

УДК 612.017+616—006

Ю. Т. АЛЕКСАНИЯН, Л. А. МАНУКЯН, С. Г. ПАНОСЯН, А. К. КАРАМАНУКЯН

## ИЗУЧЕНИЕ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ МАКРОФАГОВ И СОДЕРЖАНИЯ В НИХ РНК У МЫШЕЙ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ И ИЗОЛОГИЧНЫХ ИНТАКТНЫХ МЫШЕЙ

Проведено изучение фагоцитарной активности макрофагов перитонеального экссудата мышей линии СЗНА через неделю и две недели после прививки гепатомы XXIIa. В качестве контроля использованы макрофаги интактных мышей той же линии. Цитометрическим методом изучено количество РНК в цитоплазме макрофагов у мышей-опухоленосителей на 9- и 16-й дни после прививки гепатомы XXIIa.

Обнаружено выраженное снижение фагоцитарной активности макрофагов при росте опухоли (уменьшение количества фагоцитирующих макрофагов и подавление их поглотительной функции). Отмечается выраженное уменьшение содержания РНК в макрофагах мышей-опухоленосителей как на ранней, так и на поздней стадии роста опухоли.

Как известно, макрофаги, осуществляющие первоначальный контакт с любым антигеном, поступающим в организм, выполняют важную роль в исходном звене иммунного ответа организма [10, 12]. В литературе имеется ряд работ, посвященных изучению фагоцитарной функции макрофагов при различных патологических состояниях организма [1, 5, 6, 8, 11]. Однако сообщения, касающиеся изучения морфо-функциональных изменений макрофагов при опухолевом процессе, единичны [4, 13]. Между тем, разработка этого вопроса представляет интерес для выяснения иммунобиологических сдвигов в организме при росте опухоли.

В настоящей работе ставилась задача: определить фагоцитарную способность макрофагов перитонеального экссудата мышей с гепатомой XXIIa и изучить содержание РНК в цитоплазме макрофагов мышей-опухоленосителей.

### Методика

При проведении работы были использованы мыши линии СЗНА с привитой гепатомой XXIIa и интактные мыши той же линии. Для получения макрофагов в брюшную полость мышей вводили 5 мл 2%-ного раствора хлористого натрия, после чего мышей забивали. Взвесь клеток перитонеального экссудата (в 1 мл 3—4 млн клеток) получали промыванием брюшной полости физиологическим раствором. Изучался клеточный состав перитонеального экссудата. Жизнеопоспособность клеток определяли с помощью 2%-ного водного раствора эозина. Цитоморфо-

логическое изучение макрофагов проводили в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза. Фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов изучали по описанной в литературе методике [3, 7]. В качестве тест-микроба был использован штамм золотистого стафилококка (убитая культура с 24-часовым ростом). Выводили экстенсивный (процент фагоцитирующих макрофагов—подсчет на 100 макрофагов) и интенсивный (среднее число микробных тел, поглощенных каждой клеткой) показатели фагоцитоза. При проведении работы было использовано 34 животных, разделенных на три группы: мыши линии СЗНА через неделю после прививки гепатомы ХХIIa; мыши той же линии через две недели после прививки опухоли; интактные мыши линии СЗНА.

Для изучения количества РНК в макрофагах получали мазки из перитонеальной жидкости. Мазки фиксировали в фиксаторе Карнуа в течение 15 мин. Экстракцию нуклеиновых кислот проводили 5%  $\text{HClO}_4$  при  $90^\circ\text{C}$  в течение 6 мин. Те же участки препарата фотографировали до и после экстракции. Количество РНК в макрофагах определяли цитофотометрическим методом [2] на микроскопе МУФ-6 при длине волны 265 мμ (мк). Негативы фотометрировали на регистрирующем микрофотометре (МФ-4), определяя оптическую плотность РНК в цитоплазме макрофагов. Для определения количества РНК в пикограммах (пг) измеряли размеры цитоплазмы. Производное от оптической плотности и площади цитоплазмы макрофагов дает общее количество данного вещества (определяется по формуле  $Q = \frac{E \cdot S}{x}$ , где  $x - 2000$ ).

Для каждого опыта было использовано по 5 мышей и подсчитано содержание РНК в 40 макрофагах от каждого животного. Результаты опытов обрабатывали статистически по Урбаху [9].

### Результаты

Как показали результаты исследований, макрофаги перитонеального экссудата мышей-опухоленосителей, в особенности при выраженном росте опухоли (через две недели после прививки опухоли), большей частью подвергнуты морфологическим изменениям (сморщенные и уменьшенные в размере клетки, изменение соотношения площади ядра и цитоплазмы в сторону уменьшения цитоплазмы). В перитонеальном экссудате мышей-опухоленосителей, в отличие от интактных мышей, доминировало количество лимфоцитов.

Результаты опытов по изучению фагоцитарной активности макрофагов перитонеального экссудата мышей-опухоленосителей и изолированных интактных мышей представлены в табл. 1, где приводятся усредненные показатели фагоцитарной активности и пределы их колебаний. Как видно из данных, представленных в таблице, экстенсивный показатель фагоцитарной активности макрофагов интактных мышей линии СЗНА равен 80%, а интенсивный показатель—6,9. У мышей с привитой гепатомой ХХIIa (через неделю после прививки) отмечается выражен-

Таблица 1

Фагоцитарная активность макрофагов перитонеального экссудата мышей-опухоленосителей и интактных мышей линии СЗНА

Группы животных	Экстенсивный показатель (%)		Интенсивный показатель	
	пределы колебаний	М	пределы колебаний	М
Интактные мыши линии СЗНА	74—84	80	5,7—8,0	6,9
Мыши-опухоленосители (через неделю после прививки опухоли)	28—72	48	2,3—5,6	3,7
Мыши-опухоленосители (через две недели после прививки опухоли)	27—41	33,9	2,1—4,7	3,4

ное уменьшение количества фагоцитирующих макрофагов (экстенсивный показатель 48%). В то же время наблюдается подавление поглотительной функции макрофагов (интенсивный показатель 3,7). Спустя две недели после прививки опухоли (следует отметить, что опухоли выросли в 100% случаев) отмечалось дальнейшее уменьшение количества фагоцитирующих макрофагов (экстенсивный показатель 33,9%), как и выраженное подавление поглотительной способности макрофагов (интенсивный показатель 3,4).

Таблица 2

Результаты изучения количества РНК в цитоплазме макрофагов мышей с гепатомой XXIIa и изологичных интактных мышей

Группы животных	E	S	Q
	$M \pm \sigma_x$	$M \pm \sigma_x$	$M \pm \sigma_x$
Интактные мыши	$0,36 \pm 0,010$	$81,2 \pm 5,0$	$14,6 \pm 0,95$
Мыши с 9-дневным ростом опухоли	$0,36 \pm 0,009$	$60,0 \pm 7,0$	$10,8 \pm 0,45$
Мыши с 16-дневным ростом опухоли	$0,30 \pm 0,010$	$52,3 \pm 2,2$	$7,8 \pm 0,78$

Примечание. E — оптическая плотность; S — площадь цитоплазмы ( $\mu\text{к}^2$ ); Q — количество РНК в лг; M — среднее арифметическое;  $\sigma_x$  — стандартная ошибка среднего значения.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать заключение о значительном снижении фагоцитарной активности макрофагов перитонеального экссудата мышей при росте опухоли в организме (выраженное уменьшение количества фагоцитирующих макрофагов и подавление их поглотительной функции).

Результаты экспериментов по изучению количества РНК в цитоплазме макрофагов мышей-опухоленосителей и изологичных интактных мышей линии СЗНА приведены в табл. 2. Как видно из приведенных данных, не наблюдается отклонений от нормы оптической плотности

РНК макрофагов на ранней стадии роста гепатомы (9-й день после прививки опухоли). На поздней же стадии опухоленосительства (16-й день после прививки опухоли) оптическая плотность РНК в макрофагах по сравнению с нормой снижается. Площадь цитоплазмы макрофагов на раннем и позднем этапах опухоленосительства по сравнению с контролем заметно уменьшена. У мышей-опухоленосителей количество РНК в цитоплазме макрофагов значительно уменьшено, в особенности на поздней стадии роста опухоли (разница статистически достоверна).

Таким образом, в макрофагах мышей-опухоленосителей отмечается выраженное уменьшение содержания РНК. Это является показателем значительных нарушений функциональной активности клеток, следствием чего являются, по-видимому, морфологические изменения, выражающиеся в сморщивании и уменьшении цитоплазмы.

На основании экспериментов по изучению фагоцитарной активности макрофагов перитонеального экссудата мышей с растущей гепатомой ХХIIа можно сделать заключение о выраженном понижении функциональной активности макрофагов при росте опухоли. Это подтверждается также результатами изучения количественного содержания РНК в макрофагах мышей-опухоленосителей.

Лаборатория молекулярной иммунологии

Ин-та экспериментальной биологии

АН Арм. ССР

Поступила 25/1 1973 г.

Յ. Բ. ԱԵՔՍԱՆՅԱՆ, Լ. Ա. ՄԱՆՈՒԿՅԱՆ, Ս. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ, Ա. Կ. ԿԱՐԱՄԱՆՈՒԿՅԱՆ

ՄԱԿՐՈՖԱԳՆԵՐԻ ՖԱԳՈՑԻՏԱՐ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ԵՎ ՆԹ-Ի ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՆՐԱՆՑ ՄԵՋ ՈՒՌՈՒՑՔԱԿԻՐ ԵՎ ԻՋՈՂՈԳԻԱԿԱՆ ԻՆՏԱԿՏ ՄԿՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հետազոտվել է պերիտոնեալ էքսուդատի մակրոֆագների ֆագոցիտար ակտիվությունը հեպատոմա շճա ուցուղքակիր և իզոլոգիական ինտակտ СЗНА դժային մկների մոտ:

Ցիտոֆոստոմետրիկ մեթոդով ուսումնասիրվել է ՌՆԹ-ի պարունակությունը մակրոֆագներում ինտակտ և ուռուցքակիր մկների մոտ:

Հայտնաբերվել է մակրոֆագների ֆագոցիտար ակտիվության զգալի իջեցում ուռուցքի աճման ժամանակ (ֆագոցիտոզի ունակ մակրոֆագների քանակի իջեցում՝ նրանց կլանող հատկությունների ճնշում):

Ուռուցքակիր մկների մակրոֆագներում ուռուցքի աճման թե՛ վաղ և թե՛ ուշ ստադիայում ՌՆԹ-ի պարունակությունը խիստ քչացած է:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Богинич Л. Ф. Журнал микроб., эпид. и иммунобол., 1971, 4, стр. 141.
2. Бродский В. Я. Трофика клетки. М., 1966.

3. Карлсон И. Р. Журнал микроб., эпид. и иммунобиол., 1958, 10, стр. 84.
4. Круглая Н. И. Там же, 1959, 1, стр. 29.
5. Ли-Бин. Там же, 1959, 3, стр. 126.
6. Мешалова А. Н. Там же, 1958, 10, стр. 57.
7. Пашинян Э. Р., Шамирханян С. Т. Труды Ин-та гематологии и переливания крови МЗ Арм. ССР, 1968, XI—XII, стр. 184.
8. Тушинский М. Д., Ярошевский А. Я. Клиническая гематология. М., 1959.
9. Урбах В. Ю. Биометрические методы. М., 1964.
10. Фрейдлин И. С. Журнал микроб., эпид. и иммунобиол., 1971, 4, стр. 54.
11. Berlin Richard D. Nature, 235, 54, 44, 1972.
12. Hoffman M. Immunology, 18, 6, 791, 1970.
13. Kronman Barry S., Nepsic Harold T. at all. Science, 165, 3890, 296, 1969.