

І. М. Шевченко, С. П. Пашолок

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ

Одеський державний медичний університет

Вступ

Вивчення функціонального стану імунної системи при експериментальному токсичному гепатиті не є новим, в літературі описано результати подібних експериментів [1–3]. Як гепатотоксини дослідники застосовували не лише чотирихлористий вуглець (CCl_4), але й інші гепатотоксини, наприклад, D-галактозамін [1]. Показано, що при токсичному ураженні печінки відбуваються суттєві зрушення в імунній системі, які супроводжуються пригніченням імунної відповіді [1–4]. Тим же часом у всіх роботах, що цитуються, не подано оцінку функціонального стану імунної системи у щодобовій динаміці розвитку патологічного процесу, немає чіткого опису механізмів впливу токсичного ураження печінки на імунну систему, пропонуються різні схеми введення гепатотропних токсинів [1; 2; 5–7].

Вивчення функціонального стану деяких ланок імунної системи дослідники проводили на 5, 10 і 20-ту добу після введення CCl_4 , але за даними, отриманими в нашій лабораторії, суттєві зрушення імунної системи спостерігаються саме на 1-шу, 2-гу та 3-тю добу, а в більш пізні терміни імунний статус тварин, які вижили, наближається до норми. При багаторазовому введенні токсину важко визначити, з якого моменту вести відлік початку розвитку патологічного процесу, отже, і вивчати динаміку змін в імунній системі.

Метою експерименту було вивчення щодобової динаміки

та механізмів розвитку імунної відповіді в умовах токсичного ураження печінки після одноразового ентерального введення CCl_4 .

Матеріали та методи дослідження

В експерименті використано 180 щурів лінії Вістар у віці 4 міс масою 230–250 г. Тварин утримували на стандартному раціоні виварію в умовах вільного пересування та доступу до води. Роботу з лабораторними тваринами проводили в умовах дотримання загальноприйнятих нормативних і біолого-етичних вимог.

Сформовано три референтних групи:

1) тварини з гострим токсичним гепатитом (ГТГ) без імунізації;

2) імунізовані тварини до введення гепатотоксину (CCl_4), причому практично сформована імунна відповідь припадає на момент введення отрути;

3) тварини імунізовані одночасно з введенням CCl_4 , що дало можливість простежити в динаміці особливості формування імунної відповіді в уражених щурів.

Спричинювали ГТГ одноразовим ентеральним введенням 50%-го оливкоолійного розчину CCl_4 дозою 0,5 мл/100 г [5]. Імунізацію проводили за допомогою одноразового внутрішньочеревинного введення еритроцитів барана (ЕБ) дозою $5,0 \cdot 10^9$ клітин (0,5 мл 50%-го розчину). Дослідження показників імунної відповіді проводили в динаміці на 1-шу, 2-гу, 3-тю, 5-ту, 7-му, 10-ту, 14-ту та

21-шу добу після введення гепатотоксину. Показником імунної відповіді є функціональний стан поліморфно-ядерних лейкоцитів (ПМЯЛ): фагоцитарне число (ФЧ) та фагоцитарний індекс (ФІ), вміст катіонних білків і тест із нітроблакитним тетразолієм, кількість антитілоутворювальних клітин (АУК) і рівень титрів гемолізину, кількість розеткоутворюючих Т- і В-лімфоцитів, а також їх активність [8; 9; 11].

Для підтвердження розвитку гепатиту проводили біохімічні та морфологічні дослідження за методиками, викладеними в роботах [10; 11]. Крім того, спостерігали за загальним станом тварин та їх виживаністю.

Результати дослідження та їх обговорення

Загибель тварин у всіх референтних групах становила приблизно 50 %, причому максимум летальності припадав на 2-гу добу після затруєння CCl_4 . Після 5-ї доби з початку експерименту загибелі тварин не спостерігалось.

Ці результати підтверджують правильність обраного методичного підходу до вивчення функціонування імунної системи в уражених тварин.

На першу-третю добу ГТГ тварини були малорухливими, перебували в коматозному стані, майже не брали корм, вживали багато води. До 5-ї доби активність тварин збільшилася, вони починали їсти, на 7-му добу після затруєння експериментальні щури зовнішньо нічим не відрізнялися від інтактних.



При ГТГ зміни активності ферментів цитолізу (АЛТ, АСТ) і холестази (ЛФ, ГГТП) були односпрямованими і полягали в різкому зростанні їх активності майже в 2–3 рази. Відновлення активності ферментів відбувалося на 5-ту добу експерименту. В печінці відзначалися порушення мікроструктури, зміни в паренхімі, вмісті нейтральних ліпідів і глікогену. Ці зміни класифіковано як неспецифічний реактивний гепатит.

Морфологічні зміни спостерігалися вже через 24 год після введення токсину і зростали до 3-ї доби експерименту. Починаючи з 5-ї доби, морфологічна картина печінки змінювалася на краще, на 21-шу добу практично не відрізнялася від вихідного рівня. Найбільші зрушення в імунному статусі спостерігалися на 2-гу та 3-тю добу експериментального токсичного гепатиту. Вони полягали в різкому пригніченні фагоцитарної та клітинної ланок імунної системи, проте функціональний стан гуморальної ланки пригнічувався меншою мірою.

Різко знизилася фагоцитарна активність нейтрофільних лейкоцитів, що, ймовірно, пов'язано з порушенням структури їх біомембранного комплексу. Зменшилася кількість розеткоутворювальних лімфоцитів у крові, селезінці, мезентеріальних лімфатичних вузлах. Активність фагоцитарної ланки

імунної системи почала відновлюватися з 5-ї доби ГТГ і досягла показників контрольної групи до 10-ї доби. На фоні різкого пригнічення фагоцитарної активності протягом перших 3 днів спостерігалось зростання середнього цитохімічного коефіцієнта катіонних білків із подальшим зниженням, починаючи з 5-ї доби спостережень, і стабілізацією на рівні контрольних величин, починаючи з 7-ї доби експерименту.

Збільшення цього показника на фоні пригнічення поглинальної здатності фагоцитів свідчить про дисбаланс фагоцитарної функції (таблиця).

Указані зміни в системі фагоцитозу можна пояснити ймовірною загибеллю більшої частини лейкоцитів периферичної крові та їх нагромадженням в органі-мішені. В гемоциркуляцію потрапляють «свіжі» клітини, які відрізняються неповною здатністю щодо фагоцитарної активності та містять багато катіонних білків.

Показники клітинного імунітету відновлюються повільніше, хвилеподібно, а кількість Т-лімфоцитів крові, селезінки та мезентеріальних лімфатичних вузлів навіть на 14-ту добу після затруєння досягає показників контрольної групи, лише на 20-ту добу ці показники відповідають нормі. З наведеного можна зробити висновок, що ураження печінки CCl_4 найбільш тяжко позначається на

стані клітинної ланки імунної системи, що, ймовірно, пов'язано з порушенням синтезу в печінці імунорегуляторних факторів (рисунок).

Результати досліджень, проведених у 2-й і 3-й групах, свідчать, що вже через добу після затруєння тварин CCl_4 на максимумі розвитку імунної відповіді відбуваються суттєві зрушення як відносного, так і абсолютного вмісту клітин селезінки, що проявляється пригніченням процесів проліферації та диференціювання, які можна охарактеризувати як специфічну відповідь на токсичний вплив гепатотропної отрути. В периферичній крові вміст Т-лімфоцитів, починаючи з 1-ї доби після введення CCl_4 і ЕБ, зменшується майже вдвічі порівняно з таким в імунізованих тварин. Зниження цього показника спостерігалось протягом 10 наступних днів, тобто протягом усього періоду розвитку ГТГ, і лише на 15-ту добу, а саме до початку морфологічної та функціональної нормалізації печінки, кількість Т-лімфоцитів відповідала даним контрольної групи імунізованих тварин. На 21-шу добу спостережень кількість цих клітин відповідала показнику в інтактних тварин.

Рецепторна активність В-лімфоцитів загалом мала таку ж динаміку, за винятком селезінки. У цьому органі протягом перших 5 днів вміст активних В-лім-

Таблиця

Динаміка кількості антитілоутворювальних клітин і титрів антитіл у щурів при одночасному введенні CCl_4 та імунізації, $X \pm m_x$

Показники	Доба після введення ЕБ				
	4-та	5-та	7-ма	10-та	14-та
АУК селезінки	$473,5 \pm 23,4$	$432,6 \pm 17,5$	$216,6 \pm 19,4^*$	$175,5 \pm 20,1^*$	$142,2 \pm 16,5^*$
	$621,5 \pm 18,7^{**}$	$613,0 \pm 21,4^{**}$	$291,8 \pm 16,4^{**}$	$305,6 \pm 18,2^{**}$	$318,1 \pm 17,5^{**}$
АУК регіонарних лімфовузлів	$5,16 \pm 0,41$	$5,32 \pm 0,38$	$3,13 \pm 0,32^*$	$2,99 \pm 0,81^*$	$2,51 \pm 0,24^*$
	$8,16 \pm 0,34^{**}$	$8,05 \pm 0,51^{**}$	$4,84 \pm 0,43^{**}$	$5,31 \pm 0,36^{**}$	$5,33 \pm 0,39^{**}$
Гемолізину сироватки крові	—	$2,63 \pm 0,12$	$2,84 \pm 0,21$	$2,51 \pm 0,17$	$2,12 \pm 0,14^*$
	—	$3,90 \pm 0,11^{**}$	$5,80 \pm 0,19^{**}$	$4,70 \pm 0,16^{**}$	$2,90 \pm 0,21^{**}$

Примітка. Кількість АУК на 10^6 ядровмісних клітин; рівень гемолізину — \log_2 титрів антитіл; * — вірогідна різниця з початковим рівнем ($P < 0,05$); ** — вірогідна різниця з контролем ($P < 0,05$). У чисельнику — показники тварин із ГТГ, у знаменнику — показники контрольної групи (імунізовані тварини).



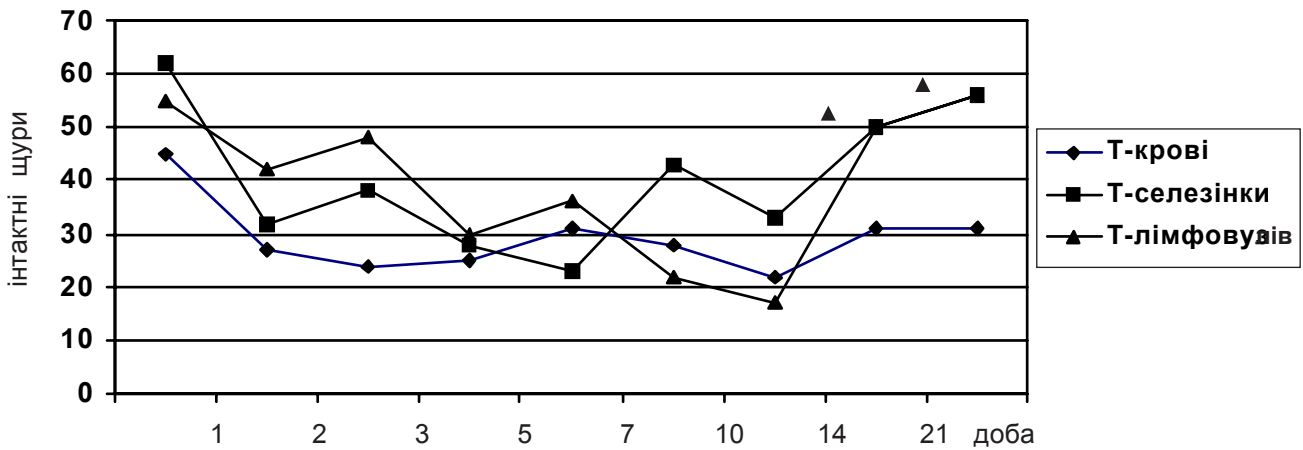


Рисунок. Динаміка вмісту Т-лімфоцитів при токсичному гепатиті в різні терміни спостережень

фоцитів був нижчим, ніж у контрольній групі. На 7-му добу їх кількість вирівнюється, а до 10-ї доби спостережень знову наближається до показників у дослідній групі.

Отримані дані дозволяють зробити висновок, що CCl_4 має токсичний вплив на клітини імунної системи. Останні, ймовірно, дуже чутливі протягом усіх фаз формування імунної відповіді, включаючи максимум нагромадження АУК (4–5-та доба після введення ЕБ). На користь цього свідчать результати цитологічних досліджень селезінки у третій серії дослідів, коли CCl_4 вводили на 4-ту добу після імунізації тварин ЕБ, тобто в день максимального розвитку клітинних реакцій, спрямованих на біосинтез специфічних антитіл.

Введення гепатотропної отрути одночасно з імунізацією щурів призводило до більш виражених порушень у всіх трьох основних ланках імунної системи порівняно з тваринами 2-ї групи, причому ці зміни стосуються не лише регіонарних лімфовузлів, але й селезінки, що бере участь у загальній системній імунній відповіді, а також позначаються на вмісті та функціях циркулюючих у периферичному кровотоці клітин імунної системи.

Отримані результати свідчать про суттєве зниження імунної відповіді на сторонній антиген затруєних тварин, а також (не-

прямо) — про масований викид аутоантигенів зі зруйнованих гепатоцитів, що передбачає складний супресорний механізм впливу на імунну систему.

Таким чином, CCl_4 , разом із гепатотоксичним впливом, має виражений імунотоксичний ефект, пригнічуючи (за даними цитологічних досліджень селезінки) імунну відповідь у всі фази його формування. Проте не можна виключити ареактивність системи імунітету, що спричинюється одночасним потрапленням надзвичайно великої кількості різних антигенів: гетероантигенів (антигени ЕБ) і аутоантигенів (різноманітні комплекси зі зруйнованих гепатоцитів).

Ця перебудова в такому важливому органі імунної системи, як селезінка, ймовірно, позначається на функціональному стані клітин, які беруть безпосередню участь у формуванні імунної відповіді на сторонній антиген (ЕБ). Також вони забезпечують захисні механізми від автоагресії, спричиненої антигенами власних клітин печінки, які ушкоджуються при токсичному ураженні.

Вивчення показників, що характеризують специфічну імунну відповідь на сторонній антиген, дає підстави зробити висновок, що CCl_4 певною мірою має імунотоксичний вплив, оскільки знижує кількість АУК і, відповідно, специфічних антитіл.

Висновки

1. Поряд із гепатотоксичним впливом, чотирихлористий вуглець (CCl_4) має виражений імунотоксичний ефект, пригнічує всі фази формування імунної відповіді.

2. Токсичне ураження печінки призводить до дисбалансу фагоцитарної функції клітин, що супроводжується порушенням як поглинальної, так і бактеріцидної системи поліморфно-ядерних лейкоцитів.

3. Ураження печінки CCl_4 найбільш тяжко впливає на стан клітинної ланки імунної системи, що, можливо, пов'язано з порушенням синтезу в печінці імунорегуляторних факторів.

4. Введення гепатотропної отрути одночасно з імунізацією щурів призводить до більшого пригнічення імунної відповіді на сторонній антиген у дослідних тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Утешев Б. С., Прокопенко Л. Г., Конопля Е. Н. Лидокаин как иммуномодулятор при токсическом поражении печени // Эксперим. и клин. фармакол. — 1997. — Т. 60, № 2. — С. 45-48.

2. Печень и иммунологическая реактивность / И. П. Алексеева, Т. М. Брызгина, С. И. Павлович, Н. В. Ильчевич. — К.: Наук. думка, 1991. — 166 с.



3. Арцимович Н. Г., Настоящая Н. Н. Печень как орган иммунобиологической системы гомеостаза // Успехи совр. биологии. — 1992. — Т. 112, вып. 1. — С. 88-89.

4. Иммунология и иммунопатология пищеварительной системы / Ю. И. Бажора, В. И. Кресюн, К. Л. Сервецкий, И. Н. Годзиева. — Одесса: ОКФА, 2001. — 190 с.

5. Алексеева И. Н., Березовский В. А., Брызгина Т. М. Влияние хенофалька на состояние печени у интактных животных и при экспериментальном гепатите // Эксперим. и клин.

фармакол. — 1994. — Т. 57, № 1. — С. 35-38.

6. Проскуракова И. С. Морфофункциональные аспекты регенерации печени при экспериментальной коррекции токсического гепатита // Бюл. эксп. биол. и медицины. — 1995. — № 6. — С. 656-659.

7. Мищенко В. А., Горюхина О. А., Илюк Р. Д. Изменение гематоэнцефалического барьера при экспериментальном циррозе печени // Там же. — 1994. — № 7. — С. 86-88.

8. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. С. Иммунологические исследования в

клинике. — К.: Здоров'я, 1978. — 160 с.

9. Назаренко Н. А., Мельников Н. В., Утешев Б. С. Усовершенствование метода локального гемолиза для оценки иммуотропных средств // Фармакология и токсикология. — 1987. — № 3. — С. 113-115.

10. Луппа Х. Основы гистохимии. — М.: Мир, 1980. — 343 с.

11. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.

*Передплачуєте
і читайте*

ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті

У випусках журналу:

- ◆ Теорія і експеримент
- ◆ Клінічна практика
- ◆ Профілактика, реабілітація, валеологія
- ◆ Нові технології
- ◆ Огляди, рецензії, дискусії



Ціна передплати на півріччя (три номери):

- для підприємств та організацій — 60 грн;
- для індивідуальних передплатників — 30 грн.

Передплатні індекси:

- для підприємств та організацій — 48717;
- для індивідуальних передплатників — 48405.

