

УДК 612 – 591.1

ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ

Иваненко М.О.

*Государственное учреждение «Институт медицинской радиологии С.П. Григорьева НАМН
Украины», Харьков, Украина
E-mail: ivanenko-mar@mail.ru*

Проанализированы закономерности изменения первичного звена иммунорезистентности – фагоцитарной активности нейтрофилов и изменения ферментативной функции фагоцитов в НСТ-тесте; изменения уровней иммуноглобулина А на модели индуцированного липополисахаридом воспаления у экспериментальных животных разного возраста.

Ключевые слова: сыворотка крови, фагоцитоз, иммуноглобулин А, факторы резистентности.

ВВЕДЕНИЕ

На фоне меняющихся условий окружающей среды, увеличение бактериальной и вирусной инфекций возросло количество болезней цивилизации (сахарный диабет, злокачественные новообразования), которые связаны с развитием дисбактериоза, хронических и воспалительных реакций [1, 2].

Клиническая значимость воспаления проявляется, когда имеет место преобладание раздражения над физиологической реактивностью, что в конечном счете приводит к гипертрофии данного процесса, переходящего в гиперболизированную форму [3].

Существует концепция о воспалительном процессе как исключительно компенсаторной реакции, возникающей в условиях функционально недостаточной активности нейтрофильного фагоцитоза в связи с наличием в тканях агрессивных факторов, которые не могут быть устранены мерами физиологического реагирования этой защитной системы [4].

В случае преобладания уровня антигенов и токсинов над потенциальной функциональной активностью фагоцита наступает его гиперстимуляция и образующиеся при этом токсичные продукты метаболизма фагоцита (реактивные метаболиты кислорода и ферменты) усугубляют микробное повреждение тканей первичного очага. Важнейшую роль в борьбе с антигенами играет способность фагоцитов к завершённому фагоцитозу.

И.И.Мечников, рассматривал воспаление как совершенную защитно-приспособительную реакцию организма на повреждающий фактор, и его теория получила дальнейшее развитие в работах современных исследователей,

рассматривающих воспалительный процесс как защитную реакцию, нередко переходящую в повреждение [5].

И.И.Мечников отвёл фагоцитам ведущую роль в борьбе с инфекционными заболеваниями, он утверждал, что «...иммунитет в инфекционных болезнях должен быть приписан активной цитологической деятельности. Среди клеточных элементов фагоциты должны занять первое место. Чувствительность и подвижность, способность поглощать твердые тела и вырабатывать вещества, могущие разрушать и переваривать микробов — вот главные факторы деятельности фагоцитов. Если эти свойства в достаточной мере развиты и парализуют патогенное действие микробов, тогда животное от природы иммуно ... когда фагоциты не обнаруживают наличия всех или одного из этих свойств в достаточной степени, то животное восприимчиво к инфекции...» [6].

Дальнейшее развитие науки показало, что фагоцит осуществляет элиминацию не только патогенных микробов, но и всего чужеродного с антигенными свойствами, что может внедриться или возникнуть в макроорганизме. Это дало основание академику Р.В. Петрову дать следующее определение иммунитета: «Иммунитет – способ защиты организма от живых тел и веществ, несущих на себе признаки генетической чужеродности» [7].

В целом можно сказать, что иммунитет осуществляет защиту организма от проникновения чужеродных экзогенных (микробов) или возникновения чужеродных эндогенных агентов, то есть осуществляет в основном антиинфекционную и противоопухолевую защиту. В этом заключается сущность иммунологического надзора, выполняемого клетками иммунной системы [8]. Целью работы явилась оценка особенностей взаимодействия первичных клеточных и вторичных гуморальных иммунофизиологических факторов резистентности при индуцированном воспалительном процессе на экспериментальной модели.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В нашей работе экспериментальные исследования были выполнены на 3- и 22-месячных белых беспородных крысах-самцах. Всего в работе использованы 200 животных массой 140–240 г. Контрольной группой служили животные такого же возраста, что и подопытные крысы. Животные содержались в условиях стандартного светового и пищевого режима (вода и еда *ab libitum*).

Исследования проводили в соответствии с «Общими этическими принципами проведения экспериментов на животных» (Украина, 2001 г.), которые согласуются с положениями европейской конвенции «О защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1986 г.) [9 - 11].

Воспроизводили воспаление и дисбиоз в тонкой кишке внутрибрюшинными инъекциями липополисахарида (ЛПС) (препарат липополисахаридов из *Escherichia coli* штамм 0111:B4 (“Sigma” США), в расчете 100 мкг /кг массы тела в 1 мл изотонического раствора NaCl. Введение бактериального липополисахарида экспериментальным животным является моделью, позволяющей индуцировать воспалительные реакции [12]. В ходе эксперимента определяли фагоцитарную активность нейтрофилов методом завершённого фагоцитоза с тест-культурой,

производили определение общей окислительно-восстановительной активности нейтрофилов в тесте восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) и определяли количество иммуноглобулина А (Ig А) турбодиметрическим методом. Материалом для исследования служили сыворотка крови и форменные элементы крови экспериментальных животных. Полученные результаты обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента (пакет программ БИОСТАТ версия 4.03).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ) у контрольных крыс разного возраста достоверно не различались. ФИ соответствовал $(81,17 \pm 5,4) \%$ и $(82,33 \pm 5,4) \%$, а ФЧ составляло $3,62 \pm 0,20$ усл. ед. и $3,71 \pm 0,20$ усл. ед. у 3- и 22-месячных крыс, соответственно. Индекс завершенности (ИЗ) фагоцитоза у 3-месячных животных был достоверно выше по сравнению с этим показателем 22-месячных крыс ($1,44 \pm 0,03$ усл. ед. против $1,13 \pm 0,03$ усл. ед.) (табл.1). У 3-месячных крыс с модельным воспалением ФИ и ФЧ достоверно не различались от данных показателей у контрольных животных этого же возраста (см.табл. 1).

Индекс завершенности фагоцитоза у 3-месячных крыс с воспалением был достоверно ниже контрольных величин и составлял $1,25 \pm 0,03$ усл. ед. У 22-месячных животных с моделью воспаления все исследуемые показатели активности нейтрофилов были ниже, чем у контрольных крыс (см.табл.1).

Таблица 1.

Функциональная активность нейтрофилов у контрольных животных и у животных с моделью воспаления

Возраст крыс	Животные					
	Контрольные			С моделью воспаления		
	ФИ, %	ФЧ, усл. ед.	ИЗ, усл. ед.	ФИ, %	ФЧ, усл. ед.	ИЗ, усл. ед.
3 мес.	$81,17 \pm 5,40$	$3,62 \pm 0,20$	$1,44 \pm 0,03$	$76,71 \pm 5,40$	$3,71 \pm 0,20$	$1,25 \pm 0,03^*$
22 мес.	$82,33 \pm 5,40$	$3,71 \pm 0,20$	$1,13 \pm 0,03$	$66,84 \pm 5,40^*$	$2,86 \pm 0,20$	$0,95 \pm 0,03^{*x}$

Примечания. Различия достоверны: 1) * – по сравнению с контролем,

2) ^x – между возрастными группами, $P < 0,05$.

Индекс завершенности фагоцитоза у 3-месячных крыс с воспалением был достоверно ниже контрольных величин и составлял $1,25 \pm 0,03$ усл. ед. У 22-месячных животных с моделью воспаления все исследуемые показатели активности нейтрофилов были ниже, чем у контрольных крыс (см. табл. 1). Полученные нами данные о незавершенности реакций фагоцитоза у 3-месячных крыс с моделью воспаления свидетельствуют о диссоциации процессов поглощения и переваривания у данных животных. У 22-месячных крыс наблюдается снижение

активности нейтрофилов на всех этапах фагоцитоза. Таким образом, разрешенность воспаления зависит от возрастных особенностей течения воспалительных реакций.

Показатели НСТ-теста у экспериментальных животных с моделью воспаления в разных возрастных группах

При исследовании метаболической активности нейтрофилов с помощью НСТ-теста у контрольных животных было обнаружено более высокое значение индекса стимуляции (ИС) у 3-месячных по сравнению с этим показателем у 22-месячных крыс (рис. 1).

У 3- и 22-месячных экспериментальных животных с моделью воспаления наблюдалось повышение метаболической активности нейтрофилов. У животных с моделью воспаления обеих возрастных групп средний цитохимический коэффициент спонтанный (СЦК сп) и средний цитохимический коэффициент стимулированный (СЦК ст) были выше по сравнению с показателями контрольных групп (рис. 2).

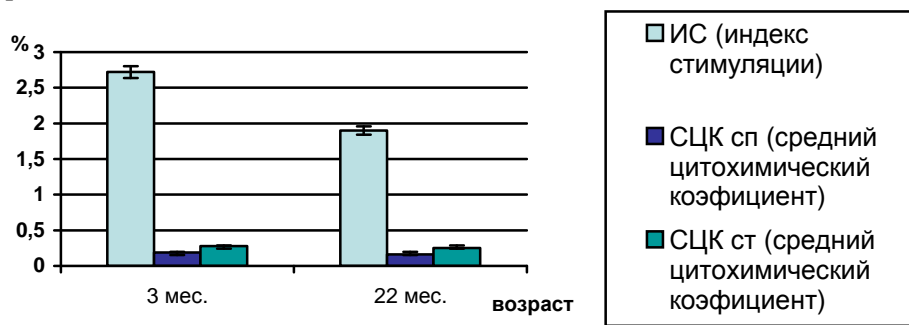


Рис. 1. Показатели НСТ-теста у контрольных животных 3 и 22- месячного возраста

При этом показатель ИС у животных с моделью воспаления был ниже по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о наступлении у этих животных фазы супрессии или истощения функциональной активности нейтрофилов.

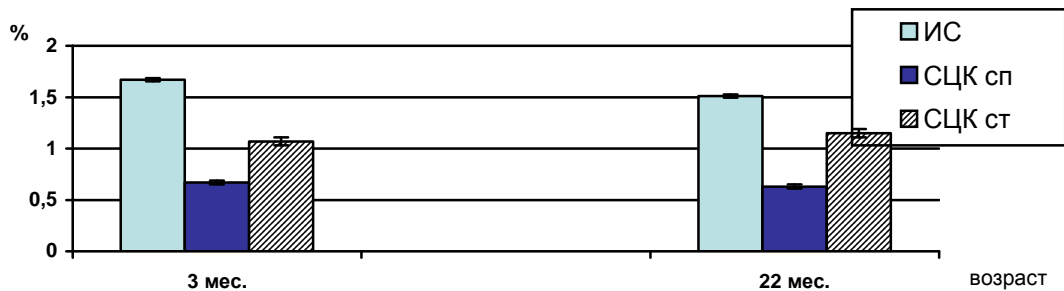


Рис. 2. Показатели НСТ-теста у животных 3- и 22-месячного возраста с моделью воспаления

Оценка содержания иммуноглобулина А в сыворотке 3- и 22-месячных контрольных животных и животных с моделью воспаления

В организации адаптивного иммунного ответа на поверхности слизистой оболочки эпителиальные клетки принимают активное участие. Эта функция включает взаимодействие клеток эпителия с антигенпрезентирующими и другими лимфатическими клетками. В захвате из просвета полости антигенов активное участие принимают включенные в эпителиальные фолликулы М-клетки, которые далее представляют захваченные иммуногены лимфоидным тканям слизистой оболочки, которые могут формировать на них иммунные реакции [13,14].

Отсутствие у М-клеток прикрывающего гликокаликса способствует захвату ими комменсальных бактерий и представлению их дендритным клеткам (DC), в которых небольшое количество бактерий может выживать и вызывать Т-клеточные независимые Ig A реакции [15, 16].

Сывороточный иммуноглобулин А (IgA) составляет 10-15% от общего количества иммуноглобулинов. К иммуноглобулинам класса А относятся антитела, обеспечивающие местный иммунитет: защита желудочно-кишечного тракта, дыхательных и мочеполовых путей от инфекций.

Микрометод определения содержания сывороточного иммуноглобулина класса А основан на иммунологическом феномене преципитации. Антигены (в данном случае иммуноглобулины исследуемой сыворотки) образуют прочные иммунные комплексы с антителами (моноспецифические сыворотки против иммуноглобулинов).

Исследование концентрации Ig А в сыворотке показало снижение этого показателя в обеих группах животных с моделью воспаления относительно контрольных значений. Более выраженное снижение отмечено у 3-месячных крыс ($0,42 \pm 0,05$ г/л против $1,30 \pm 0,09$ г/л в контроле) (рис. 3.). Снижение концентрации Ig А может свидетельствовать о недостаточности гуморального звена иммунитета, а также адсорбции его на иммунных комплексах [17, 18].

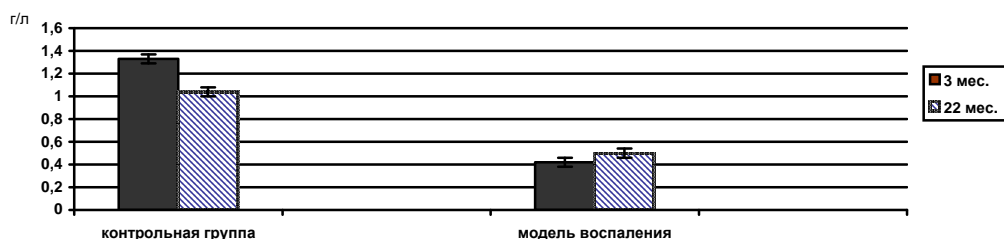


Рис. 3. Содержания Ig А в сыворотке 3- и 22-месячных контрольных животных и животных с моделью воспаления

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о нарушении первичной клеточной и вторичного гуморального звена иммунитета при старении организма и снижении

адаптивных реакций иммунной системы при воспалении вследствие увеличения антигенного воздействия.

1. Все исследуемые показатели фагоцитарной активности нейтрофилов у 22-месячных животных с моделью воспаления были ниже чем у контрольных крыс этого возраста. Фагоцитарное число и фагоцитарный индекс нейтрофилов у 3-месячных крыс с моделью воспаления достоверно не отличались от контрольных показателей, а индекс завершенности фагоцитоза был достоверно ниже по сравнению с контролем.
2. Снижение резервных возможностей фагоцитирующих клеток было более выражено у 22-месячных животных. Метаболическая активность нейтрофилов была выше, а метаболический резерв этих клеток меньше у 3- и 22-месячных крыс с моделью воспаления по сравнению с показателями контрольных групп.
3. Уровни иммуноглобулина А в сыворотке крови 3- и 22-месячных крыс с моделью воспаления были снижены по сравнению с этим показателем у контрольных животных.

Список литературы

1. Бережная Н.М. Иммунология злокачественного роста. / Н.М. Бережная, В.Ф. Чехун– Киев, Наукова думка, 2005. – 790 с.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. / Дранник Г.Н. – Киев., 2010. – 552 с.
3. Поликар А. Воспалительные реакции и их динамика: биология, патология и фармакодинамика: Пер. с франц. / Поликар А. — М.: Новосибирск, 1969. – 95 с.
4. Маянский Д.Н. Роль нейтрофилов в ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда / Д.Н. Маянский, С.Д. Маянская // Тер. архив. – 2001. – № 12. – С. 84– 88.
5. Цуман В.Г. Гнойно-септические осложнения острых хирургических заболеваний у детей / В.Г. Цуман, А.Е. Машков – М.: ОАО «Медицина», 2005. – 288 с.
6. Мечников И.И. Лекции о сравнительной патологии воспаления, читанные в апреле и мае 1891г. в Пастеровском Институте / Мечников И.И. – СПб.: К. Л. Риккера, – 1892. – 162 с.
7. Петров Р.В. Иммунология / Петров Р.В. – М.: Медицина, – 1987. – 414 с.
8. Волянский Ю.Л. Развитие идей И.И. Мечникова в современном естествознании. / Ю.Л. Волянский, Р.М. Хаитов, В.И. Мальцев // Здоров'я України Мед. газета України – 2005.– №10 (199) – С. 60–61.
9. Врачебные ассоциации, медицинская этика и общемедицинские проблемы // Сборник официальных документов. – М.: Медицина, 1995. – С. 7
10. Комаров Ф.И. Роль проблемной комиссии «Хронобиология и хрономедицины» РАМН в развитии внутренней медицины / Ф.И. Комаров, С.И. Рапорт, С.М. Чибисов // Клиническая медицина. – 2007. – №9. – С. 14–16.
11. Кундиев Ю. И. Состояние биоэтики в Украине / Ю. И. Кундиев // Медичний Всесвіт. – 2006. – Т. II, № 1 – 2. – С.41–46.
12. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications / R. Dantzer // Ann. N Y acad. Sci. – 2001. – Vol. 933. – P. 222–234.
13. Sansonetti P. War and peace at mucosal surfaces / P. Sansonetti // Immunology. – 2004. – Vol. 4 – P. 953–964.
14. Pamer E.C. Immune responses to commensal and environmental microbes/ E.C. Pamer // Nat. Immunol. – 2007. – Vol. 8 (11) – P. 1173–1178.
15. Neutra M.R. Microbial pathogenesis and the intestinal epithelial cell. / M.R. Neutra, P. Sansonetti //ASM Press. Washington DC. – 2003. – P. 23–42.
16. Rakoff-Nahoum S. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors for intestinal homeostasis. / S. Rakoff-Nahoum, J. Paglino, F. Esmali-Varzaeh, et al. //Cell. – 2004. – Vol. 118 (2) – P. 229–241.

17. Лебедев К.А. Иммунограмма в клинической практике (введение в прикладную иммунологию) / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина // М.: Наука. – 1990. – 224 с.
18. Бондаренко В.М. Механизмы транслокации бактериальной аутофлоры в развитии эндогенной инфекции / В.М. Бондаренко // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2013. – №3 – С. 1–21.

FEATURE IMMUNORESISTANCE IN INDUCED INFLAMMATORY PROCESSES IN EXPERIMENTAL MODELS

Ivanenko M.O.

*State Institution «Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine
E mail: ivanenko-mar@mail.ru*

Analyzed patterns of change in primary care immunoresistance - phagocytic activity of neutrophils and changes in enzymatic function of phagocytes in HCT-test; changes in the levels of immunoglobulin A model of lipopolysaccharide-induced inflammation in experimental animals of different ages. Our data reveal a violation of the primary cell and secondary humoral immunity in aging and reduce adaptive responses of the immune system during inflammation by increasing the antigenic influence.

Phagocytic number and phagocytic index of neutrophils in 3-month rat model of inflammation was not significantly different from the targets, and an index of completion of phagocytosis was significantly lower compared with controls. All parameters studied neutrophil activity in 22-month-old animal models of inflammation were lower than the control rats in this age. Observed an increase in metabolic activity of neutrophils and reduce their metabolic reserve in 3- and 22-month-old rat model of inflammation compared with control groups. Reducing the reserve capacity of phagocytic cells was more pronounced in 22- month-old animals. The levels of immunoglobulin A in serum of the third 22-month rat model of inflammation was reduced compared with that in the control animals.

The findings suggest that the age characteristics of the primary violations of the cell and secondary humoral immunity and reduction of adaptive responses of the immune system during inflammation by increasing the antigenic influence.

The assessment we conducted the primary indicators of nonspecific resistance and humoral immunity secondary indicators identified various adaptive responses in young and old animals.

Keywords: blood serum, phagocytosis, immunoglobulin A resistance factors.

References

1. Gentle N.M., Chehun V.F. Immunology of malignant growth, Kiev, Naukova dumka, 2005, 790 p.
2. Drannik G.N. Clinical Immunology and Allergology, Kiev, 2010, 552 p.
3. Polícar A. Inflammatory reactions and their dynamics: biology, pathology and pharmacodynamics, Per. with France. M.: Novosibirsk, 1969, 95 p.
4. Mayansky D.N., Mayanskaya S.D. Role of neutrophils in the ischemic and reperfusion injury of the myocardium, Ter. Archive, 2001, No. 12, pp. 84-88.

5. Cuman V.G., Mashkov A.E. CUM VG septic complications of acute surgical diseases in children M.: JSC "Medicina", 2005, 288 p.
6. Mechnikov I.I. Lectures on the comparative pathology of inflammation, read in April and May 1891. at the Pasteur Institute, SPb.: Rikhera K. L., 1892, 162 p.
7. Petrov R.V. Immunology M.: "Medicina", 1987, 414 p.
8. Volyansky Yu.L., Khaitov R.M., Maltsev V.I. Development of ideas Mechnikov in modern science, Health Protection of Ukraine Med. Ukrainian newspaper, 2005, No. 10 (199), pp. 60-61.
9. Doctors Association, medical ethics and medical problems, Collection of official documents, M.: "Medicina", 1995, pp. 7
10. Komarov F.I., Report S.I., Chibisov S.M. Role Problem Commission "Chronobiology and chronomedicine" RAMS in the development of internal medicine, Clinical Medicine, 2007, No. 9, pp. 14-16.
11. Kundiev Y.I. Condition of bioethics in Ukraine, Medichny Vsesvit, 2006, vol.II, No. 1-2, pp. 41-46.
12. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications, Ann. N Y Acad. Sci., 2001, vol. 933, pp. 222-234.
13. Sansonetti P. War and peace at mucosal surfaces, Immunology, 2004, vol. 4, pp. 953-964.
14. Pamer E.C. Immune responses to commensal and environmental microbes, Nat. Immunol., 2007, vol. 8 (11), pp. 1173-1178.
15. Neutra M.R., Sansonetti P. Microbial pathogenesis and the intestinal epithelial cell, ASM Press. Washington D.C., 2003, pp. 23-42.
16. Rakoff-Nahoum S., Paglino J., Esmali-Varzaeh F., et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors for intestinal homeostasis, Cell, 2004, vol. 118 (2), pp. 29-241.
17. Lebedev K.A., Ponyakina I. D. Immunogram in clinical practice (introduction to applied immunology), M.: Nauka, 1990, 224 p.
18. Bondarenko V.M. Mechanisms of bacterial translocation in the development of endogenous autoflora infection, Bulletin of the Orenburg Scientific Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences (e-zine), 2013, No. 3, pp. 1-21, <http://elmag.uran.ru>.

Поступила в редакцию 24.10.2014 г.