

УДК 615.273

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ  
НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ ПРИ  
ЭКСПОЗИЦИИ С НЕОРОНДЕКСОМ  
В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ *IN VITRO***

**А. И. Выговская**

(МГУ имени А. А. Кулешова, Могилев, Беларусь)

В работе использована оригинальная методика изучения и анализа возможных структурно-функциональных изменений нейтрофильных гранулоцитов крови при инкубации с декстраном неорондекс в экспериментальном исследовании *in vitro*.

*Ключевые слова:* декстран, нейтрофильные гранулоциты крови, люминесцентный микроспектральный анализ.

Кровезаменитель неорондекс содержит модифицированный декстран. Использование в эксперименте неорондекса позволяет обнаружить эффекты самого модифицированного декстрана в чистом виде.

*Методы исследования.* Структурно-функциональное состояние нейтрофильных гранулоцитов крови (НГК) изучено с использованием метода люминесцентного микроспектрального анализа (двухволновой ми-крофлуориметр-фотометр ДМФ-2 (Институт биофизики РАН, Пущино) на базе микроскопа «Люмам») при суправитальном флуорохромировании НГК акридин-оранжем  $1 \times 10^{-5}$  М в фосфатном буфере (рН 7,2) [2].

Для каждой клеточной популяции оценивались:

1. интенсивность зеленого свечения (ИЗС),  $\lambda = 530$  нм, которая характеризует интенсивность включения флуорохрома в ДНК, тем самым отражая состояние хроматина исследуемых ядер;
2. интенсивность красного свечения (ИКС),  $\lambda = 640$  нм, которая представляет собой результат флуорохромирования РНК и суправитальной сегрегации красителя в лизосомальном аппарате НГК;
3. отношение ИКС к ИЗС в этой ситуации представляет собой интегральный показатель клеточной активности.

В работе использован и микрофлуориметрический вариант оценки фагоцитарной активности НГК по отношению к живым дрожжевым клеткам. Для этого у поглощенных 100 нейтрофилами дрожжей измеряется отношение интенсивностей красной и зеленой люминесценции (с максимумом полос, соответственно,  $\lambda = 640$  нм и  $\lambda = 530$  нм), что позволяет дать количественную характеристику уровня переваривания дрожжевых клеток в лизосомальном аппарате [1, 3].

Для оценки фагоцитарной активности НГК рассчитывались следующие показатели:

- 1) фагоцитарный индекс (ФИ) – количество нейтрофилов (%), участвующих в фагоцитозе;
- 2) фагоцитарное число (ФЧ) – среднее число дрожжевых частиц, поглощенных одним фагоцитом;
- 3) число активных фагоцитов (АФ) – число фагоцитов (%), содержащих хотя бы одну активно перевариваемую дрожжевую клетку;

4) индекс переваривания (ИП) – процентное отношение числа активно перевариваемых дрожжевых клеток ко всем поглощенным 100 нейтрофилами.

*Результаты и их обсуждение.* Как видно из представленных данных (табл. 1), инкубация образцов крови с неорондексом не привела к значимым структурно-функциональным перестройкам НГК за исключением умеренного снижения ИЗС.

Таблица 1. *Состояние НГК в эксперименте с неорондексом (X<sub>ср</sub>±SD)*

	<b>Исходные значения</b>	<b>После 30 минут инкубации</b>	<b>После 180 мин инкубации</b>
ИЗС, отн. опт. ед	2.75±1.60	1.98±0.40	1.80±0.59*
ИКС, отн. опт. ед.	0.95±0.37	0.93±0.38	0.84±0.39
ИКС/ИЗС	0.59±0.13	0.63±0.17	0.63±0.11

\* - достоверное ( $p < 0.05$ ) различие параметров по сравнению с исходным (t-тест для зависимых переменных)

Результаты исследования фагоцитарной активности НГК при кратковременной (60 мин) инкубации образцов крови с декстраном неорондекс представлены в таблице 2.

Таблица 2. *Фагоцитарная активность НГК при кратковременном эксперименте (X±SD; n=54)*

<b>Параметр</b>	<b>Исходные значения</b>	<b>60 минут инкубации при 37 °С</b>	<b>180 минут инкубации при 37 °С</b>
ИФ, %	92,50±3,16	94,00±3,66	96,12±2,69*
ФЧ, ед	2,94±0,47	2,90±0,42	3,68±0,54*
ИП, %	48,14±6,20	55,78±11,97	46,73±6,40
АФ, %	75,11±16,25	80,22±10,31	75,11±6,18

\* - достоверное ( $p < 0.05$ ) различие параметров по сравнению с исходным (t-тест для зависимых переменных)

Как видно из результатов исследования, ИФ при инкубации с неорондексом не изменяется, ИП – умеренно и статистически значимо увеличивается. Следует обратить внимание на то, что процент активных фагоцитов (АФ) к концу эксперимента возрастает.

При продолжении инкубации с неорондексом отмечается sensi-

билизация к фагоцитируемым объектам: количество нейтрофилов, принимающих участие в фагоцитозе живых дрожжевых клеток (ИФ), прогрессивно увеличивается. Существенно возрастает и число фагоцитируемых объектов в среднем на одну клетку. Повышение этого параметра сопровождается снижением к концу эксперимента индекса перевариваемости, что указывает на то, что фагоцитарные реакции становятся незавершенными.

*Заключение.* Проведенное исследование позволило обнаружить влияние самого декстрана на фагоцитарную активность НГК. Среди эффектов неорондекса следует отметить увеличение индекса перевариваемости дрожжевых клеток к концу эксперимента, что свидетельствует о более завершенном характере фагоцитарных реакций. Иначе говоря, поступление декстрана в лизосомальный аппарат клетки не снижает ее активности, а при более длительном эксперименте эффект заключается в умеренной, но статистически значимой активации его функционирования (по показателям индекса фагоцитоза и фагоцитарного числа). Отсутствие четких изменений индекса перевариваемости и процента активных фагоцитов указывает на то, что активация фагоцитоза не связана, по крайней мере, с функционированием лизосомального аппарата НГК и носит неспецифический характер.

### Список литературы

1. Выговская, А. И. Структурно-функциональные реакции и внутриклеточные взаимодействия нейтрофильных гранулоцитов крови при экспозиции с металлодекстранами / А. И. Выговская, Е. В. Воробей // Итоги научных исследований ученых МГУ имени А. А. Кулешова 2018 г.: материалы научно-методической конференции, 25 января – 7 февраля 2019 г. / под ред. Е. К. Сычовой. – Могилев: МГУ имени А. А. Кулешова, 2019. – С. 179–180.
2. Карнаухов, В. Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки / В. Н. Карнаухов. – М.: Наука, 1978. – 209 с.
3. Тепляков, А. И. Методические подходы к исследованию роли структурно-функциональных реакций нейтрофильных гранулоцитов крови (НГК) в патогенезе ишемической болезни в условиях длительного неблагоприятного радиоэкологического прессинга: гемостазиологические и реологические аспекты / А. И. Тепляков, Д. В. Андриянова, Н. Г. Кручинский // Материалы V Научного съезда специалистов клинической лабораторной диагностики Республики Беларусь. Минск, 16-17 октября 1997 г. – Минск, 1997. – С. 136.