УДК 577.27; 579; 612.017.1: 616.1

СТАН ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ ІМУНІТЕТУ БІЛИХ ЛАБОРАТОРНИХ МИШЕЙ ЗА УМОВ СТВОРЕННЯ ШТУЧНОЇ ІМУНОСУПРЕСІЇ

О.С. Воронкова, О.А. Сірокваша, Т.М. Полішко, А.І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет

Проведен сравнительный анализ показателей иммунного статуса мышей в условиях искусственной иммуносупрессии, созданной введением циклофосфамида, и показателей контрольной группы мышей. Иммуносупрессия сопровождается значительным снижением общего количества лейкоцитов, относительного количества лимфоцитов; процент клеток, гибнущих путем апоптоза в условиях искусственной иммуносупрессии, при этом увеличивается. Установлено, что при снятии действия препарата проявляется тенденция к нормализации показателей иммунитета, что выражается в виде постепенного увеличения количества лейкоцитов и лимфоцитов на 30-й день проведения экспериментов.

Экспериментальная иммуносупрессия, показатели иммунитета, белые лабораторные мыши

ВСТУП

Для Придніпровського регіону проблема забруднення навколишнього середовища є однією з найбільш актуальних. Стан довкілля є критичним внаслідок значного викиду шкідливих речовин підприємствами гірничо-металургійної, хімічної та інших галузей промисловості. Також значну загрозу представляють собою тверді побутові відходи, за темпами накопичення яких Дніпропетровська область посідає одне з перших місць по Україні [1, 5].

Встановлено, що цілий ряд зовнішніх факторів таких, як підвищений радіаційний фон, висока концентрація важких металів та хімічних речовин, серед яких канцерогени та хімічні сполуки, знижують активність механізмів імунітету [1].

Імунна система підтримує сталість внутрішнього середовища макроорганізму. Зниження її реактивності призводить до зростання ризику розвитку різних патологічних станів, серед яких значну долю представляють інфекційні захворювання [7]. В першу чергу ураження стосуються таких важливих систем, як репродуктивна та шлунково-кишковий тракт, що мають контакт із середовищем.

В організмі, як правило, розвивається ціла низка патогенетичних процесів і згодом стає складно визначити ініціальну ланку, саме тому

особливого значення набувають експерименти зі створення імуносупресивних впливів на стан імунітету. Метою нашої роботи було вивчення впливу імуносупресора – циклофосфаміда – на стан деяких ланок імунітету і вивчення можливостей відновлення захисних механізмів імунітету.

УМОВИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В якості імуносупресора використовували препарат “Цитоксан” (Bristol-Myers Squibb, New-York), діючою речовиною якого є циклофосфамід. Надалі супресор позначено як циклофосфамід. Для створення імуносупресії використовували курс внутрішньом’язової ін’єкції препарату. Згідно інструкції до препарату [8] було розраховано мінімальну дозу та тривалість введення препарату (добова доза препарату становила 0,12 мг протягом 14 днів).

Досліди було проведено на самицях білих лабораторних мишей (n=28) віком 18–20 тижнів, вагою 18–20 г, яких утримували в умовах, що відповідають стандарту [3]. Всі дослідження на тваринах проводилися згідно до норм, встановлених законом України № 3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження” та норм, прийнятих в Європейській конвенції з захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей від 20.09.1985 р. [6].

Тварин було поділено на 2 групи: група 1 (контроль) – інтактні тварини (n=8); група 2 – тварини, яким вводили циклофосфамід (n=20). На 15-й та 30-й день умертвляли по 6 тварин для отримання крові з метою проведення аналізів.

В експериментах було вивчено стан таких ланок клітинного імунітету, як: абсолютна кількість лейкоцитів (підраховували за допомогою камери Горєва-Тома); відносна кількість лімфоцитів (підраховували на мазках крові, пофарбованих із застосуванням фіксатора Мая-Грюнвальда та барвника Романовського-Гімзи); кількість клітин, що гинуть апоптотичним шляхом (оцінювали за морфологічними ознаками); активність фагоцитів (тест відновлення тетразолія нітросинього) та кількість циркулюючих імунних комплексів (ЦІКів; осадження поліетиленгліколєм) [2, 7].

Статистичну обробку результатів проводили за методикою, запропонованою Г.Ф. Лакіним [4], використовуючи t-критерій Стьюдента при рівні значущості 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Стан показників імунітету у тварин експериментальної групи значною мірою відрізняється від показників норми (табл.). Так, на 15-й день кількість лейкоцитів за дії імуносупресора стає меншою за норму і становить $(4,75\pm0,63)\times10^2$ клітин/мл при показникові норми $(9,53\pm0,95)\times10^6$ клітин/мл, тобто встановлено зниження стосовно норми на 4 порядки. Відносна кількість лімфоцитів складає також значення нижчі за норму, причому треба враховувати, що це відносна кількість, яка є відсотком від абсолютної кількості лейкоцитів, а, отже, зниження кількості лімфоцитів також можна оцінювати як на 4 порядки.

Інші вивчені показники також відрізняються від норми. Кількість клітин з морфологічними ознаками апоптозу становить 37,1±3,11 % при показникові норми 19,3±2,43 %, що зумовлено специфічною дією застосованого препарату. Показник активності макрофагів нижчий за норму, але відхилення не виходить за межі статистичної похибки. Кількість ЦІКів меншає порівняно із нормою в 3,27 рази.

Таблиця – Показники імунного статусу експериментальних груп мишей

Група мишей / *Показники*	Група 1, n=8	Група 2	
		День 15-й, n=6	День 30-й, n=6
Лейкоцити, клітин/мл	$(9,53\pm0,95)\times10^6$	$(4,75\pm0,63)\times10^2$*	$(1,12\pm0,09)\times10^3$*
Лімфоцити, %	36,8±1,61	16,3±3,64*	23,9±4,81*
Кількість апоптотичних клітин, %	19,3±2,43	37,1±3,11*	20,8±3,33*
Показник НСТ-тесту, %	18,1±2,59	15,1±3,35	14,4±5,02
ЦІК, од. опт. густ.	0,72±0,12	0,22±0,03*	0,29±0,02*

Примітка: дані представлені в таблиці у вигляді M±m, де M – середнє, а m – вірогідний інтервал; * – дані вірогідні у порівнянні із контролем, $p<0,05$.

На 30-й день досліджувані показники в експериментальній групі тварин також знижені порівняно із нормою, окрім кількості клітин з морфологічними ознаками апоптозу. Головною ж тенденцією, порівняно із попереднім днем досліджень, є певне підвищення кількості клітин та їх активності. Так, порівняно із 15-м днем досліджень відбувається підвищення кількості лейкоцитів (у 2,36 рази), лімфоцитів (у 1,47 рази), дещо підвищується і кількість ЦІК порівняно із 15-м днем у 1,32 рази, але цей показник зменшується в 2,48 рази стосовно норми. Нижчою, як і на 15-й

день, є активність фагоцитів, водночас показник не відрізняється від норми більше, ніж на статистичну похибку. Проте кількість клітин з морфологічними ознаками апоптозу набуває значень близьких до норми (в експериментальній групі показник у 1,07 рази вище, ніж у контрольній, що не виходить за межі припустимої статистичної помилки).

Циклофосфамід, як відомо, викликає порушення диференціації В-клітин у плазматичні клітини, що опосередковує пригнічення різних механізмів імунітету [7, 8]. Одним із актуальних питань біології та медицини сьогодні є питання про взаємозв'язок порушень імунного статусу із порушеннями в інших системах організму. Також відкритим лишається і питання про можливі адаптивні та відновлювальні механізми імунітету, які активуються за умов імуносупресивного впливу. Одним із перспективних напрямків подальших досліджень за умов загального пригнічення імунітету є вивчення такого механізму імунітету як явище колонізаційної резистентності, що забезпечує лімітування колонізації умовно-патогенними мікроорганізмами. Вивчення адаптивних відновлювальних механізмів мікрофлори представляє перспективний напрямок досліджень з метою розробки адекватної коригуючої терапії.

ВИСНОВКИ

1. Введення циклофосфаміда призводить до розвитку імуносупресії, що на ранніх строках після початку курсу препарату характеризується зниженням абсолютної кількості лейкоцитів, відносної кількості лімфоцитів та кількості ЦІК. Паралельно спостерігається зростання кількості клітин із морфологічними ознаками апоптозу.
2. Порівняння даних про стан таких показників, як загальна кількість лейкоцитів, відносна кількість лімфоцитів, активність макрофагів здорових тварин та тварин зі штучним пригніченням імунітету дозволяє стверджувати прояв певного відновлення механізмів імунітету. Зняття імуносупресивної дії характеризується зростанням кількості лейкоцитів та лімфоцитів із наростанням часу експерименту порівняно із кількістю цих клітин на ранніх строках після введення препарату, коли спостерігається мінімальні значення вивчених показників.

ЛІТЕРАТУРА:

1. *Деркачев Э.А., Штепа А.П. Качество жизни населения. Актуальные эколого-гигиенические проблемы охраны окружающей среды и здоровья*

населения Приднепровья: состояние, прогноз и пути решения // Экополис. – 2004. – № 1 (13). – С. 23–27.

2. *Иммунограмма в клинической практике / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина. – М: Наука, 1990. – 224 с.*
3. *Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / Под ред. И.П. Западнюка и соавт. – К: Вища школа, 1983. – 383 с.*
4. *Лакин Г.Ф. Биометрия. – М: Высшая школа, 1980. – 293 с.*
5. *Переметчик М.М. Місто Дніпропетровськ та екологічна ситуація в Дніпропетровській області: інформація // Экополис. – 2002 – 2003. – №1 (11) – №1 (12). – С. 30–31.*
6. *Рєзніков О. Проблеми етики при проведенні експериментальних медичних і біологічних досліджень на тваринах // Вісник НАНУ. – 2001. – № 1. – С. 5–7.*
7. *Соколова І.Є., Віннiков А.І., Полішко Т.М. Основи імунології. – Дніпропетровськ: Видавництво Дніпропетровського національного університету, 2007. – 560 с.*
8. *Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. – М: АстраФармСервис, 1997. – 1504 с.*

STATUS OF SOME IMMUNITY PARAMETERS OF WHITE LABORATORY MICE IN A CONDITION OF EXPERIMENTAL IMMUNOSUPPRESSION

O.S. Voronkova, E.A. Sirokvasha, T.N. Polishko, A.I. Vinnikov

The comparative assaying of the parameters of the immune status of mice in conditions experimental immunosuppression, created by introduction cyclophosphamideand parameters of norm fixed for control groupe of mice is conducted. The significant decrease of total of leucocytes, relative quantity of lymphocytes is determined; percent of cells perishing by apoptosis under immunosuppressinal conditions is enlarged. If action of preparate is escaped the tendency to normalization of immune status markers is fixed: the amount of leucocytes and lymphocytes increased on 30th day of experiments.

УДК: 577.27; 579; 612.017.1; 616.1

Воронкова О.С., Сірокваша О.А., Полішко Т.М., Вінніков А.І. Стан деяких показників імунітету білих лабораторних мишей за умов створення штучної імуносупресії // Питання біоіндікації та екології. – Запоріжжя: ЗНУ, 2008. – Вип. 13, № 1. – С. 138–143.

Проведено порівняльний аналіз стану показників імунного статусу мишей за умов штучної імуносупресії, створеної введенням циклофосфаміду, та показників контрольної групи мишей. Імуносупресія супроводжується значним зниженням загальної кількості лейкоцитів, відносної кількості лімфоцитів; водночас відбувається зростання відсотку клітин, що гинуть апоптотичним шляхом за умов штучної імуносупресії. При знятті дії препарату визначено тенденцію до нормалізації показників імунітету, що виражається у вигляді поступового зростання кількості лейкоцитів та лімфоцитів на 30-й день проведення досліджень.

Бібл. 12. Табл. 1.