2011), после чего содержание моноцитов постепенно возвращалось к нормальным значениям. Кроме того, при остром перегревании, являющимся, по сути, одним из разновидностей стрессирующего воздействия (Надеждин С.В. с соавт., 2008), а также при иммобилизации в сочетании с облучением электромагнитными волнами (Богомолова Н.В. с соавт., 2006) наблюдалось увеличение доли моноцитов, вышедших из костномозгового депо на периферию.

В результате исследования количественного состава тканевых макрофагов нами были получены неоднозначные результаты (таблица 18). Так на фоне моноцитоза отмечается угнетение количественного состава клеток на периферии – в тканях. При этом, несмотря на усиленную продукцию моноцитов и их предшественников в костном мозге, на фоне воздействия стрессовых факторов наблюдается выраженное нарушение процесса их дифференцировки. Вследствие нарушения процессов активации и специализации при трансформации моноцитов в макрофаги возникает перераспределение элементов макрофагальной системы.

Так в результате проведения дисперсионного анализа количественного состава макрофагальных клеток было выявлено уменьшение содержания

печеночных макрофагов, сопровождающееся снижением стрессоустойчивости (рисунок 98, 99).

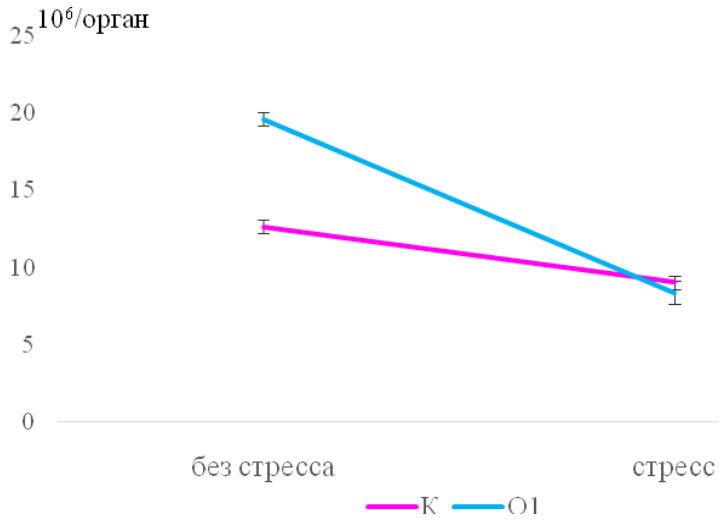

Рисунок 98 – Оценка сочетанного влияния парацетамольного поражения печени и иммобилизационного стресса на содержание печеночных макрофагов экспериментальных животных

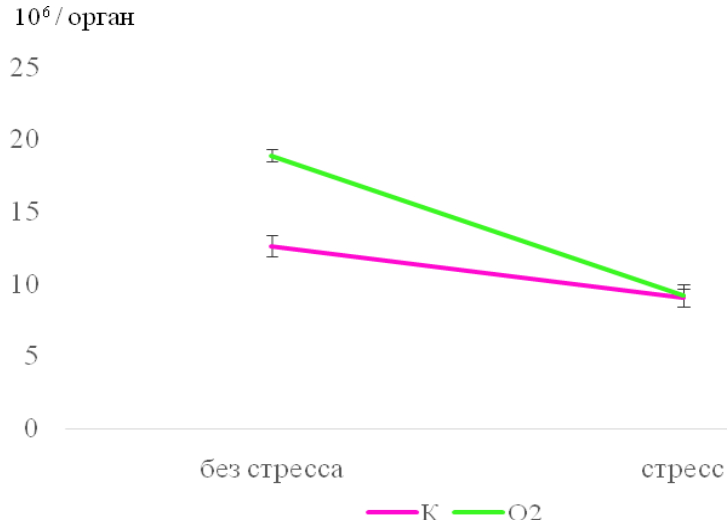

Рисунок 99 – Оценка сочетанного влияния тетрациклинового поражения печени и иммобилизационного стресса на содержание печеночных макрофагов экспериментальных животных

При этом на количественный состав фагоцитов одинаково существенное влияние оказывало как лекарственное поражение печени матери ($p=5,183*10^{-13}$ и $p=3,774*10^{-11}$ для опытной группы 1 и 2 соответственно), так и воздействие иммобилизационного стресса ($p=1,146*10^{-19}$ и $p=1,385*10^{-16}$).

Вместе с тем данные факторы взаимодействуют между собой ($p=2,235*10^{-13}$ и $p=1,175*10^{-9}$). Тогда как при анализе воздействия данных факторов на моноциты периферической крови наблюдалась повышение стрессоустойчивости и развитие адаптивных реакций (рисунок 100, 101).

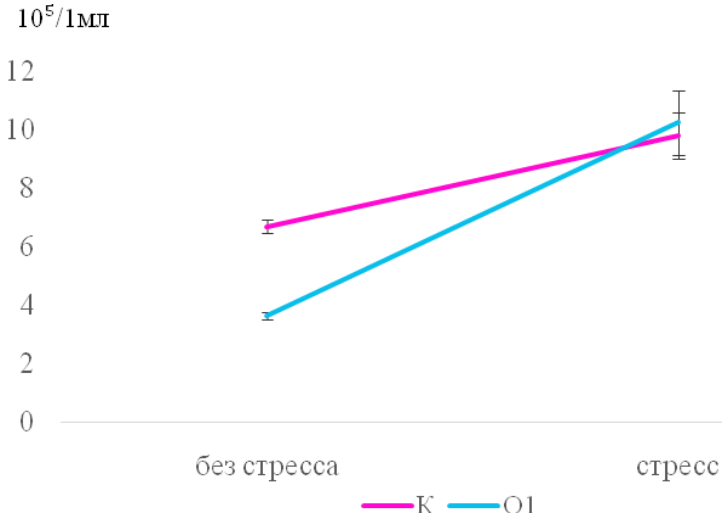

Рисунок 100 – Оценка сочетанного влияния парацетамольного поражения печени и иммобилизационного стресса на содержание моноцитов периферической крови экспериментальных животных

Можно предположить, что увеличение содержания в крови моноцитов носит реактивный характер и направлено на повышение фагоцитарного потенциала клеточных элементов неспецифической защиты макроорганизма. Однако данный механизм не может быть реализован вследствие воздействия на организм, с одной стороны, токсичных продуктов из организма матери, которые вследствие повышенной проницаемости гематоплацентарного барьера нарушают метаболические процессы в организме потомства, а с другой, образованных в результате иммобилизационного стресса медиаторов – продуктов перекисного

окисления липидов, оксида азота, белков теплового шока. Причем в условиях повышенной концентрации оксида азота быстро развивается оксидативный стресс, еще более усугубляющий состояние клеточного метаболизма (Камскова Ю.Г., 2002).

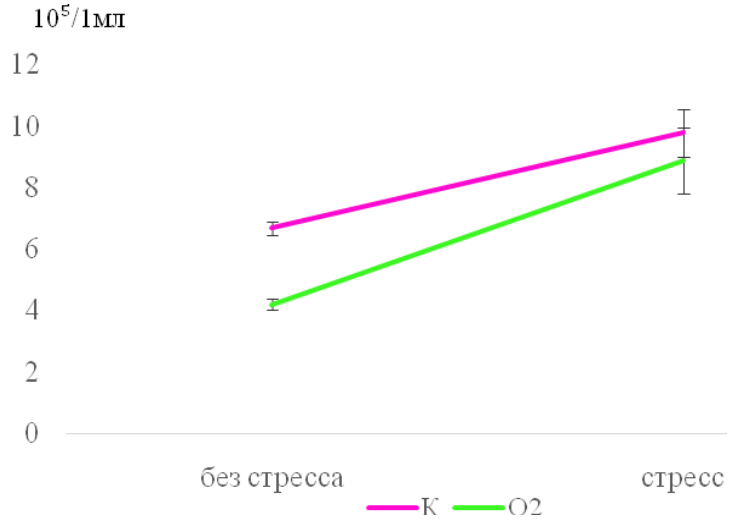

Рисунок 101 – Оценка сочетанного влияния тетрациклинового поражения печени и иммобилизационного стресса на содержание моноцитов периферической крови экспериментальных животных

Количественные изменения макрофагального звена могут быть связаны, прежде всего, с угнетающим влиянием глюкокортикоидных гормонов и катехоламинов на систему крови при стресс-реакции (Маянский Д.Н. с соавт.,1985; Шилов Ю.И., Орлова Е.Г., 2002). В данных условиях происходит мобилизация как стресс-реализующих, так и стресс-лимитирующих систем, имеющих многочисленные разнонаправленные специфические и неспецифичесские механизмы адаптации. Причем степень активации и влияния гипоталамо-гипофизарной системы определяется, в первую очередь, стадией стресса (Томова Т.А. с соавт., 2014). Имеется мнение, что активация функциональных систем организма во время быстрой адаптации к экстремальным условиям является недостаточно эффективной и не может в полной мере обеспечить поддержание необходимых метаболических процессов организма

(С.В. Надеждин с соавт., 2008). Тогда как воздействие чрезвычайно мощных по силе или длительности стресс-факторов тем более нарушает адаптационные механизмы приспосабливаемости функциональных систем к новым условиям, приводя к полному их истощению, что и наблюдается в нашем случае.

3.8.2. Влияние иммобилизационного стресса на рецепторный аппарат мононуклеаров экспериментальных животных

В результате исследования стресс-индуцированных изменений фагоцитарного процесса клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов было выявлено изменение пластических свойств исследуемых клеток (таблица 19).

Таблица 19 – Оценка сочетанного влияния поражения гепатобилиарной системы матери и иммобилизационного стресса на рецепторный аппарат 60-дневных экспериментальных животных

	Клетки	К	К стресс	О1	О1 стресс	О2	О2 стресс
Адгезия 30 минут Инкубации %	Перит.	75,97 (70,33-81,61)	54,07[b] (45,88-62,26)	34,42[a] (27,09-41,75)	20,28[ab] (14,52-26,04)	48,11[a] (43,23-52,99)	26,4[ab] (18,33-34,47)
	Альв.	52,63 (43,18-62,08)	36,58[b] (30,94-42,22)	30,5[a] (22,86-38,14)	17,95[ab] (15,7-20,2)	38,74[a] (35,25-42,23)	19,39[ab] (11,61-27,17)
	Моноц.	55,27 (45,55-64,99)	35,95[b] (28,39-43,51)	32,93[a] (24,64-41,22)	26,32[abc] (13,22-39,42)	40,52[a] (33,84-47,2)	20,18[ab] (13,73-26,63)
	Печен.	41,06 (36,89-45,23)	38,37[b] (26,61-50,13)	24,2[a] (21,61-26,79)	19,9[ab] (14,96-24,84)	27,9[a] (24,22-31,58)	17,72[abc] (11,33-24,11)

Продолжение таблицы 19

Адгезия 60 минут Инкубации %	Перит.	87,19 (82,41-91,97)	68,48[b] (52,98-83,98)	61,22[a] (57,75-64,69)	61,32[abc] (50,68-71,96)	60,23[a] (53,94-66,52)	48,68[ab] (41,49-55,87)
	Альв.	78,84 (69,79-87,89)	66,31[b] (58,61-74,01)	45,16[a] (40,87-49,45)	34,99[ab] (31,09-38,89)	59,64[a] (55,98-63,3)	33,54[abc] (28,97-38,11)
	Моноц.	69,41 (62,04-76,78)	63,12[b] (61,02-65,22)	39,73[a] (34,22-45,24)	33,31[ab] (22,51-44,11)	47,16[a] (43,93-50,39)	31,12[ac] (24,91-37,33)
	Печен.	59,78 (55,33-64,23)	45,52[b] (38,68-52,36)	30,8[a] (23,8-37,8)	24,08[abc] (19,22-28,94)	33,91[a] (29,23-38,59)	23,49[abc] (19,39-27,59)
Распластывание 30 минут Инкубации %	Перит.	54,67 (49,85-59,49)	37,4[b] (32,97-41,83)	25,25[a] (22,0-28,5)	20,13[abc] (14,45-25,81)	27,33[a] (23,96-30,7)	16,19[ab] (13,27-19,11)
	Альв.	53,75 (49,4-58,1)	36,27[b] (29,82-42,72)	25,83[a] (19,64-32,02)	19,27[abc] (15,64-22,9)	27,92[a] (23,31-32,53)	18,25[abc] (15,47-21,03)
	Моноц.	53,58 (46,98-60,18)	45,75[b] (39,95-51,55)	30,17[a] (22,0-38,34)	17,92[ab] (15,33-20,51)	34,08[a] (27,59-40,57)	21,99[abc] (16,99-26,99)
	Печен.	46,75 (41,73-51,77)	38,67[b] (34,26-43,08)	31,5[a] (27,21-35,79)	19,33[abc] (12,04-26,62)	27,67[a] (21,58-33,76)	14,67[abc] (11,03-18,31)
Распластывание 60 минут Инкубации %	Перит.	85,09 (76,06-94,12)	72,17[b] (63,12-81,22)	47,09[a] (42,33-51,85)	25,33[abc] (19,71-30,95)	59,27[a] (52,7-65,84)	35,33[abc] (30,59-40,07)
	Альв.	73,18 (68,48-77,88)	66,67[b] (63,03-70,31)	46,73[a] (38,05-55,41)	32,17[abc] (27,0-37,34)	49,18[a] (41,36-57,0)	31,5[abc] (25,46-37,54)

Продолжение таблицы 19

	Моноц.	59,45 (47,59-71,31)	46,5[b] (42,84-50,16)	41,81[a] (33,23-50,39)	29,33[ab] (25,1-33,56)	33,36[a] (29,05-37,67)	21,33[ab] (16,27-26,39)
	Печен.	56,27 (48,78-63,76)	44,83[b] (41,95-47,71)	32,73[a] (23,97-41,49)	18,83[ab] (14,28-23,38)	30,54[a] (20,47-40,61)	15,67[ab] (11,44-19,9)

a – статистически значимое влияние экспериментального поражения печени матери

b – статистически значимое влияние иммобилизационного стресса

c – статистически значимое взаимодействие между факторами

Так в первой серии исследований влияния стресса на адгезивные свойства мононуклеарных фагоцитов было выявлено угнетение процессов адгезии макрофагов к чистой стеклянной поверхности на 30 и 60 минуте инкубации во всех исследуемых группах. Исключение составили перитонеальные макрофаги опытной группы 1 на 60 минуте инкубации.

Аналогичная закономерность была выявлена при исследовании процессов распластывания на 30 и 60 минуте инкубирования. Кроме того, обращает на себя внимание, что во всех изучаемых компартментах фагоцитов число прилипших и распластанных клеток у интактных животных существенно выше, чем у подопытных.

Таким образом, результаты исследования рецепторного аппарата мононуклеарных фагоцитов при воздействии иммобилизационного стресса позволяют констатировать нарушение процессов рапластывания и адгезии у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени. Данные результаты были продемонстрированы и при проведении дисперсионного анализа (рисунок 102, 103). Так оценка адгезивных свойств альвеолярных макрофагов на 60 минуте инкубации при иммобилизационном стрессе позволила выявить достоверное

влияние на данный показатель в обеих экспериментальных группах патологии гепатобилиарной системы ($p=3,53*10^{-10}$ для опытной группы 1 и $p=5,605*10^{-10}$ для опытной группы 2), а также иммобилизационного стресса ($p=4,785*10^{-7}$ и $p=0,001423$ соответственно), и в том и в другом случае выявлено взаимодействие между исследуемыми факторами. При этом как видно из рисунка 103, у подопытных крысят наблюдается нарушение развития компенсаторно-приспособительных реакций, особенно выраженное в опытной группе 2.

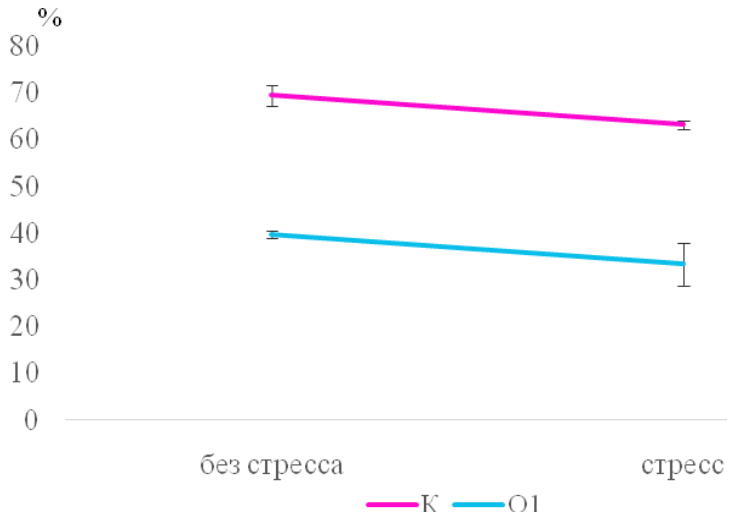

Рисунок 102 – Оценка сочетанного влияния парацетамольного поражения печени и иммобилизационного стресса на адгезивную способность альвеолярных макрофагов экспериментальных животных на 60-ой минуте инкубации

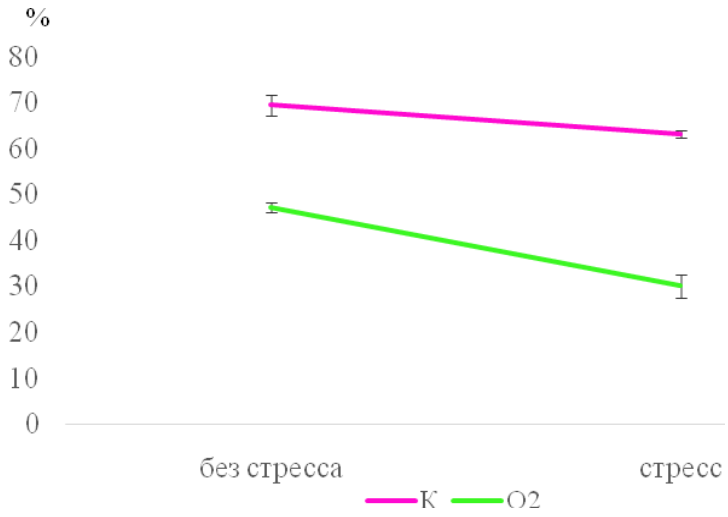

Рисунок 103 – Оценка сочетанного влияния тетрациклинового поражения печени и иммобилизационного стресса на адгезивную способность альвеолярных макрофагов экспериментальных животных на 60-ой минуте инкубации

Аналогичные результаты были получены при изучении данного показателя в перитонеальных макрофагах экспериментальных животных опытной группы 2 (рисунок 104). Наряду с воздействием обоих исследуемых факторов наблюдалось и их взаимодействие, сопровождающееся снижением компенсаторных реакций.

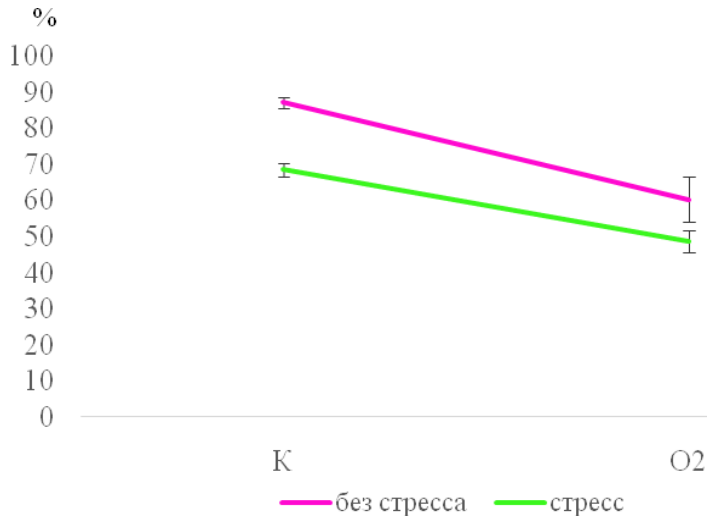

Рисунок 104 – Оценка сочетанного влияния тетрациклинового поражения печени и иммобилизационного стресса на адгезивную способность

перитонеальных макрофагов экспериментальных животных на 60-ой минуте инкубации

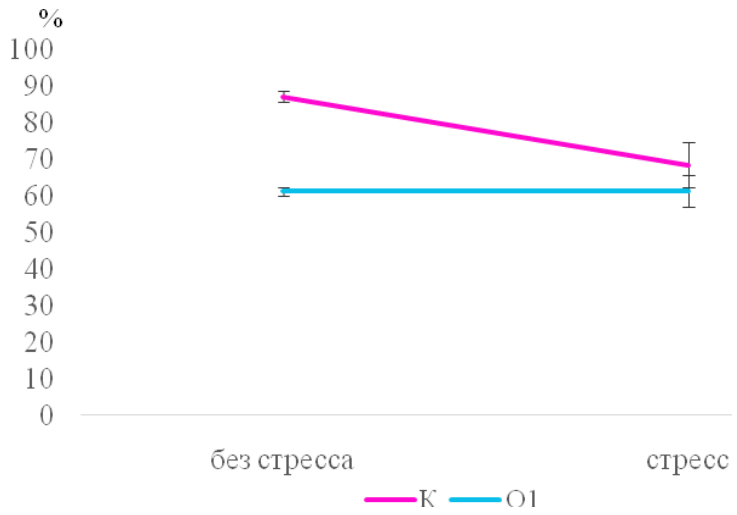

Рисунок 105 – Оценка сочетанного влияния парацетамолового поражения печени и иммобилизационного стресса на адгезивную способность перитонеальных макрофагов экспериментальных животных на 60-ой минуте инкубации

Однако иная тенденция стресс – индуцированных изменений прослеживается в перитонеальных макрофагах крысят опытной группы 1 (рисунок 105). Из рисунка видно, что у интактных крысят наблюдается нарушение стресс-лимитирующих систем и снижение стрессоустойчивости, в то время как у подопытных крысят отсутствует реакция на стрессорное воздействие, что говорит о нарушении процессов резистентности и устойчивости к стрессу.

Результаты анализа пластических свойств мононуклеаров, показавшие неоднозначные результаты процессов распластывания и адгезии в условиях стресса позволяют предположить, что в данных условиях возникает конкуренция стресс-реализующей и стресс-лимитирующей систем и перерапределение функциональной активности макрофагальных клеток, от исхода которых зависит дальнейшее функционирование систем жизнеобеспечения. Вследствие иммобилизации, сопровождающейся психоэмоциональной нагрузкой, наблюдается чрезмерная продукция медиаторов стресса, угнетающих

внутриклеточные метаболические процессы, в том числе синтез молекул адгезии и белковых молекул, участвующих в образовании органоидов цитоскелета, а также повышающих проницаемость плазмолеммы. В то же время в экстремальных условиях реакции организма направлены на сохранение главных систем жизнеобеспечения, тогда как другие системы могут некоторое время функционировать при невысокой активности.

3.8.3. Влияние иммобилизационного стресса на фагоцитарную активность мононуклеаров экспериментальных животных

При изучении активности фагоцитарного процесса мононуклеарных фагоцитов в условиях стресса, нами учитывались показатели фагоцитоза корпускулярных частиц латекса, а также механизмы кислородзависимого (спонтанный и индуцированный НСТ-тест) и кислороднезависимого (лизосомальная активность) клеточного метаболизма.

Таблица 20 – Оценка сочетанного влияния поражения гепатобилиарной системы матери и иммобилизационного стресса на фагоцитарную активность 60-дневных экспериментальных животных

	Клетки	К	К стресс	О1	О1 стресс	О2	О2 стресс
Фагоцитоз латекса, Фагоцитарный показатель, %	Перит.	95,67 (85,81-105,53)	$74,33^{b}$ (66,43-82,23)	$74,83^{a}$ (60,41-89,25)	$59,83^{ab}$ (52,77-66,89)	$82,33^{a}$ (66,98-97,68)	$58,67^{ab}$ (50,77-66,57)
	Альв.	85,08 (74,48-95,68)	$60,17^{b}$ (53,68-66,66)	$64,41^{a}$ (54,77-74,05)	$48,83^{abc}$ (44,28-53,38)	$69,67^{a}$ (64,38-74,96)	$56,67^{abc}$ (50,28-63,06)
	Моноц.	96,83 (90,75-102,91)	$57,83^{b}$ (50,25-65,41)	$73,33^{a}$ (69,12-77,54)	$51,83^{abc}$ (45,58-57,63)	$80,58^{a}$ (75,07-86,09)	$67,17^{abc}$ (55,39-78,95)

Продолжение таблицы 20

	Печен.	87,58 (76,6-98,56)	61,83[b] (48,64-75,02)	59,42[a] (48,97-69,87)	40,83[ab] (33,89-47,77)	72,16[a] (63,62-80,7)	66,33[abc] (49,91-82,75)
Фагоцитоз латекса, Фагоцитарный индекс, %	Перит.	11,64 (9,64-13,64)	4,76[b] (1,1-8,42)	8,26[a] (6,38-10,14)	5,35[abc] (3,84-6,86)	7,91[a] (7,52-8,3)	4,2[abc] (2,61-5,79)
	Альв.	9,89 (8,11-11,67)	3,74[b] (1,6-5,88)	4,98[a] (3,8-6,16)	1,97[abc] (0,34-3,6)	5,23[a] (4,0-6,46)	3,24[abc] (1,85-4,63)
	Моноц.	11,25 (9,25-13,25)	6,17[b] (5,68-6,66)	6,51[a] (4,9-8,12)	4,85[abc] (4,2-5,5)	7,73[a] (6,99-8,47)	3,83[abc] (3,34-4,32)
	Печен.	9,6 (7,56-11,64)	4,4[b] (3,81-4,99)	5,27[a] (4,7-5,84)	4,3[abc] (4,07-4,53)	5,94[a] (4,51-7,37)	2,44[abc] (1,74-3,14)
Лизосомальная активность, Число акридин-оранжпозитивных клеток, %	Перит.	81,27 (72,41-90,13)	51,89[b] (46,48-57,3)	52,18[a] (45,07-59,29)	54,28[abc] (36,8-71,76)	65,27[a] (58,25-72,29)	31,62[ab] (19,55-43,69)
	Альв.	93,27 (86,21-100,33)	63,67[b] (46,46-80,88)	55,36[a] (46,85-63,87)	36,01[abc] (26,25-45,77)	67,45[a] (55,16-79,74)	28,33[abc] (14,65-42,01)
	Моноц.	91,73 (83,89-99,57)	40,5[b] (23,43-57,57)	51,54[a] (45,01-58,07)	26,67[abc] (14,87-38,47)	72,64[a] (60,94-84,34)	20,33[ab] (6,49-34,17)
	Печен.	78,56 (66,21-90,91)	58,33[b] (53,59-63,07)	53,36[a] (46,11-60,61)	51,66[abc] (45,39-57,93)	59,82[a] (54,16-65,48)	52,5[ab] (45,41-59,59)
Лизосомальная активность, СЦК, %	Перит.	2,27 (1,82-2,72)	1,64[b] (1,33-1,95)	1,25[a] (0,94-1,56)	0,63[ab] (0,34-0,92)	1,22[a] (0,97-1,47)	0,58[ab] (0,21-0,95)

Продолжение таблицы 20

	Альв.	2,11 (1,82-2,4)	1,51[b] (1,31-1,71)	1,36[a] (1,22-1,5)	1,34[abc] (1,03-1,65)	1,29[a] (1,15-1,43)	0,75[ab] (0,44-1,06)
	Моноц.	1,98 (1,77-2,19)	2,71[b] (2,28-3,14)	1,16[a] (0,69-1,63)	1,14[abc] (0,87-1,41)	1,21[a] (0,82-1,6)	0,51[abc] (0,22-0,8)
	Печен.	1,4 (1,17-1,63)	0,75[b] (0,38-1,12)	0,97[a] (0,72-1,22)	0,37[ab] (0,23-0,51)	1,17 (0,82-1,52)	1,07[bc] (0,02-0,32)
НСТ стимулированный, %	Перит.	57,73 (53,44-62,02)	54,16[b] (46,18-62,14)	18,82[a] (15,57-22,07)	16,67[ab] (11,93-21,41)	20,64[a] (16,41-24,87)	16,83[ab] (11,81-21,85)
	Альв.	48,72 (45,31-52,13)	38,17[b] (31,45-44,89)	19,73[a] (15,71-23,75)	13,17[abc] (11,25-15,09)	23,82[a] (18,43-29,21)	16,83[ab] (13,46-20,2)
	Моноц.	41,54 (35,78-47,3)	26,33[b] (19,69-32,97)	21,45[a] (14,2-28,7)	13,33[ab] (7,57-19,09)	22,82[a] (16,27-29,37)	11,67[ab] (7,63-15,71)
	Печен.	20,82 (17,8-23,84)	21,67 (18,24-25,1)	16,54[a] (13,58-19,5)	8,5[ac] (5,29-11,71)	15,36[a] (13,17-17,55)	7,67[ac] (4,48-10,86)

a – статистически значимое влияние экспериментального поражения печени матери

b – статистически значимое влияние иммобилизационного стресса

c – статистически значимое взаимодействие между факторами

В результате исследования было выявлено, что различные звенья фагоцитарного процесса неодинаково реагируют на стрессорное воздействие. Так при исследовании фагоцитоза частиц латекса экспериментальных животных было выявлено стресс-индуцированное угнетение интенсивности фагоцитоза, выражающееся в снижении числа клеток, содержащих в цитоплазме микросферы латекса, а также фагоцитарного индекса (таблица 20), однако стрессоустойчивость макрофагов подопытных животных в данном тесте оказалась повышенной (рисунок 106).

Из рисунков 106, 107 видно, что стрессоустойчивость легочных макрофагов при изучении фагоцитарного индекса снижена в большей степени у интактных крысят, чем у подопытных, что говорит о развитии у крысят, рожденных от матерей с лекарственным гепатитом, выраженных адаптационных возможностей.

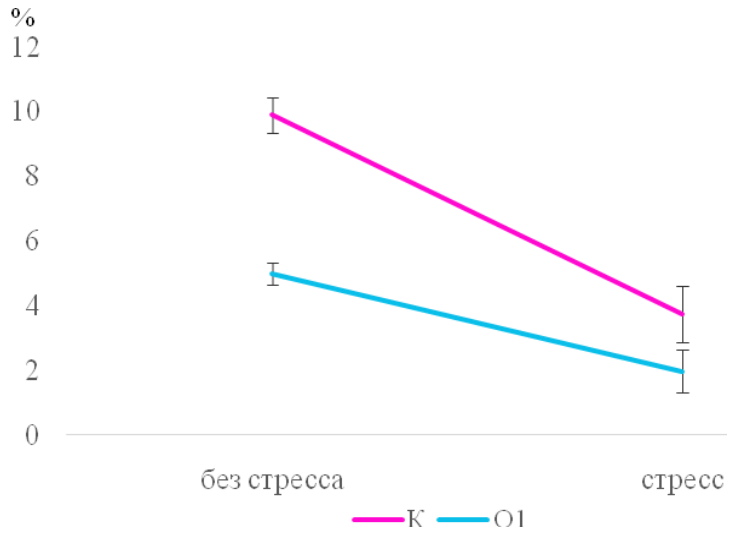

Рисунок 106 – Оценка сочетанного влияния парацетамольного поражения печени и иммобилизационного стресса на фагоцитоз микросфер полистерольного латекса легочных макрофагов экспериментальных животных

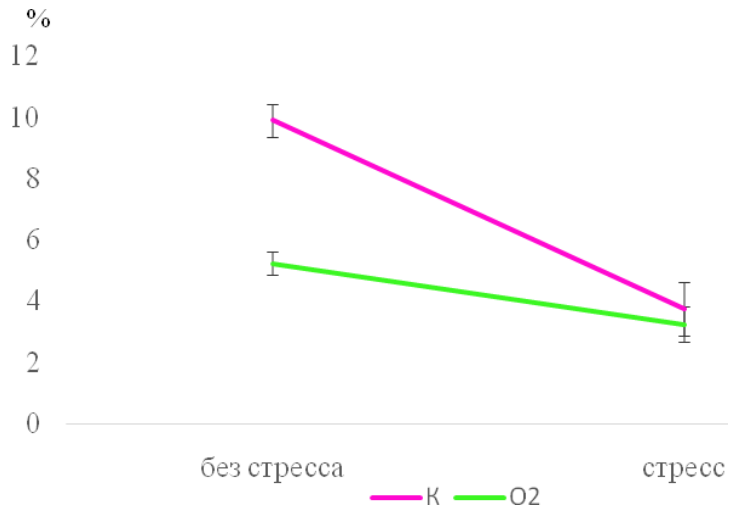

Рисунок 107 – Оценка сочетанного влияния тетрациклинового поражения печени и иммобилизационного стресса на фагоцитоз микросфер полистерольного латекса легочных макрофагов экспериментальных животных

В то же время было отмечено нарушение стресс-резистентности кислородзависимых механизмов бактерицидности в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте. Так стрессоустойчивость печеночных макрофагов обеих опытных групп в индуцированном НСТ-тесте была значительно снижена под влиянием патологии печени ($p=2{,}096*10^{-14}$ и $p=8{,}352*10^{-17}$ для опытной группы 1 и 2 соответственно), однако иммобилизационный стресс не оказывал на данный показатель должного влияния ($p=0{,}5511$ и $p=0{,}3576$ соответственно) (рисунок 108, 109).

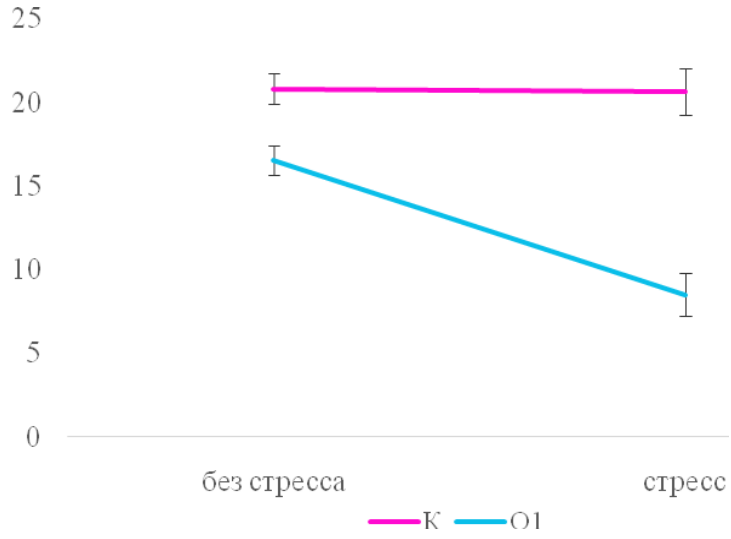

Рисунок 108 – Оценка сочетанного влияния парацетамольного поражения печени и иммобилизационного стресса на активность стимулированного НСТ-теста печеночных макрофагов экспериментальных животных

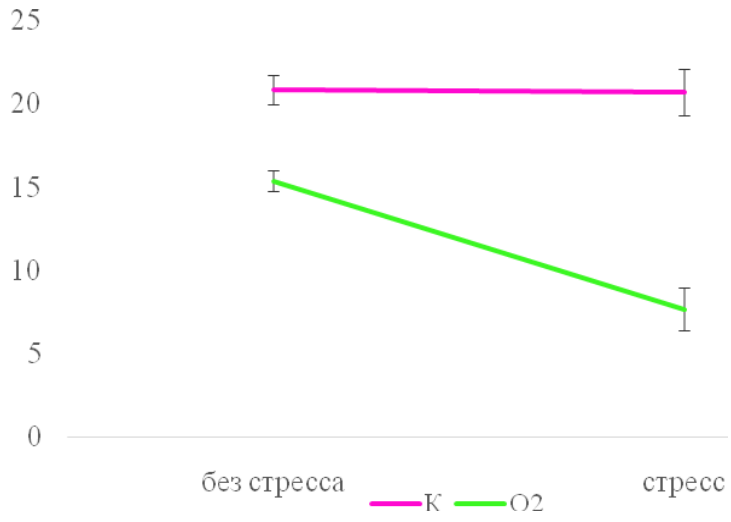

Рисунок 109 – Оценка сочетанного влияния тетрациклинового поражения печени и иммобилизационного стресса на активность стимулированного НСТ-теста печеночных макрофагов экспериментальных животных

Исследование лизосомального аппарата позволило констатировать стресс – индуцированное угнетение кислороднезависимой биоцидности мононуклеаров всех экспериментальных групп (таблица 18).

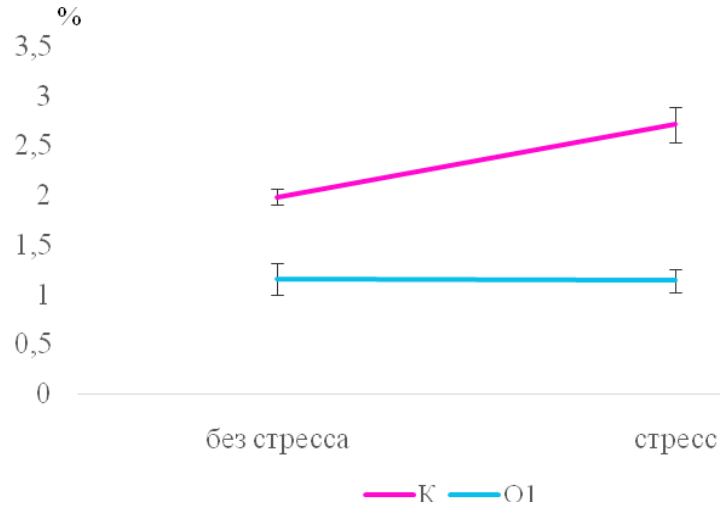

Рисунок 110 – Оценка сочетанного влияния парацетамольного поражения печени и иммобилизационного стресса на лизосомальную активность моноцитов периферической крови экспериментальных животных

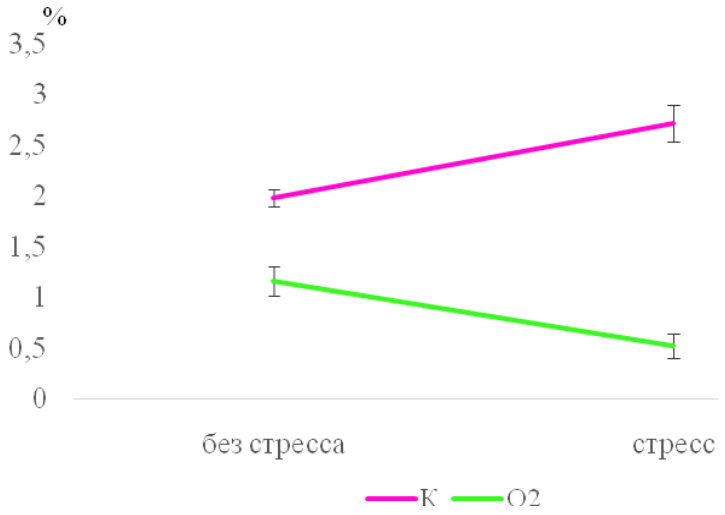

Рисунок 111 – Оценка сочетанного влияния тетрациклинового поражения печени и иммобилизационного стресса на лизосомальную активность моноцитов периферической крови экспериментальных животных

Так при изучении среднего цитохимического коэффициента лизосом моноцитов периферической крови было выявлено (рисунок 110, 111), что под влиянием образующихся медиаторов стресса в группе контроля наблюдается активация компенсаторно-приспособительных реакций, направленная на поддержание оптимального уровня жизнедеятельности. Тогда как у животных опытной группы 1 в результате множественного воздействия токсических продуктов из организма матери с лекарственным гепатитом ($p=4,756*10^{-15}$), а также продуктов стресс-реакции ($p=3,699*10^{-5}$) и очевидного взаимодействия данных механизмов ($p=1,589*10^{-5}$) адаптивные возможности отсутствуют, что, в конечном итоге, быстро приведет к повреждению субстратов, участвующих в образовании лизосом.

Иная тенденция прослеживается в опытной группе 2 (рисунок 111). Как видно из рисунка, под влиянием стресса наблюдается существенное угнетение лизосомальной активности в результате отсутствия реакции адаптации.

Полученные нами данные, регистрирующие, в целом, угнетение под влиянием иммбилизационного стресса фагоцитарного звена мононуклеарных фагоцитов, тесно согласуются с данными литературы. Так при иммобилизации было выявлено снижение фагоцитарного индекса нейтрофилов (Кузьменко Е.В. с соавт., 2010), а также НСТ – теста (Насибуллин Б.А. с соавт., 2011). При введении гидрокортизона было выявлено снижение поглотительной способности макрофагов (Маянский Д.Н. с соавт., 1985). Вместе с тем, при моделировании иммобилизационного стресса с дозированной кровопотерей (Шилов Ю.И., 2002) наблюдалось уменьшение числа фагоцитирующих клеток и фагоцитарного индекса, а также показателей кислородзависимой микробоцидности. Кроме того, при моделировании вибрационного стресса (Долгушин М.В., Давыдова Н.С., 2013) также наблюдалось угнетение фагоцитарных свойств. Однако при общей гипертермии (Надеждин С.В. с соавт., 2008) показатели фагоцитоза оказались повышенными, что было связано, по – видимому, с активацией функции

надпочечников, структурными преобразованиями липидов биомембраны и активацией находящихся в ней ферментов.

Известно, что на поверхности клеточных элементов иммунного ответа имеются рецепторы к катехоламинам, глюкокортикоидам, ацетилхолину (Крыжановский Г.Н., 1985). Взаимодействуя с рецепторным аппаратом фагоцитов, глюкокортикоиды способны проникать в их цитоплазму и с помощью внутриклеточного белка-рецептора встраиваться в ядро клетки, взаимодействуя с ее ДНК. Причем известно, что наибольшее количество глюкокортикоидных рецепторов содержится на клетках Купфера (Воронина Н.П., Маянский Д.Н., 1987), что подтверждается наиболее выраженными изменениями стрессоустойчивости именно в этих клетках. В результате возникают количественные изменения клеточного состава системы мононуклеаров (Гаврилова Е.А., Шабанова Л.Ф., 1998), а также нарушение процессов адгезии, фагоцитарной активности (Харин Г.М., 1994; Шилов И.Ю., Орлова Е.Г., 2000) и продукции ряда биологически активных соединений, таких как интерлейкины, интерфероны, тумор – некротический фактор, медиаторы воспаления (Хаитов Р.М., Лесков В.П., 2001). Еще одним механизмом, лежащим в основе нарушения фагоцитарного процесса, является мобилизация под действием глюкокортикоидов липидов, которые могут встраиваться в плазмолемму и затруднять тем самым захват частиц (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983).

Кроме того, известно, что любая стресс – реакция вследствие повышенной продукции катехоламинов, сопровождается активацией свободнорадикального окисления с развитием «метаболического взрыва» (Сурина – Марышева Е.Ф., 2008). Основной точкой приложения активных форм кислорода являются компоненты биологической мембраны, в частности, полиненасыщенные жирные кислоты, которые быстро взаимодействуют друг с другом, запуская образование продуктов перекисного окисления липидов. На начальном этапе усиливается активность каталазы, супероксиддисмутазы, «сдерживающих» чрезмерную

интенсификацию перекисного окисления, однако вскоре наступает дефицит данных антиоксидантов и возникает каскад разрушающего действия радикалов.

Таким образом, анализируя результаты исследования стресс – резистентности системы мононуклеарных фагоцитов у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени, было выявлено неоднозначное изменение устойчивости к экстремальному воздействию, что может быть связано с различной степенью адаптационных возможностей различных клеточных структур, лежащих в основе реализации функционального потенциала системы. Причем интенсивность и продолжительность адаптивной реакции определяются, в первую очередь, степенью зрелости и функциональной активностью системы. В результате при моделировании лекарственной патологии печени матери рождается потомство с нарушениями функций системы мононуклеарных фагоцитов, что выражается в депрессии функционального состояния мононуклеарных фагоцитов, а также снижением их стресс – резистентности.

ГЛАВА IV. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В течение длительного времени в нашей стране наблюдается неуклонное снижение уровня здоровья населения (Римашевская Н.М., 2004; Баранов А.А. с соавт., 2005). При этом в структуре заболеваемости основное значение уделяется сердечно-сосудистым, инфекционным, бронхолегочным заболеваниям (Медведь В.И., 2007).

В то же время многочисленными исследованиями показано, что экстрагенитальная патология матери оказывает негативное влияние на внутриутробное развитие организма плода. Среди многочисленных разновидностей экстрагенитальных заболений особое место, в силу своей распространенности, занимает патология печени (Михайленко Е.Т., 1990; Закиров И.Г., 1999; Шехтман М.М., 2003). Известно, что дети, рожденные от матерей с хронической патологией печени, предрасположены к различным заболеваниям, в том числе инфекционным, что предполагает снижение неспецифической резистентности.

Одной из наиболее существенных систем, определяющих уровень неспецифической резистентности, является макрофагальная система (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1989; Маянский Д.Н., Пикуза О.И., 1993; Черешнев В.А., Юшков Б.Г. и др.,2002; Азнаурян А.В., 2004). В связи с этим, целью нашего исследования явился анализ фагоцитарной активности и ловушкообразующей способности макрофагов различных компартментов у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени лекарственного генеза в различные сроки постнатального развития.

Для достижения поставленной цели проводилась комплексная оценка функциональной активности макрофагов, включающая иммунологические, цитохимические, морфометрические и статистические методы исследования, что позволило оценить их численный состав, рецепторный аппарат, уровень

метаболической активности, поглотительную способность, киллинговую активность.

Было установлено, что у потомства самок крыс с экспериментальным лекарственным поражением печени имеет место нарушение адгезивных свойств (угнетение процента распластывания и адгезии мононуклеаров), поглотительной способности (депрессия фагоцитарного показателя, фагоцитарного индекса), киллинговой активности (кислородзависимых и кислороднезависимых механизмов бактерицидности), внутриклеточного метаболизма (снижение ферментативного статуса, энергетического потенциала). Наиболее выраженные изменения были выявлены в опытной группе 1.

Показателем, характеризующим уровень защитных механизмов, является образование экстрацеллюлярных ловушек. В процессе фагоцитоза поглотительная способность макрофагов постепенно снижается и активируется механизм микробоцидности, связанный с образованием структур, напоминающих сеть, с последующим «прилипанием» к внеклеточно расположенным нитям ДНК патогенных и условнопатогенных микроорганизмов и их гибелью. В то же время известно, что образование внеклеточных ловушек является новым способом клеточной гибели, отличным от апоптоза и некроза (Коротина О.Л., 2012). Данные литературы свидетельствуют о том, что новому механизму бактерицидности, осуществляемому фагоцитами, уделяется огромное внимание (Brinkmann V. et al., 2004; Urban C.F. et al., 2006; Brinkmann V., Zychlinsky A., 2007; Fuchs T.A. et al., 2007; Steinberg B.E., Grinstein S., 2007; Neeli I. et al., 2009; Florian H. Pilsczek et al., 2010).

Нами было установлено угнетение ловушкообразующей способности макрофагов различных компартментов потомства подопытных животных, а также активности внеклеточных макрофагальных ловушек, выражающиеся в снижении количества ловушек, а также индекса макрофагальной ловушки, киллинговой активности и числа активных ловушек.

Несомненно, что изменение числа и функциональной активности макрофагов различных компартментов потомства самок крыс с лекарственным поражением гепатобилиарной системы, в том числе ловушкообразующей способности, обусловливает снижение неспецифической резистентности организма.

Механизмы нарушений реактивности и резистентности потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени, представляются нам следующим образом.

Общеизвестно, что при запуске стресс – реакции возникает целый каскад синтетических процессов, которые запускаются и контролируются гормонами – кортиколиберином и аргинин – вазопрессином (Резников А.Г. с соавт., 2004). В результате активации оси «гипоталамус – гипофиз – надпочечники» усиливается выработка кортикостероидов корой надпочечников (Пшенникова М.Г., 2000). В то же время выраженность стрессиндуцированных изменений напрямую зависит от соотношения стресс – реализующей и стресс – лимитирующей систем (Томова Т.А. с соавт., 2014).

Продукты – «активаторы» стресс – реакции (норадреналин, вазопрессин) запускают комплекс событий, меняющих функционирование организма. Например, именно норадреналин ответственен за активацию стрессиндуцированной секреции АКТГ и кортикостероидов. Кроме того, выявлено, что под действием стресса повышается секреция пролактина (Whitewelkley J.E. et al., 1996), который взаимодействует с продуктами коры надпочечников по механизму двойной связи (Саутін Ю.Ю., 1997). В то же время установлено, что многочисленные рецепторы пролактина способны взаимодействовать с эмбриональным пролактином, что играет существенную роль в процессах развития и роста плода (Tzeng S.J., 1997).

Еще одним механизмом стресс – реализующей системы является активация радикального окисления, являющегося одной из главных причин нарушения структуры и функции биологической мембраны (Камскова Ю.Г., 2002). Более

того, выраженность процессов перекисного окисления липидов наряду с повышением уровня гормонов коры надпочечников отражают степень активности стресс – реакции. Повреждая липидный компонент мембран, свободнорадикальные продукты вызывают нарушение функциональной активности клетки, тогда как повреждение липидов ядра с последующим повреждением хроматина способствует формированию у плода тератогенных эффектов (Левицкий Е.Л., 1994).

Избыточная продукция активных форм кислорода негативно воздействует и на белковые молекулы (Шаронов Б.П., Кондратьева Л.Д., 1991), в частности, ферменты, вызывая их окислительную перестройку и нарушая ферментативные процессы клетки.

Кроме того, точно установлено активное участие в стресс – реакции тиреоидных гормонов, участвующих в регуляции уровня АКТГ. Экспериментальным путем было установлено, что введение препротиротропин – рилизинг – фактора за несколько минут до воспроизведения иммобилизационного стресса приводило к снижению концентрации циркулирующего АКТГ, кортикостероидов, а также пролактина (McGivern R.F. et al., 1997). В то же время гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система способна повышать концентрацию трийодтиронина, снижая его деструкцию клетками печени. Тиреоидных гормоны участвуют в ограничении процессов перекисного окисления липидов (Божко А.П., 1998), снижая проявления стрессовой реакции.

Кроме того, сдерживающим оксидативное повреждение фактором является активация белков теплового шока и белков – шаперонов (Edwards M.J., 1998), способных связываться с гидрофобными участками белков и предупреждать образование функционально неполноценных соединений. Исходя из того, что белки – шапероны образуются в организме плода, они в условиях влияния незначительного по силе и длительности стресс – фактора в течение некоторого времени могут защищать плод от повреждения.

Таким образом, с одной стороны на плод оказывают негативное влияние токсичные продукты из организма матери (продукты азотистого обмена, цитотоксические лимфоциты, аутоантитела, иммунные комплексы), которые образуются в результате нарушения функций печени и проникают через гемато – плацентарный барьер в организм плода. При этом аутоантитела, поступающие из организма матери, могут вызывать развитие патологических аутоимунных реакций, что приводит к истощению адаптационных способностей организма.

С другой стороны, стресс материнского организма приводит к запуску целого каскада нейрогормональных сдвигов у плода, что связано с проникновением через гемато – плацентарный барьер кортикотропина и кортикостероидов (Резников А.Г., 2004), являющихся основными мощными медиаторами стресс – реализующей системы.

Длительное воздействие данных продуктов на молекулярном, клеточном, органном и системном уровнях приводит к множественным функциональным и структурным перестройкам организма матери и плода. В частности, негативное влияние пренатального стресса распространяется на систему кроветворения. Так было показано, что экспериментальная патология печени матери вызывает нарушение моноцитопоэза. Имеются данные (Брюхин Г.В., Невзорова Н.В., 2013), свидетельствующие о нарушении миелоидного кроветворения у потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени, что нашло свое проявление, с одной стороны, в уменьшении числа клеточных элементов костномозгового миелоидного ростка, а с другой, в депрессии их функционального состояния. В результате нарушается способность образовывать полноценные тканевые макрофаги и формируется неполноценность функциональных свойств тканевых макрофагов.

В результате чрезмерного действия на организм плода различных стресс – реализующих механизмов стресс – лимитирующая система не способна противостоять стрессорному воздействию, что ведет к дезинтеграции двух этих систем, нарушая резистентность организма.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментальное лекарственное поражение печени матери вызывает изменение количественных показателей мононуклеарных фагоцитов, выражающееся в перераспределении клеточных элементов – повышение числа макрофагов печени и снижение численности макрофагов других компартментов.
2. Экспериментальная лекарственная патология печени матери вызывает изменение функционального статуса мононуклеарных фагоцитов, выражающееся в снижении фагоцитарной активности (адгезивных свойств, поглотительной способности, кислородзависимых и кислороднезависимых механизмов бактерицидности, метаболической активности, энергетического потенциала).
3. Экстрагенитальная патология печени матери лекарственного генеза обусловливает нарушение ловушкообразующей способности тканевых макрофагов и моноцитов периферической крови (снижение числа активных внеклеточных ловушек, их фагоцитарного индекса и киллинговой активности) у потомства.
4. Экспериментальная патология печени матери, обусловленная введением лекарственных средств, приводит к снижению стрессрезистентности мононуклеарных фагоцитов потомства.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агол, В.И. Генетически запрограммированная гибель клетки / В.И. Агол // Соросовский образовательный журнал. 1996. – №6. – С. 20-24.

2. Антонеева, И.И. Кислородзависимая антимикробная система нейтрофилов в динамике развития рака яичников / И.И. Антонеева // Казанский медицинский журнал. – 2008. – №4. – С. 476-478.

3. Апресян, С.В. Беременность и роды при экстрагенитальных заболеваниях / С.В. Апресян; под ред. В.Е. Радзинского – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009 – 464 с.

4. Ахтариева, А.А. Изучение влияния термолабильного энтеротоксина бактерии рода Enterobacter на функциональную активность перитонеальных макрофагов в эксперименте / А.А. Ахтариева, И.И. Долгушин, З.Г. Габидуллин и др. // Известия Челябинского научного центра. – 2006. – №2(32). – С.120-122.

5. Ашкинази, В.И. Молекулы адгезии при деструктивно-воспалительном процессе в кишечнике у детей с язвенным колитом / В.И. Ашкинази, И.В. Маянская, Н.И. Толкачева и др. // Вопросы современной педиатрии. – 2013. – Т.12, №4. – С. 52-56.

6. Ашкинази, В.И. Цитохимические показатели нейтрофиловротовой полости в норме и при некоторых заболеваниях у детей / В.И. Ашкинази, И.В. Маянская, Н.И. Толкачева и др. // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2009. – Т.1, №6. – С. 28-33.

7. Бабайлов, М.С. Цитохимическая характеристика альвеолярных макрофагов у детей с легкой персистирующей бронхиальной астмой / М.С. Бабайлов // Материалы II Международной (IX Итоговой) научно-практической конференции молодых ученых. – Челябинск: Изд-во ЧелГМА, 2011. – С. 9-13.

8. Бабак, О.Я. Лекарственные поражения печени: вопросы теории и практики / О.Я. Бабак // Травень. – 2008. - №4(120). – С. 83-88.

9. Бабак, О.Я. Современные представления о лекарственно-индуцированном поражении печени / О.Я. Бабак // Здоровье Украины. – 2007. – № 20/1. – С. 34-36.

10. Баранов, А.А. Состояние здоровья детей как фактор национальной безопасности / А.А. Баранов, Л.А. Щеплягина, А.Г. Ильин и др. // Российский педиатрический журнал. – 2005. – №2. – С. 4-8.

11. Баранов А.А. Фундаментальные и прикладные исследования по проблемам роста и развития детей и подростков / А.А. Баранов, Л.А. Щеплягина // Российский педиатрический журнал. – 2000. – № 5. – С. 5-12.

12. Барт, Б.Я. Гипертензивные состояния у беременных (социальные и медицинские аспекты) / Б.Я. Барт, О.В. Макаров, Рунихина Н.К. и др. // Российский кардиологический журнал. – 2010. – №3(83). – С. 26-33.

13. Барышева, С.В. Характеристика фагоцитарной активности перитонеальных и альвеолярных макрофагов при экспериментальном D-галактозаминовом поражении печени / С.В. Барышева, Г.В. Брюхин, А.А. Федосов // Морфология. – 2008. – Т. 133. – № 2. – С. 17.

14. Безнощенко, Г.Б. Желтухи и беременность / Г.Б. Безнощенко, В.Н. Дроздов, О.А. Неверовский // Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. – 1995. – Т. 1. – № 4. – с. 67-71.

15. Белова, О.Б. Функциональная активность клеток системы иммунитета интактных мышей при взаимодействии с наночастицами ферромагнетика в условиях in vivo и in vitro / О.Б. Белова, Ю.Д. Винничук, Н.М. Бережная // Онкология. – 2011. – Том 13, №3. – С. 192-196.

16. Белоусов, Ю.Б. Лекарственные поражения печени, ассоциируемые с макролидами. Очевидна ли связь? / Ю.Б. Белоусов // Русский медицинский журнал. – 2011. – №18. – С. 1118-1122.

17. Белоусов, Ю.Б. Взаимодействия лекарственных препаратов с пищей / Ю.Б. Белоусов, К.Г. Гуревич // Фарматека. – 2002. – №6. – С. 49-52

18. Белушкина, Н.Н. Белецкий И.П. Молекулярно-медицинские аспекты клеточной гибели. В кн.: Введение в молекулярную патологию. – М.: Медицина. – 2004. - С. 414-445.

19. Богдасаров, А.Ю. Цитохимическое определение гликогена при заболеваниях шейки матки у женщин / А.Ю. Богдасаров, Р.А. Родкина, Л.Ю. Давидян и др. // Казанский медицинский журнал. – 2002. – Т.83, №3. – С. 221-222.

20. Богомолова, Н.В. Функциональная морфология клеток крови в условиях острого иммобилизационного стресса при облучении электромагнитными волнами миллиметрового диапазона / Н.В. Богомолова, В.Ф. Киричук, С.И. Киреев // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – №6. – С. 43-44.

21. Божедомов, В.А. Причины оксидативного стресса сперматозоидов / В.А. Божедомов, Д.С. Громенко, И.В. Ушакова и др. // Проблемы репродукции. – 2008. – №6. – С. 67-73.

22. Божко, А.П. Значение тиреоидных гормонов в предупреждений нарушений сократительной функции и антиоксидантной активности миокарда при тепловом стрессе / А.П. Божко, И.В. Гоордецкая // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 1998. – №3. – С. 226-232

23. Ботерашвили, Н.М. Миелопероксидаза и лактоферрин в сыворотке крови и ликворе детей, больных менингитом / Н.М. Ботерашвили, Г.М. Алешина, М.Н. Сорокина // Медицинская иммунология. – 2002. – Т4, №4-5. – С. 565-572.

24. Бояков, А.А. Характеристика лимфоидных фолликулов кишечника у потомства самок крыс с хроническим аутоиммунным поражением печени в раннем постнатальном периоде / А.А. Бояков, Г.В. Брюхин // Актуальные вопросы видовой и возрастной морфологии животных, и птиц. – Троицк, 1999. – С. 30–31.

25. Брудастов, Ю.А. Активные метаболиты кислорода при фагоцитозе / Ю.А. Брудастов, О.С. Журлов, Е.В. Колиниченко и др. // Вестник ОГУ. – 2008. – №12. – С. 148-151.

26. Брускин, С.А. Поиск, идентификация и изучение экспрессии генов-кандидатов псориатического процесса: Автореф. канд. биол. наук. – М., 2008. – 27с.

27. Брындина, И.Г. Легочный сурфактант и бактерицидная активность альвеолярных макрофагов у крыс с разной стресс-резистентностью при хроническом эмоциональном стрессе / И.Г. Брындина, Н.Н. Васильева, М.В. Казакова // II Международная научно-практ. конф. «Новые концепции механизмов воспаления, аутоиммунного ответа и развития опухоли». Материалы конференции (избранные доклады). – Казань, 2011. – С. 13-22.

28. Брюхин, Г.В. Влияние экспериментального аутоиммунного процесса на структурно-функциональные изменения селезенки у потомства самок крыс с хроническим поражением печени / Г.В. Брюхин, Г.И.Михайлова // Морфология. – 1992. – №5. – С. 76–83.

29. Брюхин, Г.В. Структурно-функциональные изменения тимуса у потомства самок крыс при экспериментальном хроническом холестазе / Г.В. Брюхин, Г.И. Михайлова // Морфология. – 1993. – №6. – С.93–99.

30. Брюхин, Г.В. Функциональное состояние элементов системы мононуклеарных фагоцитов у потомства матерей с хроническим поражением печени различной этиологии / Г.В. Брюхин // Иммунология. – 1993. – №4. С. 63–64.

31. Брюхин, Г.В. Влияние хронического холестатического поражения печени матери на потомства в условиях эксперимента / Г.В. Брюхин // Морфология. 1994. – №2. – С. 18–21.

32. Брюхин, Г.В. Влияние иммобилизационного стресса на интенсивность Fc- зависимого фагоцитоза у потомства животных с хронической патологией гепатобилиарной системы различной этиологии / Г.В. Брюхин, А.Ю. Грачев, М.Г. Немец // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1994. – № 2. – С. 34–37.

33. Брюхин, Г.В. Особенности показателей клеточного иммунитета при ревматоидном артрите у потомства самок крыс с хроническим поражением печени / Г.В. Брюхин // Физиологический журнал. – 1999. – №3. – С. 31–33.

34. Брюхин, Г.В. Влияние хронического поражения печени самок крыс на готовность к апоптозу спленоцитов их потомства / Г.В. Брюхин, Е.Н. Пашнина, А.А. Федосов // Морфология. – 2002. – №2–3. – С.26–27.

35. Брюхин, Г.В. Влияние хронических поражений гепатобилиарной системы матери на развитие, реактивность и резистентность потомства: дисс. докт. мед. наук. – Челябинск, 1994. – 472 с.

36. Брюхин, Г.В. Основы общей и клинической цитологии (учебно-методическое пособие) / Г.В. Брюхин. – Челябинск: Иероглиф, 2000. – 100 с.

37. Брюхин, Г.В. Оценка фагоцитарных и бактерицидных свойств моноцитов периферической крови потомства животных с патологией гепатобилиарной системы различной этиологии / Г.В. Брюхин, Е.Ю. Шаврина // Вестник ЮУрГУ. – 2011. – №39. – С. 85-89.

38. Брюхин, Г.В. Роль экспериментального поражения печени матери в развитии физиологической незрелости потомства / Г.В. Брюхин, М.Л. Сизоненко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154. – № 11. – С. 544–546.

39. Брюхин, Г.В. Роль хронической экспериментальной патологии печени матери в становлении неспецифической клеточной резистентности потомства / Г.В. Брюхин, Н.В. Невзорова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т.155. -№1. – С. 114-118.

40. Брюхин, Г.В. Сравнительная характеристика цитохимического состояния перитонеальных и альвеолярных макрофагов потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени / Г.В. Брюхин, Е.Ю. Шаврина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т.155. -№5. – С. 551-555.

41. Брюхин, Г.В. Фагоцитарная активность моноцитов периферической крови и перитонеальных макрофагов у потомства самок с хроническим поражением печени / Г.В. Брюхин, А.Ю. Грачев // Физиологический журнал. – 1990. – №6. – С. 99-102.

42. Буеверов А.О. / Общие представления о лекарственных поражениях печени // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2002. - №4. – С. 7-11.

43. Бурдули, Г.М. Репродуктивные потери (клинические и медико-социальные аспекты) / Г.М. Бурдули, О.Г. Фролова. – М: Триада-Х. – 1997. – 76 с.

44. Бурчинский, С.Г. Парацетамол - новые перспективы клинического применения / С.Г. Бурчинский // Фармакол.вюн.- 2000.- №6.- С. 11-13.

45. Бутенко, З.А. Цитохимия и электронная микроскопия клеток крови и кроветворных органов / З.А. Бутенко, Д.Ф. Глузман, К.П. Зак. – Киев: «Науки думка». – 1974. – 245 с.

46. Васильев, Н.В. Система крови и неспецифическая резистентность в экстремальных климатических условиях / Н.В. Васильев, Ю.М. Захаров, Т.И. Коляда. – Новосибирск: ВО Наука, 1992 – 257 с.

47. Венгеровский, А.И. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических веществ / А.И. Венгеровский, И.В. Маркова, А.С. Саратиков // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005. - С. 683-691.

48. Вельтищев, Ю. Е. Проблемы охраны здоровья детей России / Ю.Е. Вельтищев // Российский вестник перинатологии и педиатрии – 2000. – №1. – с. 5-9.

49. Волкова, О.В. Основы гистологии с гистологической техникой / О.В. Волкова, Ю.К. Елецкий. – М.: Медицина, 1982. – 304 С.

50. Волощук, О.Н. Энзиматическая активность компонентов системы энергообеспечения митохондрий лейкоцитов крови в динамике роста карциномы

Герена / О.Н. Волощук, М.М. Марченко // Сибирский онкологический журнал. – 2013. – №6(60). – С. 36-39.

51. Воронина, Е.Н. Мембранные рецепторы тромбоцитов: функции и полиморфизм / Е.Н. Воронина, М.Л. Филипенко, Д.С. Сергеевичев и др. // Вестник ВОГиС. – 2006. – Т.10, № 3. – С. 553-564.

52. Воскресенский, А.М. Макрофаги в неспецифическом взаимодействии с инфекционными агентами / А.М. Воскресенский, Г.Е. Аркадьева // Иммунология. – 1984. – №3. – С. 10-15.

53. Вторушина, Е.В. Характеристика инкреторной функции яичников потомства самок крыс с хроническим экспериментальным поражением печени различной этиологии / Е.В. Вторушина, Г.В. Брюхин // Проблемы репродукции. – 2008. – № 1. – С. 6–9.

54. Гаврилова, Е.А. Стресс-индуцированные нарушения иммунной функции и их психокоррекция / Е.А. Гаврилова, Л.Ф. Шабанова // Физиология человека. – 1998. – Том 24, №1. – С. 123-130.

55. Галимова С.Ф. / Лекарственные поражения печени. Часть 1. // Трансплантология. – 2011. - №1. – С. 13-21.

56. Глебов, Р.Н. Эндоцитоз и экзоцитоз / Р.Н. Глебов. – М.: Высшая школа, 1987. – 96 с.

57. Глинник, С.В. Характеристика гормонального и прооксидантно-антиоксидантного статуса крыс при иммобилизационном стрессе // Труды молодых ученых 2010: сб. науч. работ / Белорус. гос. мед. ун-т; под общ. ред. С.Л. Кабака. – Минск: БГМУ, 2010. – С. 20−24.

58. Голохваст, К.С. Альвеолярный макрофаг (краткий обзор) / К.С. Голохваст, В.В. Чайка // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т.XVIII. – №2. – с. 23.

59. Горизонтов, П.Д. Стресс и система крови / П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова – М.: Медицина. – 240 с.

60. Грачев, А.Ю. Система мононуклеарных фагоцитов у потомства матерей с хроническим аутоиммунным и холестатическим поражением печени: дисс. канд. мед. наук. – Челябинск, 1994. – 225 с.

61. Грачев, А.Ю. Содержание клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов у потомства матерей с хроническим поражением гепатобилиарной системы матери различного генеза / А.Ю. Грачев, Г.В. Брюхин // «Роль патологии печени матери в нарушении развития, реактивности и резистентности потомства в условиях эксперимента»: сб. научных трудов / под ред. Г.В. Брюхина. – Челябинск: ЧГМА, 2004. – С. 106-110.

62. Гудков, Г.В. Активность перитонеальных фагоцитов и перекисное окисление липидов в перитонеальной жидкости у больных наружным генитальным эндометриозом / Г.В. Гудков, Р.А. Ханферян // Вестник муниципального здравоохранения. Электронное периодическое издание. – 2009. – №3(1).

63. Гусева С.А. Бактерицидная функция нейтрофилов при миелопролиферативных заболеваниях / С.А. Гусева // Врачебное дело – 1990. – №2. – С. 27-30.

64. Давыдов, В.Ф. Виды побочного действия лекарственных средств и их классификация / В.Ф. Давыдов // Фармакология и токсикология. – 1980. – Т.43. - №6. – С.652-661.

65. Дамбаева, С.В. Влияние некоторых иммуномодуляторов на функциональную активность фагоцитарных клеток периферической крови доноров / С.В. Дамбаева, Д.В. Мазуров, Н.М. Голубева, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2000. – №6. – С. 15-20.

66. Дамбаева, С.В. Некоторые особенности функционирования фагоцитарной системы у больных хронической гранулематозной болезнью / С.В. Дамбаева, Д.В. Мазуров, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2002. – №2. – С. 87-93.

67. Демидов, В.И. Эффективность применения Прогепара при экспериментальном повреждении печени алкоголем и парацетамолом: биохимия и гистология / В.И.

68. Демидов, О.А. Назаренко, И.Ю. Торшин и др. // Фарматека. – 2011. – №2. – С. 93-98.

69. Долгушин, И.И. Влияние вакцины Солкотриховак на образование нейтрофильных внеклеточных ловушек / И.И. Долгушин, Ю.С. Андреева, А.И. Рыжкова и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2009. – №4. – С. 53-55.

70. Долгушин, И.И. Влияние циклоферона на образование нейтрофильных внеклеточных ловушек in vitro / И.И. Долгушин, Ю.С. Андреева, А.И. Рыжкова и др. // Иммунология. – 2009. – №4. – Т. 30, №4. – С. 196-200.

71. Долгушин, И.И. Внеклеточный антимикробный механизм защиты нейтрофильных гранулоцитов / И.И. Долгушин, А.Ю. Савочкина, Ю.С. Шишкова и др. // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – №4. – С. 30-31.

72. Долгушин, И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов / И.И. Долгушин, Ю.С. Андреева, А.Ю. Савочкина. – М.: Изд-во РАМН, 2009. – 208 с.

73. Долгушин, И.И. Изучение способности моноцитов, выделенных из периферической крови, образовывать внеклеточные ловушки спонтанно и после активации / И.И. Долгушин, О.Б. Прокопьева, Т.Г. Смирнова и др. // Иммунология. – 2012. – Т.33. – №5. – С. 240-243

74. Долгушин, М.В. Влияние вибрационного стресса на функционально-метаболический статус лейкоцитов крови / М.В. Долгушин, Н.С. Давыдова // Биомедицинская химия. – 2013. – Том 59, вып. 1. – С. 97-103.

75. Донцов, В.И. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении / В.И. Донцов, В. Н. Крутько, Б. М. Мрикаев и др. // Труды ИСА РАН. – 2006. – Т. 19. – С. 50-69.

76. Драник, Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Драник. – М., Мединформ. – 2003. – 392 с.

77. Древаль, А.В. Диагностическое значение окислительно-восстановительных ферментов лейкоцитов при постменопаузальной остеопении / А.В. Древаль, Л.А. Марченкова, О.П. Кузнецова // Проблемы эндокринологии. – 1999. – №2. – С. 31-35.

78. Дубровский, А.С. Морфофункциональное состояние альвеолярных макрофагов при прогрессирующих формах туберкулеза легких с множественной лекарственной устойчивостью / А.С. Дубровский // Медицинский журнал. – 2013. – №2. – С. 85-87.

79. Евченко, Е.В. Роль иммунного компонента в поражении одноименного органа у потомства самок крыс с хронической экспериментальной патологией гепатобилиарной системы: автореф. дисс. канд. мед. наук. – Челябинск, 2001. – 22 с.

80. Егорова, А.Т. Сравнительный анализ течения заболеваний панкреатобилиарной системы у беременных / А.Т. Егорова, Д.А. Моисеенко, Е.Ю. Киселева и др. // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2013. – №25(168). – С. 25-31.

81. Егорова, Е.А. Особенности нарушения метаболической активности системы микро-макрофагов у больных с ангинами / Е.А. Егорова, А.В. Красков, В.В. Василькова с соавт. // Астраханский медицинский журнал. – 2010. – Т.5, №2. – С. 40-43.

82. Едранов, С.С. Апоптоз как фактор организации посттравматического воспаления / С.С. Едранов // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2012. – №2. – С. 100-104

83. Елисеева, Е.В. Анализ фармакотерапии у беременных / Е.В. Елисеева, ., Ю.В. Феоктистова, И.И. Шмыкова // Безопасность лекарств и фармаконадзор. – 2008. – №2. – С. 12-19.

84. Еремина, Е.Ю. Лекарственные поражения печени / Е.Ю. Еремина // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2012. – №1. – С. 16-23.

85. Ерохин, В.В. Избирательное влияние легочного сурфактанта на разные субпопуляции альвеолярных макрофагов при туберкулезе / В.В. Ерохин, Л.Н. Лепеха, М.В. Ерохина и др. // Вестник РАМН. – 2012. – №11. – С. 22-28.

86. Ерохин, В.В. Морфологические проявления вторичного иммунодефицита: Обзор / В.В. Ерохин, М.П. Ельшанская // Проблемы туберкулеза. – 1990. – №6. – С. 65-70

87. Жарков, Н.В. Изучение численности макрофагов при остром и хроническом воспалении и при раке толстой кишки / Н.В. Жарков, С.Т. Нуртазин, А.Р. Мустафина и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – №1. – С. 44.

88. Железнякова, Н.М. Патогенетические механизмы лекарственных поражений печени / Н.М. Железнякова // Крымский терапевтический журнал. – 2007. – Т.2. – №2. – С. 47-49.

89. Жульмина, В.В. Функциональные особенности макрофагов в очаге витилиго / В.В. Жульмина // Вестник дерматологии и венерологии. – 2012. – №5. – С. 52-55.

90. Заболотных, Н.В. Иммунологические механизмы обеспечения терапевтического эффекта гриппозных векторов, экспрессирующих антиген ESAT-6, при экспериментальном туберкулезе у мышей / Н.В. Заболотных, М.А. Стукова, Т.И. Виноградова, А.Ю. Егоров, П.Г. Назаров // Цитокины и воспаление. – 2009. – №3. – С. 27-32.

91. Зайцева, Л.Г. Коррекция функциональной активности перитонеальных макрофагов мышей фоспренилом и гамавитом при введении высоких доз альфа-токсина Staphylococcus aureus / Л.Г. Зайцева, В.А. Бехало, И.К. Васильев и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. – №6. – С. 51-57.

92. Закиров И.Г. Вирусный гепатит С (Эпидемиология, клиника, диагностика и профилактика) (методические рекомендации) / И.Г. Закиров, Л.Р. Юзлибаева. – Казань, 1999. - 27 с.

93. Запорожец, Т.С. Влияние фосфорорганических соединений на факторы врожденного иммунитета мышей / Т.С. Запорожец, Л.А. Иванушко, А.К. Гажа и др. // Биомедицина. – 2013. – №1. – С. 36-47.

94. Земсков, В.М. Молекулярные механизмы влияния адгезии на активацию и дифференцировку иммунокомпетентных клеток / В.М. Земсков, С.М. Субботин // Иммунология. – 1990. – №2. – С. 9-12.

95. Зинкин, В.Ю. Способ количественной оценки кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов человека / В.Ю. Зинкин, М.А. Годков // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – №8. – С. 26-29.

96. Змушко, Е.И. Медикаментозные осложнения / Е.И. Змушко. – СПб.: Питер, 2001.- 448 с.

97. Зубарев, И.В. Характеристика тучных клеток яичника потомства самок крыс с хроническим экспериментальным поражением печени различного генеза / Зубарев И.В., Брюхин Г.В. // Проблемы репродукции. – 2011. – № 6. – С. 14–17.

98. Зурочка, А.В. Изменение экспрессии HLA-DR – антигенов на моноцитах у детей и ее клиническая значимость при сепсисе / А.В. Зурочка, А.Н. Котляров, М.В. Кувайцев и др. // Медицинская иммунология. – 2008. – Том 10. – №4-5. – С. 379-388.

99. Иванская, Н.Н. Активность сукцинатдегидрогеназы в печени крыс при острой циркуляторной гипоксии / Н.Н. Иванская, Л.В. Просина, И.Н. Дементьев и др. // Фундаментальные исследования. – 2004. – №2. – С. 135-136.

100. Ивашкин, В.Т. Болезни печении желчевыводящих путей. Руководство для врачей. 2-е изд. / В.Т. Ивашкин. – М.: Издат. дом «М-Вести», 2005. – 536 С.

101. Ивашкин, В.Т. Основные принципы метаболизма лекарств и безопасное применение парацетамола / В.Т. Ивашкин, В.П. Фисенко, М.В.

Маевская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1999. – №2. – С. 86-87.

102. Илларионов, В. Е. Основы лазерной терапии / В.Е. Илларионов. – М: Респект, 1992. – 122 с.

103. Ильиных, М.А. Влияние аутоимунного и токсического поражения печени матери на структурно-функциональное становление поджелудочной железы ее потомства / М.А. Ильиных, Г.В. Брюхин // Известия Челябинского научного центра УрО РАН. – 2006. – № 4. – С. 82–84.

104. Ильченко, Л.Ю. Лекарственная болезнь печени. Роль гепатопротекторов в ее терапии / Л.Ю. Ильченко, Т.И. Корович // Медицинский совет. – 2013. – №10. – С. 32-37.

105. Кадыков, А.М. Метаболическая активность моноцитов и нейтрофилов у беременных с высоким риском развития инфекционно-воспалительных осложнений / А.М. Кадыков, Х.М. Галимзянов, Н.И. Аношкина // Астраханский медицинский журнал. – Т.6, №3. – С. 86-87.

106. Калачева, Н.В. Ингибирование фагоцитарной функции макрофагов in vitro димерной формой РНКазы Bacillus intermedius / Н.В. Калачева, О.А. Коновалова, Д.С. Налимов и др. // Цитология. – 2008. – Том 50, №6. – С. 487-491.

107. Камскова, Ю.Г. Изменения в системе крови при длительной гипокинезии / Ю.Г. Камскова // Вестник ЧГПУ. – 2000. – Сер.9, №1. – С. 90-93.

108. Карпеева, Е.А. Характеристика ферментативной активности нейтрофильных лейкоцитов при экспериментальном бластоцистозе / Е.А. Карпеева, А.А. Захаров // Вестник ЧГПУ им. И.Я. Яковлева. – 2010. – №4(68). – С. 75-78.

109. Катикова, О.Ю. Гепатопротекторное действие препаратов растительного происхождения / О.Ю. Катикова, Я.В. Костин, В.С. Тишкин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65. – №1. – С. 41-43.

110. Кирющенков, А.П. Влияние лекарственных средств, алкоголя и никотина на плод / А.П. Кирющенков, М.Л. Тараховский. – М.: Медицина, 1990. – 272 с.

111. Клебанов, Г.И. Клеточные механизмы прайминга и активации фагоцитов / Г.И. Клебанов, Ю.А. Владимиров // Успехи современной биологии. – 1999. – Вып. 119(5). – С. 462-475.

112. Ключарева, А.А. Лекарственный гепатит / А.А. Ключарева // Медицинские новости. – 2007. – №14. – С. 19-24

113. Кляритская, И.Л. Современный взгляд на проблему лекарственных поражений печени / И.Л. Кляритская, Е.В. Максимова // Гастроэнтерология. – 2011. – №382. – С. 30-35.

114. Ковальчук, Л.В. Иммунорегуляторная роль моноцитов в норме и при иммунопатологии / Л.В. Ковальчук, А.Н. Чередеев // Итоги науки и техники. Серия Иммунология. – М.: ВИНИТИ, 1991. – 270 с.

115. Кобляков, В.А. Цитохромы семейства Р-450 и роль их активации прокан-церогенов / В.А.Кобляков // Вопросы медицинской химии. – 1987. – №12. – С. 5-14.

116. Кондратьева, И.А. Практикум по иммунологии / И.А. Кондратьева, В.Д. Самуилов. – М.: Изд-во МГУ, 2001. – 224 с.

117. Коркина, Л.Г. Роль свободных радикалов в пылевой патологии легких «Кислородные радикалы в химии, биологии, медицине»: Сборник научных трудов / Л.Г. Коркина, Б.Т. Величковский. – Рига. – 1988. – С. 153-163.

118. Коротина, О.Л. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции / О.Л. Коротина, И.И. Генералов // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – №4. – С. 23-32.

119. Косарев, В.В. Поражения легких, обусловленные воздействием лекарственных средств / В.В. Косарев, С.А. Бабанов // Врач. – 2012. – №11. – С. 9-12.

120. Кравцов, А.Л. Формирование внеклеточных ловушек – эффективный механизм защиты организма от патогена / А.Л. Кравцов // Проблемы особо опасных инфекций. – 2012. – №2(112). – С. 69-74.

121. Крыжановский, Г.Н. Стресс и иммунитет / Г.Н. Крыжановский // Вестник АМН СССР. – 1985. – №8. – С. 3-12.

122. Крюков, А.А. Генерация активных форм кислорода в моноцитах при адгезии к стеклу / Крюков А.А., Семенкова Г.Н., Черенкевич С.Н. // Цитология. – 2006. – Т.48, №2. – С. 142-148.

123. Кудрин, А.Н. Лекарственная аллергия / А.Н. Кудрин, Ю.П. Бородин. – М.: Знание, 1985. – 64 с.

124. Кузнецов, М.Е. Состав и функциональное состояние клеток перитонеальной полости крыс при острой кровопотере / Кузнецов М.Е. // Сборник работ 69-й итоговой научной сессии КГМУ и отделения медико-биологических наук Центрально-Черноземного научного центра РАМН. – Курск КГМУ, 2004. – С. 35-36.

125. Кузнецова, А.Б. Особенности экспрессии β-эндорфина в нейросекреторных клетках аркуатного ядра гипоталамуса потомства самок крыс с хронической алкогольной интоксикацией в различные сроки постнатального онтогенеза / А.Б. Кузнецова, Г.В. Брюхин // В сб. науч тр. Естествознание и гуманизм – Томск: «Вайнар», 2006. – Т. 3, №1. – С. 83-84.

126. Кузьменко, Д.И. Оценка резерва липидов сыворотки крови для перекисного окисления в динамике окислительного стресса у крыс / Д.И. Кузьменко, Б.И. Лаптев // Вопросы медицинской химии. – 1999. – № 1. – С. 16-23.

127. Кузьменко, Е.В. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови крыс сразличной реакцией на стресс / Е.В. Кузьменко, Н.А. Никифорова, М.О. Иваненко // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія. – 2010. – Вип.11, №905. – С. 173-177.

128. Кузьмин, В.Н. Варианты клинического течения и новые аспекты лечения вирусного гепатита В у беременных / В.Н. Кузьмин // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2008. – Т. 7. – № 2. – С. 86-91.

129. Кузьмин, В.Н. Новый взгляд на проблему желтухи и холестаза у беременных в современном акушерстве / В.Н. Кузьмин // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. – №5. – С.71-76.

130. Кулаков, В.И. Алгоритм пренатального мониторинга / В.И. Кулаков, В.Н. Серов, В.Н. Демидов и др. // Акушерство и гинекология. – 2000. – №5. – С. 56-59.

131. Кульчиков, А.Е. Нарушение фагоцитоза и его фармакокоррекция при геморрагическом инсульте / А.Е. Кульчиков, С.Г. Морозов, Е.А. Гриненко и др. // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т. 10. – №3. – С. 102-107.

132. Курбанов, А.И. Современные представления о механизме действия антиоксидантов на фагоцитоз / А.И. Курбанов // Международный медицинский журнал. – 2008. – №3. – С. 104-107.

133. Курцер, М.А. Перинатальная смертность и пути ее снижения / М.А. Курцер, О.Б. Панина // Южно-Российский медицинский журнал. – 1999. – №2. – С. 37-42.

134. Ласьков, Д.С. Особенности морфофункциональных характеристик сперматозоидов у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени алкогольного генеза / Д.С. Ласьков, Г.В. Брюхин, М.Л. Сизоненко и др. // Проблемы репродукции. – 2014. – №2. – С.18-22.

135. Лебедько, О.А. Свободнорадикальный статус неокортекса белых крыс и его модификация экзогенными производными тестостерона / О.А. Лебедько, Б.Я. Рыжавский, О.В. Задворная // Дальневосточный медицинский журнал. – 2011. – №4. – С. 95-99.

136. Левицкий, Е.Л. Свободнорадикальные повреждения ядерного генетического аппарата клетки / Е.Л. Левицкий, Ю.И. Губский // Украинский биохимический журнал. – 1994. – №4. – С. 18-30

137. Леонов, Н.В. Влияние хронического алкогольного поражения печени матери на морфофункциональное состояние тучных клеток тимуса у потомства / Н.В. Леонов, Г.В. Брюхин // Морфологические ведомости. – 2007. – Т. 1. – № 3–4. – С. 43–45.

138. Леонтьева, Ю.М. Диагностика и лечение митохондриальной дисфункции при кардиомиопатиях у детей. Пособие для врачей. Под ред. И.В. Леонтьевой, Ю.М. Белозерова, В.С. Сухорукова. – М.: 2001. – 35с.

139. Летяева, О.И. Действие низкоинтенсивного лазерного излучения на процесс формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек / О.И. Летяева, О.А. Гизингер // В мире научных открытий. – 2010. – №4(10). – С. 77-80.

140. Лобанова, Е.М. Фагоцитарная активность стимулированных альвеолярных макрофагов в условиях гипоксии и гипертермии / Е.М. Лобанова, А.Д. Таганович // Белорусский медицинский журнал. – 2005. – №1. – С. 66-68.

141. Логинов, А.С. Клиническая морфология печени / А.С. Логинов, Л.И. Аруин. – М.: Медицина, 1985. – 215 с.

142. Лозинский, Е.Ю. Лекарственная нефропатия / Е.Ю. Лозинский, И.И. Шмыкова, Л.М. Лозинская и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2005. – №2. – С. 5-10.

143. Лопаткина, Т.Н. Лекарственные поражения печени / Т.Н. Лопаткина, Э.З. Бурневич // Врач. – 2003. – №12. – С. 18-20.

144. Луговская, С.А. Структура и функции моноцитов и макрофагов / С.А. Луговская // Клиническая лабораторная диагностика. – 1997. – №9. – С. 10-16.

145. Лукина, Е.А. Система мононуклеарных фагоцитов и биологические эффекты провоспалительных цитокинов / Е.А. Лукина // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1999. – №5. – С. 7-13.

146. Лямина, С.В. Особенности фагоцитарной и миграционной активности альвеолярных макрофагов М1 и М2 фенотипов / С.В. Лямина, Т.Ю. Веденикин, С.В. Круглов, Ш.Л. Шимшелашвили, О.П. Буданова, И.Ю. Малышев // Фундаментальные исследования. – 2011. – №11. – С. 536-539.

147. Мазуров, Д.В. Оценка внутриклеточного киллинга стафилококка фагоцитами периферической крови с помощью проточной цитометрии / Д.В. Мазуров, С.В. Дамбаева, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2000. – №2. – С. 57-59.

148. Малышев, И.Ю. Стресс-лимитирующая система оксида азота / И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Российский физиологический журнал. – 2000. –№10. – С.1283-1292.

149. Мальгина, Т.Д. Морфологическая характеристика эритроцитов потомства матерей с экспериментальным хроническим поражением печени / Т.Д. Мальгина // Морфология. – 2013. – №5. – С. 94.

150. Манских В.Н. / Пути гибели клетки и их биологическое значение // Цитология. – 2007. – Т.49. – №11. – С. 909-915.

151. Мариотти, С. Нормальная физиология гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы и ее связь с другими эндокринными железами и нервной системой / С. Мариотти // Медицинский научный и учебно-методический журнал. – 2005. – № 24. – С. 203–222.

152. Маслов, А.К. Бактерицидный эффект и активность миелопероксидазы макрофагов при персистировании микобактерий туберкулеза и лепры / А. К. Маслов // Вестник новых медицинских технологий – 1999. – Т. 6, № 1. – С. 76-79.

153. Маслов, А.К. Влияние пероксидазы в комплексе с основными противолепрозными средствами на функциональные способности фагоцитов, состояние печени и картину крови мышей с экспериментальной лепрой / А. К. Маслов, С. А. Лужнова, О. В. Калянина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т.132, №11. – С. 551-553.

154. Маслов, А.К. Роль пероксидазы в патогенезе заболеваний и реализация ее фармакологической активности на примере экспериментальной лепры / А.К. Маслов // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. XIV, №4. – С. 161-164.

155. Маслова, М.Н. Молекулярные механизмы стресса / М.Н. Маслова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2005. – Том 91, №11. – С. 1320-1328.

156. Машковский, М.Д. Лекарственные средства. Словарь справочник лекарственных средств. Для практических врачей / М.Д. Машковский, С.Д. Южаков. – М.: Новая волна, 2002. – 604 с.

157. Маянская, Н.Н. Оценка влияния факторов риска на течение экспериментальной пневмонии у крыс Вистар / Н.Н. Маянская, П.В. Вохминцева, Н.А. Насенкова и др. // Современные наукоемкие технологии. – 2005. – №10. – С. 49-50

158. Маянский, А.Н. Клинические аспекты фагоцитоза / А.Н. Маянский, О.И. Пикуза. – Казань, 1993. – 192 с.

159. Маянский, А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – 2-е изд., перераб. и доп. – Новосибирск: «Наука». Сибирское отделение, 1983. – 343 с.

160. Маянский, Д.Н. Диагностическая ценность лейкоцитарных тестов. Определение биоцидности лейкоцитов. Методические рекомендации / Д.Н. Маянский, Д.Д. Цирендоржиев, О.П. Макарова. – Новосибирск, 1996. – 24 с.

161. Маянский, Д.Н. Изменение поглотительной способности макрофагов из разных органов на введение гидрокортизона / Д.Н. Маянский, Н.П. Воронина, А.Ю. Воронин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1985. – Том 100, №9. – С. 324-326.

162. Маянский, Д.Н. Реактивность макрофагов легких и печени нормальных и предварительно стимулированных животных / Д.Н. Маянский, Д.Д. Цырендоржиев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1989. – №4. – С. 44-48.

163. Медведева, С.Ю. Роль макрофагов в патогенезе токсического гепатита у крыс / С.Ю. Медведева, И.Г. Данилова, Б.Г. Юшков и др. // Уральский медицинский журнал. – 2010. – №09(74). – С. 127-131.

164. Медведь, В.И. Введение в клинику экспериментальной патологии беременных. 2-е изд., исправл. / В.И. Медведь. – К.: Гидромакс, 2007. – 168 с.

165. Милованов А.П. Анализ причин материнской смертности / А.П. Милованов. – М., 2008. – 228 с.

166. Милюкене, В.В. Определение количественных параметров фагоцитоза Escherichia coli перитонеальными макрофагами мыши / В.В. Милюкене, Г.Ю. Бизюлявичене, Л.П. Хаустова и др. // Цитология. – 2007. – Том 49, №10. – С. 853-857.

167. Михайленко, Е.Т. Беременность и роды при хронических заболеваниях гепатобилиарной системы / Е.Т. Михайленко, А.А. Закревский Н.Г. Богдашкин и др. К.: Здоровье. – 1990. – 184 с.

168. Михайлова, Г.И. Сравнительная характеристика структурно-функциональных изменений селезенки потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени различной этиологии / Г.И. Михайлова, Г.В. Брюхин, Е.Н. Пашнина // Морфология. – 2005. – №3. – С. 48–51.

169. Моисеева, Е.Г. Метаболический гомеостаз и иммунная реактивность организма в динамике воспаления в тканях пародонта (экспериментальное исследование): автореф. дисс. докт. мед. наук. – Москва, 2008. – 45 с.

170. Мурзова, О.А. Ферментативная активность нейтрофилов и моноцитов крови у детей, больных бронхиальной астмой / О.А. Мурзова, В.И. Григанов // Педиатрия. – 2008. – Т.87, №4. – С. 39-41.

171. Мусаев, А.В. Влияние нафтала на фагоцитарные процессы перитонеальных макрофагов в условиях вторичного иммунодефицита / А.В. Мусаев, С.А. Багирова, С.Э. Магеррамова и др. // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2005. – №6. – С. 10-12.

172. Мусина, Л.А. Ультраструктура макрофагов, выявляемых при имплантации аллогенного биоматериала Аллоплант / Л.А. Мусина, С.А. Муслимов, А.И. Лебедева и др. // Морфология. – 2006. – №1. – С. 53-56.

173. Мусина, Л.А. Функциональная морфология макрофагов при регенерации тканей, индуцированной аллогенными биоматериалами: автореф. дисс. докт. биол. наук. – Уфа, 2007. – 22 с.

174. Мухамедова, Н.М. Липопротеиды высокой плотности подавляют воспалительную реакцию моноцитов. Сборник научных трудов «Проблемы и перспективы современной науки» с материалами Четвертой Международной Телеконференции «Фундаментальные науки и практика». / Н.М. Мухамедова, Д.Д. Свиридов, В.П. Карагодин и др. – Томск, 2011. – Т.3., №1. – С. 64-68.

175. Надеждин, С.В. Изменения функциональной активности лейкоцитов в условиях острого перегревания организма / С.В. Надеждин, М.З. Федорова, Н.А. Павлов и др. // Научные ведомости. – 2008. – №3(43). – С. 5-11.

176. Насибуллин, Б.А. Особенности реакций популяции клеток периферической крови и лимфоидной ткани на действие длительного иммобилизационно-эмоционального стресса / Б.А. Насибуллин, А.В. Змиевский, Е.С. Павлова // Світ медицини та біології. – 2011. – №2. – С. 34-36.

177. Невзорова, Н.В. Характеристика ШИК-позитивного материала в клетках нейтрофилоцитарного пула костного мозга у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени / Н.В. Невзорова, Г.В. Брюхин // Фундаментальные исследования. – 2012. – №8. – С. 116-121.

178. Николаева, Л.Б. Первая беременность и первые роды / Л.Б. Николаева, Г.А. Ушакова. – ГЭОТАР-Медиа – 2011. – 264 с.

179. Николина, О.В. Морфофункциональное становление щитовидной железы самок крыс с хроническим поражением печени в раннем постнатальном периоде / О.В. Николина Г.В. Брюхин // Сб.: К 100-летию со дня рождения профессора В.Г. Елисеева. – М., 1999. – С. 134–135.

180. Новиков, Д.К. Клиническая аллергология: Справ. пособие / Д.К. Новиков. – Мин.: Выш. шк. 1991. – 511 с.

181. Новицкий, В.В. Мононуклеарные клетки периферической крови у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым

туберкулезом легких / В.В. Новицкий, О.И. Уразова, А.К. Стрелис и др. // Вестник Российской АМН. – 2006. – №2. – С. 30-35.

182. Овчинникова, Е.А. О развитии тяжелых токсико-аллергических реакций лекарственного происхождения / Е.А. Овчинникова, Л.К. Овчинникова, А.В. Ушкалова // Фарматека. – 2002. – №2-3. – С. 7-8

183. Оковитый, С.В. Клиническая фармакология гепатопротекторов : монография / С. В. Оковитый, С. Н. Шуленин. – СПб., 2006. – 80 с.

184. Онучина, Е.В. Лекарственные поражения печени / Е.В. Онучина, А.А. Рожанский, Р.В. Казакова и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – №3. – С. 88-90

185. Павлов, Р.В. Особенности популяционного состава и функциональной активности клеток перитонеальной жидкости у женщин с наружным генитальным эндометриозом / Р.В. Павлов, С.А. Сельков // Журналъ акушерства и женскихъ болѢзней. – 2008. – №3. – С. 67-71.

186. Павлов, Ч.С. Неалкогольная жировая болезнь печени в клинике внутренних болезней / Ч.С. Павлов, Д.В. Глушенков, М.А. Буличенко и др. // Русский медицинский журнал. – 2010. – Т.18, №28. – С. 1742-1748.

187. Парохонский, А.П. Ферментативная активность нейтрофильных лейкоцитов при хронических заболеваниях печени / А.П. Парохонский // Фундаментальные исследования. – 2005. – №5. – С. 79-80.

188. Пауков, В.С. Роль макрофагов в патогенезе ограниченного воспаления / В.С. Пауков, С.А. Даабуль, Н.Ю. Беляева // Архив патологии. – 2005. – Т. 67, №4. – С. 3-10.

189. Пашнина, Е.Н. Показатели гуморального иммунитета у потомства самок крыс с аутоиммунным поражением печени / Е.Н. Пашнина, Е.В. Евченко // Гистологическая наука России в начале XXI века: итоги, задачи, перспективы. – М.: Изд-во РУДН, 2003. – С. 59–60.

190. Пентюк, А.А. Поражение печени ксенобиотиками/ А.А. Пентюк, Л.В. Мороз, О.В. Паламарчук // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – №2. – С. 8-16.

191. Перова, М.Д. Открытие нейтрофильных внеклеточных ловушек – новый этап в изучении морфогенеза и функций нейтрофилов / М.Д. Перова, М.Г. Шубич // Морфология. – 2011. – №3. – С. 89-96.

192. Пинегин, Б.В. Макрофаги: свойства и функции / Б.В. Пинегин, М.И. Карсонова // Иммунология. – 2009. – №4. – С. 241-249.

193. Плеханова, Е.В. Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек в условиях гипокинетического стресса / Е.В. Плеханова, И.И. Долгушин, В.Э. Цейликман и др. // Медицинский академический журнал. – 2012. – Том 12, №3. – С. 90-92.

194. Плехова, Н.Г. Изменение метаболической активности макрофагов под влиянием вируса клещевого энцефалита / Н.Г. Плехова, Л.М. Сомова, Е.И. Дробот и др. // Биохимия. – 2007. – Том 72, вып. 2. – С. 236-246.

195. Плехова, Н.Г. Метаболическая активность макрофагов, зараженных Hantaviruses – возбудителями геморрагической лихорадки с почечным синдромом / Н.Г. Плехова, Л.М. Сомова, Р.А. Слонова и др. // Биохимия. – 2005. – Том 70, вып. 9. – С. 1198-1208.

196. Подымова С.Д. Хронический гепатит / С.Д. Подымова. – М.: Медицина, 1975. – 279 с.

197. Подымова С.Д. Болезни печени. Руководство для врачей. – 2-е изд., перераб. и доп. / С.Д. Подымова. – М.: Медицина, 1993. – 544 с.

198. Подымова, С.Д. Жировой гепатоз, неалкогольный стеатогепатит. Клинико-морфологические особенности. Прогноз. Лечение. / С.Д. Подымова // Русский медицинский журнал. – 2005. – Том 7, №2. – С. 61-66.

199. Покровский, А.А. Лизосомы / А.А. Покровский, В.А. Тутельян. – М.: Наука, 1976. – 382 с.

200. Полунина, Т.Е. Гепатотоксический эффект нестероидных противовоспалительных препаратов / Т.Е. Полунина, А.П. Васильев, В.И. Фомичев // Терапевтический архив. – 1994. – №5. – С. 79-80.

201. Полунина, Т.Е. Лекарственные поражения печени / Т.Е. Полунина // Лечащий врач. – 2005. – №3. – С. 69-72.

202. Полунина, Т.Е. Лекарственные поражения печени: патогенез, диагностика, лечение / Т.Е. Полунина // Фарматека. – 2006. – №6. – С. 51-55.

203. Попова, Е.Н. Лекарственно-индуцированные поражения легких / Е.Н. Попова // Пульмонология и аллергология. – 2007. – №2. – С. 3-6.

204. Попова, Е.Н. Идиопатический фиброзирующий альвеолит и интерстициальные пневмонии / Е.Н. Попова // Клиническая медицина. Научно-практический журнал. – 2005. – №6. – С. 21-27

205. Постников, С.С. Пневмотоксичность лекарственных средств / С.С. Постников, А.Н. Грацианская, М.Н. Костылева // Практика педиатра. – 2013. – С.56-62.

206. Постников, С.С. Лекарственные болезни печени / С.С. Постников, А.Н. Грацианская, М.Н. Костылева и др. // Педиатрия. – 2012. – Том 91, №4. – С. 126-131.

207. Пухальский, А.Л. Иммунологические нарушения и когнитивный дефицит при стрессе и физиологическом старении. Часть I: патогенез и факторы риска / А.Л. Пухальский, Г.В.Шмарина, А.В. Алешкин // Вестник РАМН. – 2014. – №5-6. – С. 14-22.

208. Пухлик, Б.М. Лекарственная аллергия и побочные эффекты лекарственных средств в аллергологии / Б.М. Пухлик, А.П. Викторов, С.В. Зайков. – Львів: Медицина світу. – 2008. – 107 с.

209. Пшенникова, М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии (продолжение) / М.Г. Пшенникова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2000. – №3. – С. 20-26.

210. Радзинский, В.Е Полипрагмазия при лечении беременных женщин / В.Е. Радзинский, Г.Ф. Тотчиев // Фарматека. – 2011. – №13. – С. 10-11.

211. Радзинский, В.Е. Фармакотерапия беременных: простые правила современности / В.Е. Радзинский, Г.Ф. Тотчиев, А.Е. Панов и др. // Фарматека. – 2013. – №3. – С.77-79.

212. Резников, А.Г. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология / А.Г. Резников, В.П. Пишак, Н.Д. Носенко и др. – Черновцы: Медакадемія, 2004. – 351 с.

213. Рекалова, Е.М. Иммунопатогенез хронического обструктивного заболевания легких / Е.М. Рекалова // Український пульмонологічний журнал. – 2012. – №2. – С. 35-37.

214. Римашевская, Н.М. Социально – экономические и демографические проблемы современной России / Н.М. Римашевская // Вестник Российской Академии наук. – 2004. – Том 74, №3. – С. 209-218.

215. Римашевская Н.М. Социальный вектор развития России / Н.М. Римашевская // Народонаселение. – 2004. – №1. – С. 5-21.

216. Романов, А.С. Характеристика миграционной активности сперматозоидов потомства самок крыс с экспериментальным хроническим поражением печени / А.С. Романов // Вестник Челябинского государственного университета. – 2008. – № 4. – С. 84–87.

217. Романов, Б.К. Лекарственная регуляция активности лизосомальных ферментов / Б.К. Романов // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2003. – №1-2. – С. 75-82.

218. Романова, Н.В. Продукция активных форм кислорода циркулирующими фагоцитами и суставной синдром при системной красной волчанке / Н.В. Романова // Успехи современного естествознания. – 2005. – №3. – С. 116.

219. Романова, Н.В. Функциональные свойства циркулирующих фагоцитов при различных формах красной волчанки / Н.В. Романова, Н.П. Шилкина, М.Н. Семичева // Иммунология. – 2005. – №3. – С. 172-175.

220. Ромашкина, М.В. Влияние перекиси водорода и стауроспорина на гибель моноцитов / макрофагов периферической крови доноров и больных раком молочной железы / М.В. Ромашкина, В.А. Трофимов // Морфологические ведомости. – 2008. – №3-4. – С. 201-204.

221. Рудик, Д.В. Оценка функционально-метаболического статуса фагоцитирующих клеток под действием низкоинтенсивного лазерного излучения ИК – диапазона (850 нм) / Д.В. Рудик, Е.С. Тучина, Е.И. Тихомирова и др. // Фундаментальные исследования. – 2006. – №5. – С. 100-101.

222. Рулева, Н.Ю. Миелопероксидаза: биологическая роль и клиническое значение / Н.Ю. Рулева, М.А. Звягинцева, С.Ф. Дугин // Современные наукоемкие технологии. – 2007. – №8. – С. 7-11

223. Рязанцева, Л.Т. Миелопероксидаза: структурно-функциональные модификации и роль субъединичных контактов / Л.Т. Рязанцева // Вестник Воронежского государственного технического университета. – 2009. – Том 5, №9. – С. 85-88.

224. Савочкина, А.Ю. Автореф. дисс. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, методы обнаружения, биологическая роль. – Челябинск. – 2012.

225. Савченков, Ю.И. Очерки физиологии и морфологии функциональной системы мать – плод / И.Ю. Савченков, К.С. Лобынцев. – М.: Медицина, 1980. – 254 с.

226. Самсонов, А.В. Функциональное состояние легочных макрофагов у экспериментальных животных после применения общей гипертермии / А.В. Самсонов, Н.В. Долотина // Бюллетень СО РАМН. – 2011. – Том 31, №1. – С. 5-8.

227. Самсыгина, Г.А. Влияние терапии рулидом на функции фагоцитов периферической крови / Г.А. Самсыгина, Т.М. Бородина, И.Б. Левшин // Педиатрия. – 1998. – №2. – С. 71-73.

228. Саутін, Ю.Ю Системи внутрішньоклітинного перенесення сигналу АКТГ та іх взаємодія / Ю.Ю. Саутін // Ендокринологія. – 1997. – №1. – С. 80-91

229. Сафронов, В.В. Роль социальных и медико-биологических факторов в формировании здоровья новорожденных различного гестационного возраста / В.В. Сафронов, Э.М. Шакирова // Практическая медицина. – 2010. – №45. – С. 113-117.

230. Серов, В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / В.В. Серов, К. Лапиш. – М.: Медицина, 1989. – 336 С.

231. Серышева, О.Ю. Морфофункциональная характеристика эпителия крипт двенадцатиперстной кишки у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени / О.Ю. Серышева, Г.В. Брюхин // Морфология. – 2013. – Т. 144, № 4. – С. 36–40.

232. Сизоненко, М.Л. Влияние хронической патологии печени матери на эндокринную функцию мужских половых желез потомства / М.Л. Сизоненко, Г.В. Брюхин // Проблемы репродукции. – 2008. – № 2. – С. 45–47.

233. Сизоненко, М.Л. Становление генеративной функции семенников потомства самок крыс с хроническим поражением печени / М.Л. Сизоненко, Г.В. Брюхин // Проблемы репродукции. – 2009. – № 1. – С. 16–19.

234. Сизоненко, М.Л. Особенности становления эндокринного компармента мужских половых желез потомства самок крыс с хроническим лекарственным поражением гепатобилиарной системы / М.Л. Сизоненко, Г.В. Брюхин // Проблемы репродукции. – 2012. – №1. – С. 31-34.

235. Сизоненко, М.Л. Морфофункциональная характеристика сперматогенного пласта у потомства самок крыс с хроническим экспериментальным лекарственным поражением печени / М.Л. Сизоненко, Г.В. Брюхин // Проблемы репродукции. – 2012. – №4. – С. 12-15.

236. Сизоненко, М.Л. Особенности морфофункционального становления генеративного и эндокринного компартментов яичек новорожденного потомства самок крыс с хроническим поражением печени лекарственного генеза / М.Л. Сизоненко, Г.В. Брюхин // Морфология. – 2013. – №5. – С.113.

237. Скакун, Н.П. Влияние антибиотиков тетрациклинового ряда на желчеобразовательную функцию печени / Н.П. Скакун // Антибиотики. – 1982. – №3. – С.16-20.

238. Смирнова, Т.Г. Автореф. дисс. Влияние женских половых стероидных гормонов на механизмы внутри- и внеклеточной бактерицидности фагоцитирующих клеток. – Челябинск. – 2013.

239. Солошенко, Э.Н. Лекарственная болезнь в проблеме побочного действия лекарственных средств: современное состояние. Дискуссионные вопросы диагностики и лечения / Э.Н. Солошенко // Международный медицинский журнал. – 2012. – №3. – С. 80-88.

240. Солошенко, Э.Н. Современное состояние проблемы лекарственной болезни. Новые технологии диагностики, терапии, профилактики, реабилитации / Э.Н. Солошенко // Вісн. Харк. нац. ун-та. – 2002. – №(3)545. – С. 125-132

241. Солянникова, Д.Р. Характеристика парафолликулярных клеток щитовидной железы потомства самок крыс с хроническим экспериментальным поражением печени в различные сроки постнатального онтогенеза / Д.Р. Солянникова, Г.В. Брюхин // Морфология. – 2013. – Т. 143, № 2. – С. 47–50.

242. Сомова, Л.М. Кислородзависимая и нитроксидзависимая ферментные системы макрофагов при стафилококковой и листериозной инфекциях / Л.М. Сомова, Н.Г. Плехова, Ю.Н. Гончарук // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2006. – №53. – С. 39-43.

243. Стародубов, В.И. Репродуктивные проблемы демографического развития России / В.И. Стародубов, Л.П. Суханова. – М.: ИД «Менеджер здравоохранения», 2012. – 320 с.

244. Степанов, А.В. Влияние синтетических пептидов сумки Фабрициуса на функциональную активность макрофагов / А.В. Степанов, В.Л. Цепелев // Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – №2. – С. 44-47.

245. Стриженок, Е.А. Применение лекарственных средств при беременности: результаты многоцентрового фармакоэпидемиологического исследования / Е.А. Стриженок, И.В. Гудков, Л.С. Страчунский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия – 2007. – Том 9, №2. – С. 162-175.

246. Сурина-Марышева, Е.Ф. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов при иммобилизационном стрессе / Е.Ф. Сурина-Марышева // Вестник ЮУрГУ. Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура» – 2008. – вып. 14, №4. – С. 86-87.

247. Сурков, А.Н. Гликогеновая болезнь у детей: современные представления (часть I) / А.Н. Сурков // Вопросы современной педиатрии. – 2012. – Том 11, №2. – С. 30-42.

248. Суханов, Д.С. Гепатопротекторная терапия лекарственных поражений печени при туберкулезе органов дыхания: Информационно-методическое письмо / Д.С. Суханов, А.К. Иванов: СПб., 2010. – 48 с.

249. Тареев, Е.М. Большая лекарственная болезнь / Е.М. Тареев, О.М. Виноградова, Е.Н. Семенкова // Терапевтический архив. – 1975. – №4. – С. 5-14.

250. Тареева, Е.И. Нефрология: руководство для врачей / Е.И. Тареева. – М.: Медицина, 2000

251. Тихомирова, Е.И. Участие лектина Paenibacillus Polymyxa в процессах киллинга бактерий в макрофагах / Е.И. Тихомирова, Л.В. Карпухина, О.В. Абросимова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2008. – №6. – С. 82-84.

252. Томова, Т.А. Влияние иммобилизации на показатели стресс-реакции у крыс и собак / Т.А. Томова, Е.Ю. Просекина, Т.А. Замощина и др. // Вестник Томского государственного университета. – 2014. – №1(25). – С. 183-198.

253. Третьякова, И.Е. Влияние секреторных продуктов нейтрофилов на функции клеток перитонеального экссудата в динамике воспаления различной этиологии / И.Е. Третьякова, И.И. Долгушин, А.В. Зурочка и др. // Медицинская иммунология. – 2003. – №5-6. – С. 615-620.

254. Турицына, Е.Г. Оценка метаболической активности лейкоцитов птиц в постнатальном онтогенезе и при вирусных антигенных воздействиях / Е.Г. Турицына // Аграрный вестник Урала. – 2009. – №7(61). – С. 76-79.

255. Удут, В.В. Влияние гепатопротекторов фосфолипидной природы на биоэнергетику и перекисное окисление липидов печени при экспериментальной патологии, вызванной парацетамолом / В.В. Удут, А.И. Венгеровский, Д.А. Коршунов и др. // Биомедицина. – 2012. – №1. – С. 120-127.

256. Ушакова, Е.А. Взаимодействие лекарственных средств с грейпфрутовым соком / Е.А. Ушакова // Фарматека. – 2001. – №8. – С. 58-62.

257. Ушкалова, Е.А. Лекарственные поражения печени и регуляторные решения / Е.А. Ушкалова, Э.А. Коровякова // Русский медицинский журнал. – 2012. – №1. – С.18-23.

258. Ушкалова, Е.А. Проблемы безопасности применения лекарственных средств во время беременности и кормления грудью / Е.А. Ушкалова, О.Н. Ткачева, Н.А. Чухарева // Акушерство и гинекология. – 2011. – №2. – С. 4-7.

259. Федорова, О.И. Диагностическое значение компьютерной морфометрии моноцитов периферической крови у больных пневмонией различного возраста / О.И. Федорова, И.Л. Давыдкин, А.М. Осадчук // Медицинский альманах. – 2011. – №5(18). – С. 276-278.

260. Федосов, А.А. Характер популяционных изменений лимфоцитов периферической крови при экспериментальном поражении гепатобилиарной системы различной этиологии / А.А. Федосов, С.В. Барышева // Актуальные проблемы патофизиологии: сб. – СПб, 2001. – С.55–57.

261. Федотова, Г.Г. Кооперативное взаимодействие различных клеточных элементов при фагоцитозе / Г.Г. Федотова // Морфологические ведомости. – 2006. – №3-4. – 61-63.

262. Фещенко, Ю.И. Особенности иммунологической реактивности у взрослых с пневмоцистозом на фоне хронических неспецифических заболеваний легких / Ю.И. Фещенко, Е.М. Рекалова, Е.Ф. Чернушенко и др. // Український пульмонологічний журнал. – 2002. – №4. – С. 42-46.

263. Филипенко, П.С. Влияние биологически активных веществ на лизосомы поджелудочной железы / П.С. Филипенко, Г.С. Ивченко, Н.П. Филипенко // Успехи современного естествознания. – 2009. – №7. – С. 99-101.

264. Филоненко, Т.Г. Локализация макрофагов при фиброзно – кавернозном туберкулезе с активным бактериовыделением / Т.Г. Филоненко // Патологія. – 2011. – Том 8, №1. – С. 45-48.

265. Фирсова, В.Г. Деструктивный панкреатит: механизмы гибели клетки и их возможное клиническое значение / В.Г. Фирсова, В.В. Паршиков // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2013. – Т.6, №1. – С. 100-106

266. Фрейдлин, И.С. Некоторые морфологические и функциональные характеристики моноцитов периферической крови человека, культивируемых in vitro / И.С. Фрейдлин, С.В. Немировский, Т.А. Рудакова // Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях: тез. докл. – Омск. – 1976. – Вып. 4. – С. 13-14.

267. Фрейдлин, И.С. Некоторые проявления иммунотропной активности панадола / И.С.Фрейдлин, П.Г.Назаров, Р.П.Огурцов, А.В.Полевщиков // Клиническая фармакология и терапия. – 1996. – Том 5, №3. – С.42-46.

268. Фрейдлин, И.С. Неспецифическая активация клеток мононуклеарной фагоцитирующей системы препаратами ЛПС и полисахаридов микробного происхождения / И.С. Фрейдлин, М.А. Кошкина, Т.С. Забелина и др. // Актуальные вопросы иммунологии. – 1981. – Том 1. – С. 139-140.

269. Фримель Г. Иммунологические методы: Пер. с нем. / Г. Фримель. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.

270. Фролова, О.Г. Основные показатели деятельности акушерско-гинекологической службы и репродуктивного здоровья / О.Г. Фролова, З.З. Токова // Акушерство и гинекология. – 2005. - № 1. - С. 3-6.

271. Хаитов, Р.М. Иммунитет и стресс / Р.М. Хаитов, В.П. Лесков // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2001. – Том 87, №8. – С. 1060-1071

272. Хаитов, Р.М. Современные представления о защите организма от инфекции / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2000. – №1. – С. 61-64.

273. Харин, Г.М. Характер и механизмы нарушения функциональной активности печеночных макрофагов после экстремальных воздействий на организм / Г.М. Харин // Казанский медицинский журнал. – 1994. – №3. – С. 199-202.

274. Хейфец, Л.Б. Разделение форменных элементов крови человека градиенте плотности верографин-фиколл / Л.Б. Хейфец, В.А. Абалакина // Лабораторное Дело. – 1973. – №10. – С. 579-581.

275. Хейхоу, Ф.Г.Дж. Гематологическая цитохимия / Ф.Г.Дж. Хейхоу, Д. Кваглино. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.

276. Хидирова, Л.Д. Особенности активации лизосомального аппарата и нарушения обмена микроэлементов при экспериментальном повреждении миокарда / Л.Д. Хидирова, Н.Н. Маянская // Фундаментальные исследования. – 2012. – №5. – С. 130-132.

277. Хирц, Ж. Аналитические методы исследования метаболитов лекарственных веществ: Пер. с франц.- М.: Медицина, 1975.- С.39-40.

278. Храмова, И.А. Адгезивные и поглотительные свойства макрофагов в норме, при острой и хронической патологии у женщин репродуктивного возраста / И.А. Храмова, И.П. Кольцов, Т.К. Бурлова и др. // Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – №1. – С. 29-31.

279. Хулуп, Г.Я. Стркутурные повреждения кардиомиоцитов в условиях иммобилизационного стресса / Г.Я. Хулуп, Т.Э. Владимирская, И.А. Швед // Здравоохранение. – 2005. – №9. – С. 9-11.

280. Цаплина, О.А. Фагоцитоз патогенных бактерий: модификация клеточных процессов бактериальными эффекторами / О.А. Цаплина // Цитология. – 2013. – Том 55, № 2. – С. 83-91.

281. Черенова, В.К. Ферментативная активность нейтрофилов и моноцитов крови у больных хроническим гепатитом с наркотической зависимостью при различных видах терапии / В.К. Черенова, Х.М. Галимзянов, В.А. Кудрявцев и др. // Астраханский медицинский журнал. – 2010. – Том 5, №1. – С. 100-106.

282. Чкадуа, Г.З. Адаптирование методики культивирования дендритных клеток человека из моноцитов периферической крови для клинического применения / Г.З. Чкадуа, Т.Н. Заботина, А.А. Буркова и др. // Российский биотерапевтический журнал – 2002. – №3. – С. 56-62.

283. Шаврина, Е.Ю. Влияние патологии гепатобилиарной системы матери на реактивность мононуклеарных фагоцитов различных компартментов у потомства / Е.Ю. Шаврина // Фундаментальные исследования. – 2011. – №12. – С. 716-722.

284. Шаврина, Е.Ю. Сравнительная характеристика цитохимического состояния перитонеальных и альвеолярных макрофагов потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени / Е.Ю. Шаврина, Г.В. Брюхин // Вестник ЮУрГУ. – 2012. – №28(287). – С. 85-88.

285. Шарапова, О.В. Проблемы совершенствования охраны материнства и детства РФ / О.В. Шарапова, И.С. Цыбульская. – Стратегия реформирования регионального здравоохранения. Материалы ежегодной Российской научно – практической конференции «Реформа здравоохранения на региональном уровне». – М., 2000. – С. 36-40.

286. Шаронов, А.С. Сравнительная оценка адгезивных свойств перитонеальных макрофагов крыс и состояние стабильности их лизосомных

мембран при прикреплении к пластику и стеклу / А.С. Шаронов, И.А. Храмова, Е.А. Мальцева // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2005. – №1. – С. 87-88.

287. Шаронов, Б.П. Окислительное повреждение мембран E. coli, вызываемое супероксидными радикалами / Б.П. Шаронов, Л.Д. Кондратьева // Биохимия. – 1991. – №56, Вып. 4. – С. 621-627

288. Шатров, В.А. Влияние мирамистина на поглотительную и НСТ-восстанавливающую способность мышиных макрофагов селезенки / В.А. Шатров // Иммунология. – 1992. – №2. – С. 14-15.

289. Шевляева, М.А. Кислородзависимые механизмы микробоцидной системы нейтрофилов в прогнозировании течения острого панкреатита / М.А. Шевляева, Г.К. Карипиди, С.В. Авакимян и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – №4(86). Часть 1. – С. 148-151.

290. Шевченко, Н.И. Влияние антимикробного пептида индолицидин на функциональную активность макрофагов кожи при термических ожогах кожи / Н.И. Шевченко, Ю.Д. Ляшев, В.Н. Мишустин // Медицинский академический журнал. – 2012. – Том 12, №3. – С. 96-98.

291. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок, Д. Дули. – М., ГЭОТАР «Медицина», 1999. – 864 с.

292. Шефер, Е.Г. Изменение иммуноархитектоники периферических лимфоидных органов в постстрессовом периоде / Е.Г. Шефер // Вестник ВолгГМУ. – 2011. – Вып. 2(38). – С. 103-106.

293. Шехтман, М.М. Руководство по экстрагенитальной патологии у беременных / М. М. Шехтман. - М.: Триада - Х, 2003. – 816 с.

294. Шилов, Ю.И. Адренергические механизмы регуляции фагоцитарной активности нейтрофилов, моноцитов и эозинофилов периферической крови крыс приостром стрессе / Ю.И. Шилов, Е.Г. Орлова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – Том 129, №5. – С. 563-566.

295. Шкурупий, В.А. Функциональное состояние макрофагов легких после частичной гепатэктомии у мышей / В.А. Шкурупий, Д.Д. Цырендоржиев, С.С.

Сапарбаев и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – №1. – С. 109-112.

296. Шулутко, Б.И. Болезни печени и почек / Б.И. Шулутко. – СПб.: Издательство РЕНКОР, 1995. – 480 с.

297. Шульпекова, Ю.О. Лекарственные поражения печени / Ю.О. Шульпекова // Гастроэнтерология. Приложение Consilium medicum. – 2007. – №1. – С. 16-22.

298. Щекатихина, А.С. Гепатопротекторные свойства фловолигнанов / А.С. Щекатихина // Труды Белорусского государственного университета. Серия: физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем – 2009. – Том 4, Ч.1. – С. 27-48.

299. Шилов, Ю.И. Адренергические механизмы регуляции функции фагоцитирующих клеток периферической крови крыс при остром стрессе / Ю.И. Шилов, Е.Г. Орлова // Медицинская иммунология. – 2002. – Том 4, №1. – С. 29-36.

300. Щуковский, Н.В. Состояние лизосомального аппарата лейкоцитов цельной крови и популяции лимфоцитов у больных с цереброваскулярной патологией по данным проточной цитометрии / Н.В. Щуковский, И.И. Шоломов, Ю.Ю. Елисеев и др. // Иммунология. – 2006. – №2. – С. 112-114.

301. Юхновец, А.А. Цитохимические показатели лейкоцитов периферической крови при заболеваниях щитовидной железы / А.А. Юхновец // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2003. – Том 2, №3. – С. 71-78.

302. Ancuta, P. Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of $CD16^{+}$ monocytes / P. Ancuta, R. Rao, A. Moses et al. // J. Exp. Med. – 2003. – Vol. 12. – P. 1701-1707.

303. Anderson, D.C. Leukocyte adhesion deficiency: an inherited defeat in the Mac-1, LFA-1 and p-150, 95 glycoproteins / D.C. Anderson // Annu Rev Med. – Vol. 38. – P. 175-194.

304. Baker, V. Cytokine associated neutrophil extracellular traps and antinuclear antibodies in Plasmodium falciparum infected children under six years of age / V. Baker, G. Imade, N. Molta et al. // Malaria Journal. – 2008. – Vol.7(1). – P. 41.

305. Bals, R. Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens / R. Bals, P.S. Hiemstra // Eur. Respir. J. – 2004. – Vol. 23. – P. 327-333.

306. Bassoe, C.F. Concurrent measurement of antigen- and antibody-dependent oxidative burst and phagocytosis in monocytes and neutrophils / C.F. Bassoe, I. Smith, S. Sornes et al. // Methods. – 2000. – Vol. 22. – P. 202-220.

307. Bearman S.I. Veno-occlusive disease of the liver / S.I. Bearman // Curr. Opin. Oncol. – 2000. – Vol. 12. – №2. – P. 103-109.

308. Bennet, W.M. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs / W.M. Bennet, E.A. Burdmann, T.E. Andor // Nephrol. Dial. Transplant. – 1994. – Vol.9. – P. 1083.

309. Bershadsky, A. Adhesion-mediated mechanosensitivity a time to experiment and a time to theorize / A. Bershadsky, M. Kozlov, B. Geiger // Curr. Opin Cell Biol. – Vol. 18. – P. 472–481.

310. Bjornsson, E. Fulminant drug-induced hepatic failure leading to death or liver transplantation in Sweden / E. Bjornsson, P. Jerlstad, A. Bergqvist et al. // Scandinavian journal of gastroenterology. – 2005. – Vol. 40. – P. 1095-1101.

311. Bogić, M. Liver damage caused by sensitivity to anti-inflammatory agents / M. Bogić, J. Sojić, J. Balaban et al. // Srpski Arkh. tselok. lek. – 1997. – Vol. 125. – № 9-10. – P. 291-294.

312. Bouwens, L. Quantitation, tissue distribution and proliferation kinetics of Kupffer cells in normal rat liver / L. Bouwens // Hepathology. – 1986. – №6. – P. 718-722.

313. Brinkmann, V. Beneficial suicide: why neutrophils die to, make NETs / V. Brinkmann, A. Zychlinsky // Nature Rev. – 2007. – Vol. 5. – P. 577-582.

314. Brinkmann, V. Neutrophil extracellular traps kill bacteria / Brinkmann V., Reichard U., Goosman C. et al. // 2004. – Science. – Vol. 303. – №56(63). – P. 1532-1535.

315. Brunk, U. The potential intermediate role of lysosomes in oxygen free radical pathology / U. Brunk, E. Gadenas // APMIS. – 1988. – Vol. 96(1). – P. 3-13.

316. Buchanan, J. T. DNase Expression Allows the Pathogen Group A Streptococcus to Escape Killing in Neutrophil Extracellular Traps / J.T. Buchanan, A.J. Simpson, R.K. Aziz et al. // Current Biology 2006. – Vol.16(4). – P. 396-400.

317. Cairo, G. Control of iron homeostasis as a key component of macrophage polarization / G. Cairo, M. Locati, A. Mantovani // Haemotologica. – 2010. – Vol. 95, Issue 11. – P. 1801-1803.

318. Camus, P. Interstitial lung disease induced by drugs and radiation / P. Camus, A. Fanton, P. Bonniaud // Respiration. – 2004. – Vol. 71. – P. 301-326.

319. Capo, C. Effect of cytotoxic necrotizing factor – 1 on actin cytoskeleton in human monocytes: role in the regulation of integrin-dependent phagocytosis / C. Capo, S. Meconi, M.V. Sanguedolce et al. // Journal Immunol. – 1998. – Vol. 161. – P. 4301-4308.

320. Cerone, S. Bovine monocyte-derived macrophage function in induced cooper deficiency / S. Cerone, A. Sansinanea, S. Streitenberger et al. // Gen. Physiol. Biophys. – 2000. – Vol. 19. – P. 49-58.

321. Chalasani, N. Risk factors for idiosyncratic drug-induced liver injury / N. Chalasani, E. Björnsson // Gastroenterology. – 2010. – Vol. 138. – I. 7. – P. 2246-2259.

322. Chalasani, N. Results of prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States / N. Chalasani, R.J. Fontana, F.V. Shiodt et al. // Gastroenterology. – 2008. – Vol. 135. – P. 1924-1934.

323. Chang, C.Y. Review article: drug hepatotoxicity / C.Y. Chang, T.D. Schiano // Alimentary pharmacology & therapeutics. – 2007. – Vol 25(10). – P. 1135-1151.

324. Chen, H. Severe liver disease in pregnancy / H. Chen, L. Yuan, J. Tan et al. // Int. J. Gynaecol. Obstet. – 2008. – Vol. 101(3). – P. 277-280.

325. Clark, S.R. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. / S.R. Clark, A.C. Ma, S.A. Tavener et al. // Nat Med. – 2007. – Vol. 13(4). –P. 463-469.

326. Cohen, S. D. Selective protein arylation and acetaminophen-induced hepatotoxicity / S. D. Cohen, Khairallah E.A. // Drug Metab. Rev. – 1997. – Vol. 29. - №1-2. – P. 59-77.

327. Cools-Lartigue, J. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis / J. Cools-Lartigue, J. Spicer, B. McDonald et al. // J Clin Invest. – 2013. – Vol. 123(8). – P. 3446-3458.

328. Cossart, P. Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens / P. Cossart, P.J. Sansonetti // Science. – 2004. – Vol. 304. – P. 242-248.

329. Coste, A. A sub – inhibitory concentration of amphotericin B enchances candidastatic activity of interferon-gamma- and interleukin-13 treated murine peritoneal macrophages / A. Coste, M.D. Linas, S. Cassaing et al. // J. Antimicrob. Chemother. – 2002. – Vol. 49. – №5. – P. 731-740.

330. Crofton, R.W. The origin, kinetics and characteristics of the Kupffer cells in the normal steady state / R.W. Crofton, D. Disselhoff, R. Van Furth // Journal Exp. Med. – 1978. – V. 148. – P. 1-17.

331. Danilenko, D.M. Growth factors in porcine full and partial thickness burn repair / D.M. Danilenko, B.D. Ring, J.Z. Lu et all. // An. J. Pathol. – 1995. – №5. – P. 842-851.

332. Degenhardt, K. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis / K. Degenhardt, R. Mathew, B. Beaudoin et al. // Cancer Cell. – 2006. – Vol. 10. – P. 51-64.

333. Dehay, B. Pathogenic lysosomal depletion in Parkinson´s desease / B. Dehay, J. Bove, N. Rodriguez-Muela et al. // Neurosci. – 2010. – Vol. 30. – P. 12535-12544.

334. DeSanty, K.P. Antidepressant-Induced liver injury / K.P. DeSanty, C.M. Amabile // The Annals of Pharmacotherapy. – 2007. – Vol. 41. – P. 1201-1211.

335. Edwards, M.J. Apoptosis, the heat shock response, hyperthermia, birth defects, disease and cancer. Where are the common links / M.J. Edwards // Cell. Stress. Chaperones. – 1998. – Vol. 3. – P. 213-220

336. Erlinger, S. Drug-induced cholestasis / S. Erlinger // J. Hepatol. – 1997. – Vol. 26. – P. 1-4.

337. Faioni, E. Veno-occlusive disease of the liver after bone marrow transplantation: the role of hemostasis / E. Faioni, P. Mannucci // Leuk. Lymphoma. – 1997. – Vol. 25. – №3-4. – P. 233-245.

338. Fazal, N. The role of reactive oxygen species (ROS) in the effector mechanisms of human antymicobacterial immunity / N. Fazal // Biochem Mol Biol Int. – 1997. – Vol. 43. – P. 399-408.

339. Fuchs, T. Novel cell death leads to neutrophil extracellular traps / T. Fuchs, U. Abed, C. Goosmann et. al. // J Cell Biol. – 2007. – Vol. 176(2). – P. 231-241.

340. Gao, B. Liver: An organ with predominant innate immunity / B. Gao W. Jeong, Z. Tian // Hepathology. – 2008. – Vol. 47. – P. 729-736.

341. Ghosh, A. Protection of acetaminophen induced mitochondrial dysfunctions and hepatic necrosis via Akt-NF-kappaB pathway: role of a novel protein / A. Ghosh, P. Sil // Chem. Biol. Interact. – 2009. – Vol. 177. – P. 96-106.

342. Guengerich, F.P. Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity / F.P. Guengerich // Chem Res Toxicol. – 2001. – Vol. 14. – P. 611.

343. Guimaraes, A. B. Leishmania amazonensis promastigotes induce and are killed by neutrophil extracellular traps / A.B. Guimaraes, M.T. Nascimento, G.S. Froment et al. // PNAS. – 2009. – Vol. 106(16). – P. 6748-6753.

344. Gupta, A.K. Induction of neutrophil extracellular DNA lattices by placental microparticles and IL_8 and their presence in preeclampsia / A.K. Gupta, P. Hasler, W. Holzgreve et al. // Hum. Immunol. – 2005. – Vol. 66(l). – P. 1146-1154.

345. Hall, A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton / A. Hall // Science. – 1998. – Vol. 279. – P. 509-514.

346. Hay, J.E. Liver disease in pregnancy / J.E. Hay // Hepatology. – 2008. – № 47(3). – P. 1067-1076.

347. Hegedus, G. Pathology of alcoholic liver disease / G. Hegedus // Orv. Hetil. – 2000. – Vol. 13. – №141(7). – P. 331-336.

348. Hellenbrand, K.M. Histophilus somni causes extracellular trap formation by bovine neutrophils and macrophages / K.M. Hellenbrand, K.M. Forsythe, J.J. Rivera-Rivas et al. // Microbial Pathogenesis. – 2013. – Vol. 54. – P. 67-75.

349. Holmes, J.A. Absorbtion and metabolism of acetaminophen by the in situ perfused rat small / J.A. Holmes, D. Jacobson // Lancet. – 1986. – Vol. 84. – P. 804-805.

350. Holt, M.P. Mechanisms of drug-induced liver injury / M.P. Holt, C. Ju // AAPS J. – 2006. – Vol. 8. – №1. – P. 48-54.

351. Hoofnagle, J.H. Drug-induced liver injury network (DILIN) / J.N. Hoofnagle // Hepatology. – 2004. – Vol. 40. – P. 773.

352. Jaeschke, H. Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen-induced liver cell death / H. Jaeschke, M. Bajt // Toxicol. Sci. – 2006. – V. 89. – P. 31-41.

353. Jaeschke, H. Mechanisms of hepatotoxicity / H. Jaeschke, G.L. Gores, A.I. Cederbaum // Toxicol Sci. – 2002. – Vol. 65. – P. 166-176.

354. Johnstone, R. W. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy / R.W. Johnstone, A.A. Ruefli, S.W. Lowe // Cell. – 2002. – Vol. 108. – P. 153—164.

355. Karpov, A.V. A complex interferon inducer potentiates the functional macrophage activity during staphylococcal infection / A.V. Karpov, L.F. Yakovenko // Eur J Med Res. – 2006. – Vol. 11. – P. 285-289.

356. Kashimshetty, R. Underlying mitochondrial dysfunction triggers flutamide-induced oxidative liver injury in a mouse model of idiosyncratic drug toxicity / R. Kashimshetty, V.G. Desai, V.M. Kale et al. // Toxicology and applied pharmacology. – 2009. – Vol. 15. – №238(2). – P. 150-159.

357. Kessenbrock, K. Netting neutrophils in autoimmune small vessel vasculitis / K. Kessenbrock, M. Krumbholz, U. Schonermarck et al. // Nature Medicine. – 2009. – Vol. 15(6). – P. 623-625.

358. Ke, X. Nitric oxide regulates actin reorganization through cGMF and Ca^{2+} / calmodulin in RAW 264.7 cells / X. Ke, M. Terashima, Y. Nariai et al // Biochim Biophys Acta. – 2001. – Vol. 28. – P. 101-113.

359. Khodr, B. Modulation of inflammation by reactive oxygen species: implications for aging and tissue repair / B. Khodr, Z. Khalil // Free radic. biol. med. – 2001 – Vol. 30. – № 1. – P. 1–8.

360. Khurana, S.K. Effects of lead acetate on macrophage functions in droiler chicks / S.K. Khurana, R.S. Chauhan // Indian J. Anim. Res. – 2000. – Vol. 34(1). – P. 71-72.

361. Lammert , F. Hepatic diseases caused by drugs / F. Lammert, S. Matern // Schweiz. Rundsch. Med. Prax. – 1997. – V. 86. - №29-30. – P. 1167-1171.

362. Leader, W.G. Asthma and bronchospasm in Drug-Induced Deseases: Prevention, Detection and Management. 2nd Edition, American Society of Health-System Pharmacists / W.G. Leader, B.L. Mohundro. – Bethesda, MD, 2010. – p. 378-397.

363. Lee, V.M. Zonal location of compensatory hepatocyte proliferation following chemically induced hepatotoxicity in rats and humans / V.M. Lee, R.G. Cameron, M.C. Archer // Toxicol. Pathol. – 1998. – V. 26. - №5. – P. 621-627.

364. Lessey, B.A. Adhesion molecules and implantation / B.A. Lessey // J. Reprod. Immunol. – 2002. – Vol. 55(1-2). – P. 101-112.

365. Lewis, J.N. Drug-induced liver disease / J.N. Lewis // Med Clin North. – 2000. – Vol. 84. – 1275-1311.

366. Lippolis, J. D. Neutrophil extracellular trap formation by bovine neutrophils is not inhibited by milk / J.D. Lippolis, T.A. Reinhardt, J.P. Goff et al. // Veterinary Immunology and Immunopathology. – 2006. – Vol. 113(1-2). – P. 248-255.

367. Liu, Z.X. Immune-mediated drug-induced liver disease / Z.X. Liu, N. Kaplowitz // Clin. Liver Dis. – 2002. – Vol. 6. – P. 467-486.

368. Logters, T. The clinical value of neutrophil extracellular traps / T. Logters, S. Margraf, J. Altrichter // Med Microbiol Immunol. – 2009. – Vol. l98. – P. 211-219.

369. Loh, A. Drug-induced kidney disease – pathology and and current concepts / A. Loh, A.N. Cohen // Annals Academy of Medicine. – 2009. – Vol. 38. – №3. – P. 240-250.

370. Lombard, Y. Establishment and characterization of long-term cultured cell lines of murine resident macrophages / Y. Lombard, J. Bartholeyns, M. Chokri et al. // J. Leukoc. Biol. – 1988. – Vol. 44. – №5. – P. 391-401.

371. Lucena, M.I. Phenotypic characterization of idiosyncratic drug-induced liver injury / M.I. Lucena, R.J. Andrade, N. Kaplowitz et al. // Hepatology. – 2009. – Vol. 49. – №6. – P. 2001-2009.

372. Lucena, M.I. Glutathione S-transferase m1 and t1 null genotypes increase susceptibility to idiosyncratic drug-induced liver injury / M.I. Lucena, R.G. Andrade // Hepatology. – 2008. – V. 48(2). – P. 588-596.

373. Marschall, H.U. Clinical hepatotoxicity. Regulation and treatment with inducers of transport and cofactors / H.U. Marschall, M. Wagner, G. Zollner et al. // Molecular pharmaceutics. – 2007. – №4(6). – P. 895-910.

374. Marti, A.L. Clinical evaluation of drug-induced hepatitis / A.L. Marti, J.A. Del Olmo, J. Tosca et al. // Rev. Esp. Enferm. Dig. – 2005. – V. 97. – №4. – P. 258-265.

375. Martinez-Chanter, M.L. Importance of deficiency in S-adenosyl-L-methionine systhesis in the pathogenesis of liver injury / M.L. Martinez-Chanter, E. Gareta-Trevijano, M. Latasa et al // Am J Clin Nan. – 2002. – Vol. 11. – P. 77-82.

376. McDonald, B. Intravascular neutrophil extracellular traps capture bacteria from the bloodstream during sepsis / B. McDonald, R. Urrutia, B.G. Yipp et al. // Cell Host & Microbe. – 2012. – Vol.12. – P. 324-333.

377. McGivern, R.F. Inhibition of stress-induced neuroendocrine and behavioral responses in the rat prepro-thyrotropin-releasing hormone 178-199 / R.F. McGivern, P. Rittenhouse, F. Aird et al. // J. Neurosci. – 1997. – Vol. 17. – P. 4886-4894

378. Michael, S.L. Pretreatment of mice with macrophage inactivators decreases acetaminophen hepatotoxicity and the formation of reactive oxygen and nitrogen species / S.L. Michael, N.R. Pumford, P.R. Mayeux et al. // Hepatology. – 1999. – Vol. 30. – №1. – P. 186-195.

379. Miller, R.A. Role of oxidants in microbial pathophysiology / R.A. Miller, B.E. Britigan // Clinical Microbiology Reviews. – 1997. – Vol. 10. – P. 1-18.

380. Mitsuko, T. Identification of novel adhesion proteins in mouse peritoneal macrophages / T. Mitsuko, I. Harunori // Bio Cell. – 1992. – Vol. 76. – P. 103-109.

381. Mohanan, S. Identification of macrophage extracellular trap-like structures in mammary gland adipose tissue: a preliminary study / S. Mohanan, S. Horibata, J. McElwee // Frontiers in immunology. – 2013. – Vol. 4(67). – P.1-8.

382. Myers, K.R. Regulation of actin cytoskeleton dynamics by Arf-family GTPases / K.R. Myers, J.E. Casanova // Trends Cell. Biol. – 2008. – Vol. 18. – P. 184-192.

383. Nauseef, W.M. The NADPH – dependent oxidase of phagocytes / W.M. Nauseef // Proc. Assoc. Am. Physicians. – 1999. – Vol. 111(5). – P. 373-382.

384. Navarro, V.J. Drug-related hepatotoxicity / V. J. Navarro, R. John // New Engl. J. Med. – 2006. – Vol. 354. – P. 731-739.

385. Nau, G. Human macrophage activation programs induced by bacterial pathogens / G. Nau, J. Richmond, A. Schbesinger et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99. – №3. – P. 1503-1508.

386. Nelson, S.D. Mechanisms of the formation and disposition of reactive metabolites that can cause acute liver injury / S.D. Nelson // Drug. Metab. Rev. – 1995. – Vol. 27. – №1-2. – P. 147-177.

387. Neuberger, J. Clinical aspects of oral contraceptive-associated liver tumours / J. Neuberger, M. Davis, R. Williams // Drug reactions and the liver. – 1981. – P. 271-283.

388. Nicotera, P. Regulation of the apoptosis-necrosis switch / P. Nicotera, G. Melino // Oncogene. – 2004. – Vol. 32. – P. 2757-2765.

389. Okada, H. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumor cells / H. Okada, T. W. Mak // Nat. Rev. Cancer. – 2004. – Vol. 4. – P. 592-603.

390. Ohn, A. Chow Enhance Formation of Phagocyte Extracellular Traps / A. Chow Ohn, M. von Kockritz-Blickwede, A. T. Brightetc // Cell Host &Microbe. – 2010. – Vol. 8. – P. 445- 454.

391. Oppenheim, R.W. Programmed cell death / R.W. Oppenheim, M.J. Zigmond, F.E. Bloom // Fundamental Neuroscience. – 1999. – P. 581–609.

392. Özkan, M. Drug – induced lung disease / M. Özkan, R. Dweik, M. Ahmad // Cleveland clinic journal of medicine. – 2001. – Vol. 68. – №9. – P. 782-795.

393. Padanilam, B.J. Cell death induced by acute renal injury: a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. / B.J. Padanilam // J Physiol Renal Physiol. – 2003. – Vol. 284(4). – P. 608-627.

394. Padgett, D.A. How stress influences the immune response / D.A. Padgett, R. Glaser // Trends Immunol. – 2003. – Vol. 24. – P. 444-448.

395. Panther, E. Liver diseases in pregnancy / E. Panther, H.E. Blum // Dtsch. Med. Wochenschr. – 2008. – Vol. 133(44). – P. 2283-2287.

396. Pessayre, D. Hepatotoxicity due to mitochondrial dysfunction / D. Pessayre, A. Mansouri, D. Haouzi // Cell. Biol. Toxicol. – 1999. – Vol. 15. – №6. – P. 367-373.

397. Petronijevic, M. Drug induced hepatotoxicity: data from the Serbian pharmacovigilance database / M. Petronijevic, K. Ilic, A. Suzuki // Pharmacoepidemiol. Drug. Saf. – 2011. – Vol. 20(4). – P. 416-423.

398. Pilsczek F. H. / A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to Staphylococcus aureus // Pilsczek F. H., Salina D., Poon K. et. al. // J Immunol. – 2010. – Vol. 185(12). – P. 7413-7425.

399. Platt, N. Scavenger receptors and phagocytosis of bacteria and apoptotic cells / N. Platt, R. Haworth, R.P. da Silva et al. // Advances in cellular and molecular biology of membranes and organelles. – 1999. – Vol. 5. – P. 71-85.

400. Polson, J.E. Hepatotoxicity due to antibiotics / J.E. Polson // Clin Liver Dis. – 2007. – №11(3). – P. 549-561.

401. Racanelli, V. The liver as an immunological organ / V. Racanelli, B. Rehermann // Hepathology. – 2006. – Vol. 43. – P. 54-62.

402. Ramos, K. Neutrophil extracellular traps are induced by Mycobacterium tuberculosis / K. Ramos, F. Mondragyn, M. Castelon // Tuberculosis. – 2009. – Vol. 89(1). – P. 29-37.

403. Reid, S. D. Streptococcus pneumoniae forms surface attached communities in the middle ear of experimentally infected chinchillas / S.D. Reid, W. Hong, K.E. Dew et al. // The Journal of Infectious Diseases. – 2009. – Vol. 199(6). – P. 786-794.

404. Remy, A.J. A new drug responsible for microvesicular steatosis: ticlopidine / A.J. Remy, B. Heran, G. Galindo et al. // Gastroenterol. Clin. Biol. – 1999. – Vol. 23. – №1. – P. 151-152.

405. Rollany, H. Effect of beta-interferon on in vitro spleading of mouse peritoneal macrophages / H. Rollany, H. Degre // Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. – 1982. – Vo. 820. – №6. – P. 389-395.

406. Schenko, K.U. Leberschaden durch Medicamente / K.U. Schenko, S. Subat // D.M.W. Dtsch. Med. Wohenschr. – 1995. – Vol. 120. – №25-26. – P. 923-925.

407. Shiloh, M.U. Phenotype of mice and macrophages deficient in both phagocyte oxidase and inducible nitric oxide synthase / M.U. Shiloh, J.D. MacMicking, S. Nicholson et al. // Immunity. – 1999. – Vol. 101. – №10. – P. 29-38.

408. Singh, N.P. Drug-induced kidney diseases / N.P. Singh, A. Ganguli, A. Prakash // JAPI. – 2003. – Vol. 51. – P. 970-979.

409. Stites, B.P. Defenzymes / B.P. Stites. – Medical Immunology: A lange medical book. – 9-th Ed, 1997. – P. 17.1-17.13.

410. Strauch, S. Oral L-ornitin-L-aspartate therapy of chronic hepatic encephalopathy. Result of placebo – controlled double – blind study / S. Strauch, G. Kircheis, G. Adler et al. // Journal of Hepathology. – 1998. – Vol.28. – P. 856-856.

411. Stuart, R.L. Isoniazid toxicity in health care workers / R.L. Stuart, J. Wilson, M.L. Grayson // Clin. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 28. – №4. – P. 895-897.

412. Sturgill, M.G. Xenobiotic-induced hepatotoxicity: mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function / M.G. Sturgill, G.H. Lambert // Clin Chem. – 1997. – Vol. 43. – №8. – Pt 2. – P. 1512-1526.

413. Takei, H. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis. Journal of Leukocyte / H. Takei, A. Araki, H. Watanabe et al. // Biology. – 1996. – Vol. 59(2). – P. 229-240.

414. Tardo, D.S. Drug interactions with natural products Drugs. Facts and comparisons / D.S. Tardo // NEWS. – 1999. – №3. – P. 34-38.

415. Teschke, R. Spontaneous reports of assumed herbal hepatotoxicity by black cohosh: is the liver-uncpecific Naranjo scale precise enough to ascertain causality? / R. Teschke, W. Schmidt-Taenzer, A. Wolff // Pharmacoepidemiology and drug safety. – 2011. – Vol. 20(6). – P. 567-582.

416. Thelen, M. Neutrophil signal transduction and activation of the respiratory burst / M. Thelen, B. Dewald, M. Baggiolini //Physiol. Rev. – 1993. – Vol. 73. – P. 797-815.

417. Tomioka, H. Gold-induced pulmonary disease: clinical features, outcome and differentiation from rheumatoid lung disease / H. Tomioka, T.E. King // J Rheumatol. – 1997. – Vol. 24. – P. 2299-2303.

418. Tscharner, V. Ion channels in human neutrophils activated by a rise in free cytosolic calcium concentration / V. Tscharner, Prodhom B., Baggiolini M. et al. // Nature. – 1986. – Vol. 324. – P. 369-372.

419. Tzeng, S.J. Prolactin receptor expression in the developing mouse embryo / S.J. Tzeng, D.I. Linzer // Mol. Reprod. and Dev. – 1997. – Vol. 48. – P. 45-52

420. Urban, C. Neutrophil Extracellular Traps Contain Calprotectin, a Cytosolic Protein Complex Involved in Host Defense against Candida albicans / Urban C., Ermert D., Schmid M. et al. // PLOS Pathog. – 2009. – Vol. 5(10). – P. 1-18.

421. Urban, C.F. Neutrophil extracellular traps capture and kill Candida albicans yeast and forms / C.F. Urban, U. Reichard, A. Zychlinsky // Cell Microbiology. – 2006. – Vol. 8 (4). – P. 668-676.

422. Vaquero, J. Etiology and management of fulminant hepatic failure / J. Vaquero, A.T. Blei // Curr Gastroenterol Rep. – 2003. – Vol.5. – P. 39-47.

423. Vasoo, S. Drug-induced lupus: an update / S. Vasoo // Lupus. – 2006. – Vol. 15. – P. 757-761.

424. Vitkov, L. Extracellular neutrophil traps in periodontitis / L. Vitkov, M. Klappacher, M. Hannig et al. // Journal of Periodontal Research. – 2009. – Vol. 44(5). – P. 664-672.

425. vonKöckritz – Blickwede, M. Innate immunity turned inside – out: antimicrobial defense by phagocyte extracellular traps / M. vonKöckritz – Blickwede, V. Nizet // J. Mol. Med. – 2009. – Vol. 87(8). – P. 775-783.

426. Webster, S. Distinct cell death programs in monocytes regulate innate responses following challenge with common causes of invasive bacterial disease / Steve J. Webster, M. Daigneault, M.A. Bewley et al // The Journal of Immunology. – 2010. – Vol. 185 (5). – P. 2968-2979.

427. Whitewelkley, J.E. Treadmill execise training and estradiol increase plasma ACTH and prolactin after novel footshok / J.E. Whitewelkley, G.L. Warren, B.N. Bunnel et al. // J. Applied Physiol. – 1996. – Vol.80. – P. 931-939

428. William, M. Lee Drug-induced hepatotoxicity / M. Lee William // N Engl J Med. – 2003. – Vol. 349. – 474-485.

429. Wong, K.W. Mycobacterium tuberculosis exploits human interferon γ to stimulate macrophage extracellular trap formation and necrosis / K.W. Wong, WR Jr. Jacobs // J. Infect Dis. – 2013. – Vol. 208(1). – P. 109-119.

430. Zafrani, E.S. Drug-induced vascular lesions of the liver / E.S. Zafrani // Anat. Pathol. – 1997. – Vol. 2. – P. 135-145.

431. Zanotti, S. Changes in the topological expression of markers of differentiation and apoptosis in defined stages of human cervical dysplasia and carcinoma / S. Zanotti, A. Fisseler-Eckhoff, H.G. Mannherz // Gynecol Oncol. – 2003. – №89 (3). – P. 376 - 384.

432. Zhang, W. Effect of protein-calorie malnutrition on cytochromes P450 and glutathione S-transferase / W. Zhang, H. Parentau, R.L. Greenly et al. // Eur. Drug Metab. Pharmacokinet. – 1999. – V. 24. – P. 141-147.

433. Zimmerman, H.J. Hepatic injury due to drugs and toxins / H.J. Zimmerman, K. Ishak // Pathology of the liver. Ed. R. N. M. MacSween et al. – Edinburgh – 1979. – P. 335-386.

434. Zimmerman, H.J. Toxic and drug-induced hepatitis / H.J. Zimmerman, W.C. Maddrey. – L. Schiff. – Diseases of the liver 7th ed., 1993. – P. 707-783.

435. Zollinger, H. Renal pathology in biopsy / H. Zollinger, M.J. Minatsch. – Berlin: Springer-verlag, 1978. – 137 p.