

ВЛИЯНИЕ ЭСТРИОЛА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ В СИСТЕМЕ *IN VITRO*

Долгушин И.И., Смирнова Т.Г., Савочкина А.Ю.,
Шишкова Ю.С., Прокопьева О.Б., Мезенцева Е.А.

НИИ Иммунологии ГБОУ ВПО ЧелГМА Минздравсоцразвития России, г. Челябинск

Резюме. В системе *in vitro* изучено влияние эстриола в концентрациях, соответствующих первому, второму и третьему триместрам беременности, на фагоцитарную, бактерицидную активность моноцитов и на их способность к образованию внеклеточных ловушек. Данный гормон существенно не влияет на фагоцитарную функцию моноцитов, в концентрациях, соответствующих первому, второму и третьему триместрам беременности, приводит к усилению формирования внеклеточных ловушек и увеличению кислород-зависимой бактерицидности.

Ключевые слова: моноцитарные внеклеточные ловушки, эстриол, фагоцитоз.

Dolgushin I.I., Smirnova T.G., Savochkina A.Yu., Shishkova Yu.S., Prokopyeva O.B., Mezentseva E.A.

EFFECT OF ESTRIOLE ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF MONOCYTES *IN VITRO*

Abstract. Employing an *in vitro* cellular system, we have studied effects of estriol at physiological concentrations corresponding to the 1st, 2nd, and 3rd trimesters of pregnancy upon phagocytic, bactericidal activity of monocytes, and their ability to form extracellular traps. This steroid hormone does not significantly affect phagocytic function of monocytes at concentrations corresponding to the 1st, 2nd, and 3rd trimesters of pregnancy, however, leads to increased formation of extracellular traps and increase of oxygen-dependent bactericidal effects. (*Med. Immunol.*, 2012, vol. 14, N 4-5, pp 429-432)

Keywords: monocyte extracellular traps, estriol, phagocytosis.

Введение

Гормоны, продуцируемые при беременности, являются одним из ведущих звеньев биологических механизмов, обеспечивающих интеграцию всех процессов, лежащих в основе эмбрионального и фетального онтогенеза.

Эстриол — один из важных гормонов беременности, который участвует в характерных для гестационного процесса морфофункциональных изменениях репродуктивной системы и играет важную роль в регуляции контрактильной активности матки [4].

В настоящее время известно, что гормоны выполняют важную функцию иммуномодуляторов, обеспечивая взаимодействие и согласованность работы иммунной и эндокринной систем в ходе

оплодотворения и наступающей затем беременности [1].

Мононуклеарные фагоциты и нейтрофилы находятся в первом эшелоне развития защитных реакций. Обычно они первыми контактируют с «прорвавшимися» микроорганизмами и, как правило, обеспечивают их гибель и элиминацию [2].

На сегодняшний день известна и определена новая функция у мононуклеарных фагоцитов. В исследовании, проведенном в 2009 году немецкими учеными, опубликованы данные о том, что моноциты способны образовывать внеклеточные ловушки в ответ на воздействие наночастиц [8]. В дальнейшем изучено формирование моноцитарных внеклеточных ловушек в ответ на *M. abscessus* [7], *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* [10], а также под влиянием статинов [6].

Иностранными авторами показано наличие эстрогеновых рецепторов: мембранного ER- α и цитозольного ER- β на моноцитах и макрофагах человека [9].

Адрес для переписки:

Смирнова Татьяна Георгиевна
454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
Тел: (963) 089-29-82.
E-mail: tanya_bondarenko@list.ru

В связи с вышесказанным целью данной работы явилось изучение влияния эстриола на фагоцитарную, бактерицидную функции моноцитов и способность образовывать внеклеточные ловушки.

Материалы и методы

Нами было обследовано 15 условно здоровых небеременных женщин в возрасте от 18-35 лет в первую фазу менструального цикла. У женщин в сыворотке крови был определен эндогенный уровень свободного эстриола иммуноферментным методом с помощью тест-системы «ДРГ Эстриол свободный ИФА» производства ЗАО «ДРГ Техсистемс» (Москва) для исключения из исследования женщин, чьи показатели концентрации гормона выходили за пределы нормы (0,05-0,87 нг/мл) [3]. Фракцию мононуклеаров выделяли из гепаринизированной периферической венозной крови центрифугированием на градиенте фиколл-верографина плотностью 1,077 г/мл и дважды отмывали физиологическим раствором. Далее клетки инкубировали 30 минут при 37 °С с эстриолом в физиологических концентрациях, соответствующих их уровню в периферической крови в первый (2 нг/мл), второй (10 нг/мл) и третий (20 нг/мл) триместры беременности [5]. Для окрашивания моноцитарных ловушек использовали рабочий раствор акридинового оранжевого. Учет проводили с помощью люминесцентного микроскопа в нативном материале. Определяли процент моноцитов, образующих внеклеточные ловушки (рис. 1).

Оценку внутриклеточного кислород-зависимого метаболизма моноцитов периферической крови проводили с использованием НСТ-теста в модификации А.Н. Маянского и М.К. Виксмана (1979 г.). Подсчитывали активность, индекс спонтанного и индуцированного НСТ-теста. Изучение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови проводили по методу И.С. Фрейдлин (1986 г.) с использованием монодисперсного полистирольного латекса. Подсчитывали активность, интенсивность и фагоцитарное число моноцитов.

В качестве контроля использовали взвесь мононуклеаров, инкубируемых в тех же условиях, но без гормона. В ходе статистической обработки полученных данных использовали методы описательной статистики и дисперсионный анализ. Апостериорные сравнения в рамках дисперсионного комплекса проводили методом наименьшей значимой разности Фишера.

Результаты и обсуждение

Оценка влияния эстриола на фагоцитарную активность моноцитов представлена в таблице 1. При инкубации моноцитов с эстриолом во всех трех используемых концентрациях статистически значимых изменений фагоцитарной активности клеток не выявлено по сравнению с контрольной группой.

Влияние эстриола на внутриклеточный кислород-зависимый метаболизм моноцитов иллюстрирует таблица 2. Эстриол в концентрации, соответствующей первому триместру беремен-

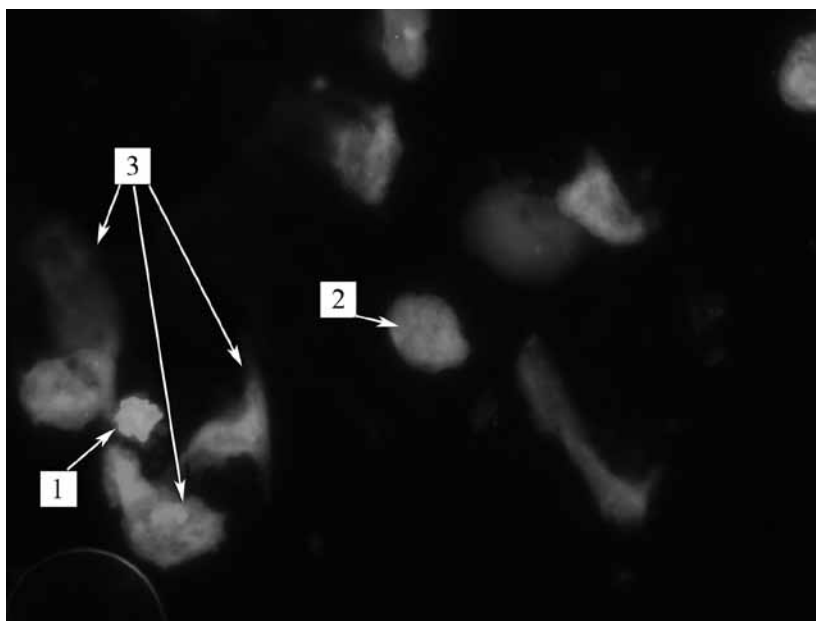


Рисунок 1. Нативный препарат мононуклеарной фракции. Люминесцентная микроскопия (окрашивание акридиновым оранжевым, $\times 1000$)

Примечание. 1 – лимфоцит, 2 – моноцит, 3 – моноцитарные внеклеточные ловушки.

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ ЭСТРИОЛА НА ФАГОЦИТАРНУЮ ФУНКЦИЮ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ (СРЕДНЕЕ ЗНАЧЕНИЕ [95% ДОВЕРИТЕЛЬНЫЙ ИНТЕРВАЛ]), n = 15

| № группы | Группа | Показатель | | |
|----------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | Фагоцитоз | | |
| | | Активность % | Интенсивность у.е. | ФЧ у.е. |
| 1 | Контроль | 55,0 (47,8-62,1) | 1,31 (1,02-1,65) | 2,40 (2,05-2,80) |
| 2 | Эстриол (2 нг/мл) | 54,2 (47,0-61,4) | 1,22 (0,94-1,55) | 2,19 (1,86-2,55) |
| 3 | Эстриол (10 нг/мл) | 57,2 (50,0-64,3) | 1,24 (0,96-1,58) | 2,17 (1,85-2,53) |
| 4 | Эстриол (20 нг/мл) | 56,1 (48,9-63,2) | 1,31 (1,02-1,66) | 2,35 (2,01-2,74) |

ности, приводит к увеличению активности спонтанного НСТ-теста и индекса индуцированного НСТ-теста; в концентрации, соответствующей второму триместру беременности, приводит к повышению активности и индекса как спонтанного, так и индуцированного НСТ-теста; и в концентрации, соответствующей третьему триместру беременности, приводит к возрастанию индекса индуцированного НСТ-теста по сравнению

с контрольной группой. Таким образом, эстриол во всех трех концентрациях приводит к значимому возрастанию индекса индуцированного НСТ-теста по сравнению с контрольной группой.

При изучении влияния эстриола на способность моноцитов периферической крови к образованию внеклеточных ловушек (табл. 3) установлено, что эстриол в концентрациях, соответствующих первому, второму и третьему триме-

ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ ЭСТРИОЛА НА КИСЛОРОД-ЗАВИСИМУЮ БАКТЕРИЦИДНУЮ ФУНКЦИЮ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ (СРЕДНЕЕ ЗНАЧЕНИЕ [95% ДОВЕРИТЕЛЬНЫЙ ИНТЕРВАЛ]), n = 15

| № гр. | Группа | Показатель | | | |
|-------|--------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| | | НСТс | | НСТи | |
| | | Активность % | Индекс у.е. | Активность % | Индекс у.е. |
| 1 | Контроль | 5,2 (2,8-8,1) | 0,062 (0,035-0,091) | 3,8 (1,9-6,4) | 0,049 (0,026-0,073) |
| 2 | Эстриол (2 нг/мл) | 7,3* (4,5-10,7) | 0,085 (0,056-0,115) | 5,7 (3,3-8,6) | 0,074* (0,050-0,099) |
| 3 | Эстриол (10 нг/мл) | 9,1* (5,9-12,8) | 0,108* (0,078-0,139) | 6,8* (4,1-10,0) | 0,087* (0,063-0,113) |
| 4 | Эстриол (20 нг/мл) | 6,4 (3,8-9,7) | 0,078 (0,049-0,108) | 4,8 (2,6-7,6) | 0,074* (0,049-0,099) |

Примечание. * – статистически значимые различия при сравнении с контрольной группой (p < 0,05).

ТАБЛИЦА 3. ВЛИЯНИЕ ЭСТРИОЛА НА СПОСОБНОСТЬ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ К ОБРАЗОВАНИЮ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК (СРЕДНЕЕ ЗНАЧЕНИЕ [95% ДОВЕРИТЕЛЬНЫЙ ИНТЕРВАЛ]), n = 15

| № группы | Группа | Моноцитарные внеклеточные ловушки % |
|----------|--------------------|-------------------------------------|
| 1 | Контроль | 4,2 (0,7-10,4) |
| 2 | Эстриол (2 нг/мл) | 21,6* (12,5-32,4) |
| 3 | Эстриол (10 нг/мл) | 16,3* (8,4-26,3) |
| 4 | Эстриол (20 нг/мл) | 22,8* (13,4-33,7) |

Примечание. * – статистически значимые различия при сравнении с контрольной группой (p < 0,05).

страм беременности, стимулирует формирование внеклеточных ловушек моноцитами.

Таким образом, в результате проведенного исследования можно заключить, что один из основных гормонов беременности — эстриол в концентрациях, соответствующих первому, второму и третьему триместрам беременности, оказывает стимулирующее действие на формирование моноцитарных внеклеточных ловушек и на кислород-зависимую бактерицидную активность моноцитов, но не влияет на показатели фагоцитарной активности.

Известно, что моноциты находятся в циркуляции в течение 2-5 дней, после чего они мигрируют в различные органы и ткани, в том числе и репродуктивные, обеспечивая защиту от патогенных микроорганизмов, которая осуществляется не только путем фагоцитоза, но и путем формирования внеклеточных ловушек.

Образование ловушек дополняет известные антимикробные функции моноцитов и в некоторых случаях, возможно, является одним из эффективных механизмов обеспечения врожденной противоинфекционной защиты слизистых оболочек и тканей как матери, так и плода.

Список литературы

1. Гадиева Ф.Г. Взаимосвязь иммунной и эндокринной систем у женщин репродуктивного возраста // Акушерство и гинекология. — 2001. — № 1. — С. 11-13.
2. Игнатов П.Е. Иммуитет и инфекция. — М.: Время, 2002. — 352 с.
3. Инструкция по применению набора реагентов тест-система иммуноферментная для количественного определения свободного эстриола «ДРГ Эстриол свободный ИФА». — 2009. — 4 с.
4. Минкина А.И., Рымашевская Э.П., Курганова Л.С., Польщикова Л.А. Гормональные аспекты физиологической беременности. — Ростов на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 1987. — 122 с.
5. Ширшев С.В. Механизмы иммунноэндокринного контроля процессов репродукции: в 2 т. — Екатеринбург: УрО РАН, 2002. — 557 с.
6. Chow O., Kockritz-Blickwede M., Bright T. et al. Statins enhance formation of phagocyte extracellular traps // Cell Host & Microbe. — 2010. — Vol. 8. — P. 445-454.
7. Jonsson B. Epidemiological and immunological studies of environmental mycobacteria with focus on Mycobacterium abscessus: thesis doctor of medicine. — Sweden, 2009. — P. 78.
8. Matthias B., Heidrun A., Gabriele Z., Groll J. Phagocytosis independent extracellular nanoparticle clearance by human immune cells // Nano Lett. — 2010. — Vol. 10. — P. 59-63.
9. Subramanian M., Shaha C. Oestrogen modulates human macrophage apoptosis via differential signalling through oestrogen receptor-alpha and beta // J. Cell Mol Med. — 2009. — Vol. 13. — P. 2317-29.
10. Webster J., Daigneault M., Bewley M. et al. Distinct cell death programs in monocytes regulate innate responses causes of invasive bacterial disease following challenge with common // The Journal of Immunology. — 2010. — Vol. 185. — P. 2968-2979.

поступила в редакцию 18.01.2012

отправлена на доработку 29.01.2012

принята к печати 02.02.2012