

УДК 616.1-432.001.12

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ И ПОГЛОТИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Э.Е. Нурашева

Исследована *in vitro* метаболическая и поглотительная активность нейтрофилов с помощью НСТ-теста (восстановления нитросинего тетразолия) у старых крыс. Установлено, что в оба срока исследования у старых крыс по сравнению с молодыми была существенно снижена метаболическая и поглотительная активность нейтрофилов как в спонтанном, так и в индуцированном вариантах НСТ-теста.

Ключевые слова: старые крысы; НСТ-тест; фагоцитоз; нейтрофилы.

METABOLIC AND NEUTROPHIL PHAGOCYtic ACTIVITY OF YOUNG AND OLD RATS IN THE EXPERIMENT

E.E. Nurashева

It is studied the *in vitro* metabolic and neutrophil phagocytic activity using the NBT-test (Nitroblue tetrazolium) in old rats. It is established that both the duration of the study in older rats compared with younger was significantly reduced metabolic activity of neutrophils and absorption in both spontaneous and induced variations in the NBT-test.

Key words: old rats; NBT-test; phagocytosis; neutrophils.

Увеличение продолжительности жизни, а особенно ее здорового периода, является абсолютным благом для человека. Однако существующие представления и подходы не привели к значительному продлению максимальной продолжительности жизни [1–4]. За счет улучшения условий жизни, медицинских и гигиенических мер удалось увеличить лишь среднюю продолжительность жизни, т. е. снизить гибель от случайных причин, некоторых патологий и инфекций. Кроме того, существующие на данный момент геропротекторы оказывают противоречивое действие на продолжительность жизни. Зачастую оно укладывается в пределы гормонального диапазона, установленного для неспецифического компенсаторного стресс-ответа (20–30 %), что ставит под сомнение их направленное воздействие на механизмы старения [5–7].

В то же время лавинообразно накапливаются данные о роли иммунной системы в регуляции продолжительности жизни модельных животных. Воспаление является защитной реакцией организма в ответ на внедрение в организм патогенных агентов микробной этиологии, к одним из неспецифических проявлений которого относят фагоцитоз

[8–12]. Воспаление играет важную роль в различных возрастзависимых заболеваниях и патологиях, что требует соответствующей корректирующей терапии. В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования явилось изучение метаболической и поглотительной активности нейтрофилов в крови у интактных старых крыс в сравнении с молодыми.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 20 белых крысах-самцах массой 220–340 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе. Проведены 2 серии экспериментов: 1 серия – молодые интактные крысы; 2 серия – старые интактные крысы. В каждой серии было по 10 крыс. Исследования проводили через одну и две недели от начала эксперимента с соблюдением биоэтических норм и правил проведения экспериментов с участием животных. Взятие крови у животных проводили под хлороформовым наркозом.

Определение показателей метаболической и поглотительной активности нейтрофилов проводили с помощью НСТ-теста (тест восстановления нитросинего тетразолия) и спонтанного и индуци-

Таблица 1 – Показатели метаболической и поглотительной активности нейтрофилов молодых и старых крыс в сравнении

Показатели	N	Молодые		Старые		U-критерий Манна – Уитни
		Me (CO)	25–75 %	Me (CO)	25–75 %	
Через 1 неделю						
НСТ-спонт.	10	22,5 (3,6)	18,0–24,0	15,5 (2,5)	14,0–18,0	0,002* z = 3,062
НСТ-инд.	10	45,5 (6,0)	42,0–50,0	30,0 (4,0)	25,0–32,0	0,0002* z = 3,780
ФГ-спонт.	10	20,0 (3,2)	18,0–22,0	13,0 (2,9)	12,0–15,0	0,002* z = 3,062
ФГ-инд.	10	41,0 (5,8)	40,0–44,0	23,0 (5,0)	20,0–26,0	< 0,0001* z = 3,780
Уровень статистической значимости: * – старых животных к молодым.						

Таблица 2 – Показатели метаболической и поглотительной активности нейтрофилов молодых и старых крыс в сравнении

Показатели	N	Молодые		Старые		U-критерий Манна-Уитни
		Me (CO)	25%-75%	Me (CO)	25%-75%	
Через 2 недели						
НСТ-спонт.	10	21,0 (4,0)	19,0–22,0	13,0 (2,8)	12,0–16,0	< 0,0001* z = 3,628 0,140**
НСТ-инд.	10	48,0 (4,7)	44,0–50,0	24,0 (5,5)	20,0–30,0	< 0,0001* z = 3,780 0,070**
ФГ-спонт.	10	23,0 (2,7)	20,0–24,0	12,0 (2,8)	10,0–14,0	< 0,0001* z = 3,780 0,450**
ФГ-инд.	10	50,0 (2,9)	48,0–52,0	22,0 (5,4)	20,0–28,0	< 0,0001* z = 3,780 0,820**
Уровень статистической значимости: * – старых животных к молодым; ** – второй недели к первой.						

рованного фагоцитоза в медицинском центре «Имунодиагностика» [13].

Процедуры статистического анализа выполнялись с помощью статистических пакетов STATISTICA 10 и SPSS-16. Значение уровня статистической значимости принималось в случаях $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Метаболическая активность нейтрофилов, исследованная в НСТ-тесте через одну неделю эксперимента, показала, что медиана (интерквартильный размах) спонтанного НСТ у старых животных оказалась на 31,1 % статистически значимо меньшей (Me = 15,5; интерквартильный размах от 14,0 до 18,0 против Me = 22,5; интерквартильный размах от 18,0 до 24, контроля) ($p = 0,002$, $z = 3,062$) по сравнению с данными молодых интактных крыс (таблица 1).

Индукцированная пирогенолом метаболическая активность нейтрофилов старых особей

в НСТ-тесте также в 1,5 раза статистически значимо ($p = 0,0002$, $z = 3,780$) отставала от показателей молодых животных.

Поглотительная активность нейтрофилов была исследована *in vitro* с помощью реакции фагоцитоза с добавлением в пробы латекса. Вначале исследовали спонтанную поглотительную активность нейтрофилов. Так, спонтанный фагоцитоз у старых особей оказался на 35 % статистически значимо менее выраженным ($p = 0,002$, $z = 3,062$) (Me = 13,0, интерквартильный размах от 12,0 до 14,0 против Me = 20,0, интерквартильный размах от 18,0 до 22,0 молодых) по сравнению с данными молодых крыс.

Добавление в пробы крови латекса повышало поглотительную активность нейтрофилов у старых крыс с 13 (Q1 = 12,0; Q2 = 15,0) до 23 (Q1 = 20,0; Q2 = 26,0), а процент прироста составил 43,5 %, тогда как у молодых крыс индуцирован-

ный фагоцитоз превышал спонтанный на 51,3 %, что было на 7,8 % статистически значимо больше ($p < 0,0001$, $z = 3,780$) поглотительной активности нейтрофилов старых особей.

Исследования, проведенные через 2 недели эксперимента, не выявили существенного прироста метаболической и поглотительной активности нейтрофилов у старых интактных животных (таблица 2).

Так, уровень спонтанного НСТ так же, как и индуцированного был статистически значимо меньше аналогичных показателей молодых крыс на 38,1 % ($p < 0,0001$, $z = 3,628$) и 50 % ($p < 0,0001$, $z = 3,780$) соответственно.

Спонтанный фагоцитоз в пробах крови старых крыс был на 47,6 % статистически значимо меньше ($p < 0,0001$, $z = 3,780$), чем у молодых особей. Стимулирование нейтрофилов старых крыс при помощи латекса приводило к приросту поглотительной активности на 45,4 %, однако она отставала от данных молодых животных на 56 % ($p < 0,0001$, $z = 3,780$).

Таким образом, проведенные *in vitro* исследования показали, что метаболическая и поглотительная активность нейтрофилов у старых крыс по сравнению с молодыми животными снижается, что послужило основанием для проведения в дальнейшем наших исследованиях патогенетической корригирующей терапии выявленных нарушений.

Литература

1. *Badley A.D., Roumier T., Lum J.J., Kroemer G.* Mitochondrion-mediated apoptosis in HIV-1 infection. *Trends Pharmacol Sci.* 2003 Jun; 24 (6):298–305.
2. *Процаев К.И.* Медико-демографические особенности г. Белгорода в контексте паллиативной гериатрической помощи / К.И. Процаев, И.П. Пономарева, О.А. Гринько // *Электр. журнал. «Современные проблемы науки и образования».* 2012. № 5.
3. *Чайковская В.В.* Направления реализации в Украине мадридского международного плана действий по вопросам старения / В.В. Чайковская, Л.А. Стаднюк, Л.В. Егорова и др. // *Проблемы старения и долголетия.* 2011. № 2. С. 252–254.
4. *Суханов А.В.* Полиненасыщенные жирные кислоты в профилактике болезни Альцгеймера: обзор литературы / А.В. Суханов // *Успехи геронтологии.* 2012. Т. 25. № 1. С. 119–126.
5. *Cummins N., Badley A.* The TRAIL to viral pathogenesis: the good, the bad and the ugly. *Curr. Mol Med.* 2009 May; 9 (4):495–505.
6. *Lum J.J., Badley A.D.* Resistance to apoptosis: mechanism for the development of HIV reservoirs. *Curr HIV Res.* 2003 Jul;1 (3):261–274.
7. *Derhovanessian E., Larbi A., Pawelec G.* Biomarkers of human immunosenescence: impact of cytomegalovirus infection. *Curr Opin Immunol.* 2009; 21:440–445.
8. *Larbi A., Franceschi C., Mazzatti D., Solana R., Wikby A., Pawelec G.* Aging of the immune system as a prognostic factor for human longevity. *Physiology.* 2008; 23:64–74.
9. *Pawelec G., Akbar A., Caruso C., Effros R., Grubeck-Loebenstein B., Wikby A.* Is immunosenescence infectious? *Trends Immunol.* 2004, 25:406–410.
10. *Flurkey K., Brandvain Y., Klebanov S., Austad S.N., Miller R.A., Yuan R., Harrison D.E.* PohnB6F1: a cross of wild and domestic mice that is a new model of extended female reproductive life span. *Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2007 Nov; 62 (11):1187–98.
11. *Brunet-Rossinni A.K., Austad S.N.* Senescence in natural populations of mammals and birds. In *Handbook of the Biology of Aging*, 6th Ed. Masoro, E.J. & Austad, S.N. (eds.). Academic Press, San Diego, CA. (2006). Pp. 243–265.
12. *Гурина Н.А.* Изучение состояния здоровья пожилых людей в одном из районов Санкт-Петербурга: результаты проекта «Хрусталь» / Н.А. Гурина, Е.В. Фролова, Я. Дегриз // *Успехи геронтологии.* 2011. Т. 24. № 1. С. 114–121.
13. Информативность тестов оценки иммунного статуса при инфекционных и аллергических заболеваниях: методические рекомендации / НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных болезней Минздрава Казахской ССР. Алма-Ата, 1989. 25 с.