

*Юкина Г. Ю., Журавский С. Г.,  
Крыжановская Е. А., Томсон В. В.*

## **РЕАКЦИЯ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ И ТУЧНЫХ КЛЕТОК ЛЁГКИХ КРЫС НА ПАРЕНТЕРАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ**

*Лаборатория патоморфологии НИЦ (заведующая – к. б. н. Г. Ю. Юкина)  
Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета  
им. академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург,  
e-mail: pipson@inbox.ru*

Дыхательная система представляет собой уникальный объект для исследования потенциальной токсичности наночастиц кремнезёма (НЧК), так как помимо возможности прямого ингаляционного попадания, легкие пропускают через свою систему аэро-гематического барьера весь объем крови, в котором происходит циркуляция наночастиц. При внутривенном введении легкие, наряду с печенью, являются одним из наиболее подверженных накоплению наночастиц органов, что обуславливает необходимость уточнения механизмов распределения частиц в тканях легкого и определение их токсического влияния. Хорошо известно, что патоморфологический субстрат легочного силикоза представляет собой продукт особенного ответа рыхлой волокнистой соединительной ткани. Хроническое асептическое воспаление, развивающееся при попадании кристаллов диоксида кремния, проявляется гиперпродукцией коллагена в условиях отсутствия повреждений (некрозов) [3]. Ключевое участие в этом отводится тканевым «семафорам» – макрофагам (МФ) и тучным клеткам (ТК), что показано как на экспериментальном, так и на аутопсийном и биопсийном материале [1, 2].

**Цель работы** – дать гистологическую оценку состояния лёгкого при парентеральном введении НЧК с учетом изменений, патогенетически связанных с компенсаторно-приспособительными реакциями соединительной ткани.

**Материал и методы.** Исследование проведено на 20 самцах крыс стока Wistar массой 220–250 г.

Животные разделены на 2 группы: 1) контроль (n = 10) – с введением 1 мл физиологического раствора (К); 2) экспериментальная группа (n = 10) – с однократным внутривенным введением 1 мл суспензии наночастиц диоксида кремния сферической формы, размером  $13 \pm 2$  нм (2 мг/мл).

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 60-е сутки в условиях анестезии раствором золетила (6 мг/кг). Материал фиксировали в 10 %-ном формалине (рН 7,4), заливали в парафиновые блоки по стандартной методике, срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, визуализацию ТК осуществляли толуидиновым синим. Макрофагами считали крупные клетки диаметром 18–25 мкм, неправильной формы, с вакуолизированной цитоплазмой, имеющие округлое или бобовидное ядро и расположенные в межальвеолярной соединительной ткани. С помощью программы анализа изображений «Видеотест» подсчитывали относительное количество МФ и ТК на 20 полях зрения

при увеличении окуляра 10, а объектива – 40. Сравнение проводили по критерию Манна-Уитни в программе Statistica 7.0.

**Результаты и обсуждение.** Строение бронхов контрольных животных на 60-е сутки соответствует классическому гистологическому описанию. Анализ исследуемого клеточного пула легких показал, что количество интерстициальных МФ находится в пределах  $71,1 \pm 11,1$ , а ТК в пределах  $6,9 \pm 1,02$  (табл. 1). Распределение ТК в структурах легкого показано в табл. 2.

На 60-е сутки после введения НЧК количество МФ увеличивается до  $240,7 \pm 50,9$ , что значимо отличается от показателя в группе К (см. табл. 1). Количество ТК составляет  $6 \pm 1,95$ , значимо не отличаясь от контрольных значений. Однако было выявлено существенное перераспределение ТК. Из адвентиции крупных, средних бронхов и крупных сосудов ТК перемещаются к сосудам микроциркуляторного русла и в интерстиций межальвеолярных перегородок (табл. 2).

Таблица 1

**КОЛИЧЕСТВО ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ  
И ТУЧНЫХ КЛЕТОК НА 60-Е СУТКИ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО  
ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ SiO<sub>2</sub>**

	60-е сутки	
	Физ. раствор	SiO <sub>2</sub>
Макрофаги (M ± m)	71,1 ± 11,1	240,7 ± 50,9*
Тучные клетки (M ± m)	6,9 ± 1,02	6 ± 1,95

\* Различия значимы по сравнению с показателями в группе с введением физиологического раствора при  $p < 0,05$

Таблица 2

**ДИНАМИКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В СТРУКТУРАХ  
ЛЁГочНОЙ ТКАНИ ЧЕРЕЗ 60 СУТОК ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО  
ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ SiO<sub>2</sub>**

	Общее кол-во ТК, (M ± m) и %	Висцеральная плевро, (M ± m) и %	Крупные и средние бронхи, (M ± m) и %	Крупные сосуды, (M ± m) и %	Мелкие бронхи и терминальные бронхиолы, (M ± m) и %	Сосуды микроциркуляторного русла, (M ± m) и %	Межальвеолярные перегородки, (M ± m) и %
Физ. р-р	6,9 ± 1,02 100 %	1,9 ± 0,6 28 %	2,4 ± 0,5 34 %	1,8 ± 0,6 26 %	0,13 ± 0,1 2 %	0,7 ± 0,3 9,9 %	0,01 ± 0,3 0,1 %
SiO <sub>2</sub>	6 ± 1,95 100 %	2,1 ± 0,6 35 %	0,9 ± 0,4 16 %	1,3 ± 0,6 22 %	0,2 ± 0,06 3 %	1,4 ± 0,8 23 %	0,2 ± 0,14* 1 %

\* Различия значимы по сравнению с показателями в группе с введением физиологического раствора при  $p < 0,05$ .

Выявлено, что гематогенно вводимые дисперсии, содержащие НЧК, накапливаются в интерстиции легкого и стимулируют фагоцитарную активность МФ. Увеличение и поддержание численности МФ свидетельствует о длительной персистенции НЧК в интерстиции респираторного отдела и, видимо, о замедленной их элиминации. Именно фагоцитирующие МФ, как первичное звено иммунологического ответа на экзогенный фактор (в нашем случае – НЧК), становятся триггерами для последующих процессов, приводящих к морфологической перестройке соединительной ткани, выступая активными продуцентами цитокинов, прежде всего, ИЛ-1 [1]. Последний, являясь основным медиатором неспецифической защиты, «провоцирует» эффекты ТК, в частности, их IgE-независимую дегрануляцию [4]. В свою очередь, триптазе и химазе гранул ТК отводится ведущая роль в активации как пролиферации, так и секреторной способности фибробластов, эпителиальных и гладкомышечных клеток.

В нашем эксперименте отмечается миграция ТК в места локализации МФ. Избыточная секреция тканевых МФ и мигрирующих ТК в интерстиции лёгких может стать своеобразным ключом соединительнотканного ремоделирования стромы органа. Полагаем, что вовлеченность ТК является общим звеном ответа на внутривенное введение наночастиц. Таким образом, однократное парентеральное введение кремнезёма в виде объектов наноразмерной величины становится повреждающим для организма событием и вызывает в интерстиции респираторного отдела лёгкого ответную реакцию в виде диффузной макрофагальной инфильтрации и скопления ТК. Искусственное придание частице сферической формы не лишает повреждающего потенциала, характерного для кристаллического вида кремнезёма.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Hamilton R. F. Jr., Thakur S. A., Holian A.* Silica binding and toxicity in alveolar macrophages // *Free Radic. Biol. Med.* 2008. Vol. 44(7). P. 1246–1258.
2. *Kawanami O., Ferrans V. J., Fulmer J. D. et al.* Ultrastructure of pulmonary mast cells in patients with fibrotic lung disorders // *Lab. Invest.* 1979. Vol. 40(6). P. 717–734.
3. *Lemairre I.* Silica- and asbestos-induced pulmonary fibrosis / In: Phan S. H., Thrall R. S., editors. *Pulmonary Fibrosis*. New York: Marcel Dekker, 1995. P. 319–362.
4. *Puxeddu I., Piliponsky A.M., Bachelet I. et al.* Mast cell in allergy and beyond // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003. Vol. 35. P. 1601–1607.