

УДК 616.34-006.04-036.12-06:616-008.6/-092.19]-092.9

© Ю.В. Сорока, І.Я. Демків, Н.Є. Лісничук, 2012.

МАРКЕРИ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА СТАН ІМУННОЇ СИСТЕМИ В ОРГАНІЗМІ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ НЕОПЛАСТИЧНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Ю.В. Сорока, І.Я. Демків, Н.Є. Лісничук*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського», центральна науково-дослідна лабораторія, м. Тернопіль.*

MARKERS OF ENDOGENIC INTOXICATION AND STATE OF IMMUNE SYSTEM OF WHITE RATS AT CHRONIC NEOPLASTIC INTOXICATION

Yu.V. Soroka, I.Ya. Demkiv, N.Ye. Lisnychuk

SUMMARY

In a model of the chronic neoplastic intoxication (multiple intestinal tumors) it was found the evident reaction of humoral and cellular chains of immune system due to activation of primary (Ig A and Ig M) and secondary (Ig G, Ig E, complement system, formation of antigen-antibody complexes) immune barriers as well as significant decrease in functional activity of blood phagocytes.

МАРКЕРЫ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ОРГАНИЗМЕ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Ю.В. Сорока, И.Я. Демкив, Н.Е. Лисничук

РЕЗЮМЕ

В результате смоделированной хронической неопластической интоксикации отмечено выраженное реагирование как гуморального, так и клеточного звеньев иммунной системы на множественные опухоли кишечника за счет активизации первичного (Ig A и Ig M) и вторичного (Ig G, Ig E, система комплемента и образование комплексов антиген-антитело) иммунных барьеров, а также выраженного уменьшения функциональной активности фагоцитов крови.

Ключові слова: ендогенна інтоксикація, імунна система, хронічна неопластична інтоксикація.

Незважаючи на успіхи у вивченні причин і особливостей онкологічних захворювань, їх частота і смертність внаслідок останніх продовжують збільшуватись. Це робить проблему злоякісного росту однією із найактуальніших в біології та медицині [8]. Серед етіологічних факторів пухлин людини найбільш важлива роль належить агентам хімічної природи – канцерогенам і модифікаторам канцерогенезу. В залежності від природи етіологічного фактора можна виділити хімічний, фізичний (радіаційний), вірусний канцерогенез, канцерогенез інородного тіла [1]. Канцерогени можуть діяти в зоні первинного контакту, в зоні локалізації або накопичення у органі-мішені, в місцях екскреції або метаболічних перетворень.

Всі хімічні канцерогени поділяються на дві великі групи (генотоксичні та епігенетичні) в залежності від того, чи здатні вони або їх кінцеві метаболіти взаємодіяти з ДНК. До групи генотоксичних канцерогенних речовин належать: поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ), нітрозосполуки, мікотоксини, ароматичні аміни, у тому числі 1,2-диметилгідразину дигідрохлорид (ДМГ) [2, 7, 12].

Останній і вибраний нами для моделювання хронічної онкогенної інтоксикації. ДМГ за умов тривалого введення викликає канцерогенез в кишечнику білих щурів. Одним з критеріїв вибору даної моделі також стало те, до ДМГ у процесі

біотрансформації, що відбувається у печінці, утворює метаболіти, які, потрапляючи у кишечник, і викликають розвиток пухлин. Ця модель достатньо вивчена, і при цьому показано, що новоутвори, які виникають у піддослідних тварин, за своєю морфологією подібні до аналогічних новоутворів людини.

Тому перед нами було поставлене завдання з'ясувати особливості перебігу імунних процесів та ендогенного отруєння піддослідних тварин за умов змодельованої хронічної неопластичної інтоксикації.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження виконане на 60 статевозрілих безпородних білих щурах-самцях з масою тіла (150 ± 5) г, які утримувались у стандартних умовах віварію. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили із дотриманням правил «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей», а також згідно «Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними» [6].

Піддослідні тварини були розділені на такі групи: інтактна – 20 голів; група тварин із змодельованою неопластичною інтоксикацією – 40 голів. Хронічну неопластичну інтоксикацію моделювали шляхом введення несиметричного 1,2-диметилгідразин

гідрохлориду (ДМГ), попередньо розведеного ізотонічним розчином натрію хлориду. Канцероген вводили підшкірно в міжлопаткову область в дозі 7,2 мг/кг (в розрахунку на діючу речовину) 1 раз на тиждень впродовж 30 тижнів, чітко по масі тварини з розрахунку 0,1 мл розчину ДМГ на 10 грам маси тіла [5]. Дослідження гуморальної ланки імунореактивності організму проводили, визначаючи концентрації Ig A, M, G, E крові турбодиметричним методом з використанням наборів реактивів Human (Німеччина). Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові визначали згідно методики Ю.Я. Гриневича та співавт.(1981) [4, 11]. В цільній крові визначали активність фагоцитуючої системи, а саме: фагоцитарне число та відсоток фагоцитуючих лейкоцитів [11].

Токсичність плазми крові оцінювали за еритроцитарний індексом інтоксикації (ЕІІ) [10] та за вмістом середньомолекулярних пептидів, а також їх низько- та високомолекулярних фракцій. Досліджуючи вміст середньомолекулярних пептидів (СМП), обчислювали їх коефіцієнт ($K = \text{СМП}_2 / \text{СМП}_1$, де $\text{СМП}_2 - \text{СМП}_1$, визначені при $\lambda = 280 \text{ нм}$; $\text{СМП}_1 - \text{СМП}_1$, визначені при $\lambda = 254 \text{ нм}$) за методом Оськіна В. В., Чекаліна К. І. (1987) [3, 9].

Отриманий в результаті експерименту цифровий матеріал був систематизований та оброблений за

допомогою методів варіаційної статистики з використанням програми «Microsoft Exel 6,0».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ендогенну інтоксикацію організму розглядають як один із найбільш важливих критеріїв, що визначає тяжкість стану хворих та необхідність призначення різних видів детоксикаційної терапії. Ендогенна інтоксикація є неспецифічним синдромом, характерним для багатьох захворювань, що супроводжуються посиленням та накопиченням токсичних метаболітів. Саме це викликає деструкцію плазматичних та цитоплазматичних мембран, призводить до розвитку токсемії – виходу в кров з локального осередку токсинів, що викликають генералізацію патологічного процесу.

Одним із способів діагностики ендогенної інтоксикації є дослідження проникності мембран еритроцитів (таблиця 1).

В умовах змодельованої хронічної неопластичної інтоксикації спостерігалось достовірне зростання еритроцитарного індексу інтоксикації до $(93,1 \pm 1,5) \%$, що у 2,1 рази вище за відповідний показник контрольної групи тварин $(44,1 \pm 1,1) \%$. 30 тижневе введення ДМГ призвело до зростання $K_{\text{смп}}$ у 2,4 рази ($p < 0,001$) відповідно порівнянню з контрольною групою тварин.

Таблиця 1

Рівень ендогенної інтоксикації у білих щурів з хронічною неопластичною інтоксикацією

Показник	Контрольна група	Група з неопластичною інтоксикацією
ЕІІ, %	44,1 ± 1,1	93,1 ± 1,5 **
$K_{\text{смп}}$	0,82 ± 0,02	1,94 ± 0,08 ***

Примітка: тут і в наступних таблицях зірочкою позначено величини, які статистично достовірно відрізняються від аналогічних показників у контрольній групі тварин (* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$).

Стан імунної системи організму експериментальних тварин оцінювали за станом показників гуморального імунітету (концентрація IgA, M, G, E, ЦІК), неспецифічну резистентність – за функціональною активністю фагоцитів крові (таблиця 2).

Виявлено статистично достовірне зростання концентрації сироваткових Ig A, M, G, E у всіх тварин із змодельованим канцерогенезом. Так, концентрація Ig A зростала у 1,7 рази порівняно з аналогічним показником у групі контрольних тварин. Концентрація Ig M у сироватці крові після 30 тижневого застосування ДМГ зростала у 1,8 рази ($p < 0,001$), в порівнянні з аналогічним показником у контрольних тварин. У 1,5 рази ($p < 0,001$) зростала концентрація Ig G у тварин з експериментальною неопластичною інтоксикацією. Концентрація Ig E достовірно зростала у 2,1 рази порівнянню з аналогічним показником у контрольній групі тварин за даного хімічного

отруєння. Приведена динаміка свідчить про напруження та дисбаланс факторів гуморальної ланки імунної системи піддослідних тварин.

У крові тварин з хронічною неопластичною інтоксикацією спостерігається істотне ($p < 0,001$) підвищення концентрації ЦІК до $(203,5 \pm 18,2)$ ум. од., тоді як аналогічний показник у групі контрольних тварин становив $(75,7 \pm 3,4)$ ум.од. Оцінка розмірів імунних комплексів проводилася з обчисленням коефіцієнта патогенності K ($K = K_4 / K_3$), як співвідношення їх рівнів при 4 % та 7 % концентрації ПЕГ 6000. У групі досліджуваних тварин встановлено значення K в межах 1,0 – 1,5, що свідчило про переважаюче накопичення імунних комплексів малого та середнього розмірів, здатних фіксувати комплемент. Власне ці комплекси, взаємодіючи з системою комплементу, каллікреїн-кініновою системою згортання крові та іншими регуляторними системами організму, викликають розвиток реакції

запалення і пошкодження тканин організму. Великі імунні комплекси, як правило, швидко елімінуються з циркуляторного русла.

Дослідження фагоцитарної активності лейкоцитів у тварин з хронічною неопластичною інтоксикацією виявило істотне зниження двох основних параметрів

Таблиця 2

Показники імунної системи організму білих щурів за хронічної неопластичної інтоксикації

Показник	Контрольна група	Група з неопластичною інтоксикацією
ЦІК, ум.од.	75, 7±3,4	203,5±18,2 ***
Ig A, г/л	1,58±0,03	2,69±0,05 ***
Ig M, г/л	0,504±0,018	0,857±0,013 **
Ig G, г/л	10,05±0,15	15,25±0,69 ***
Ig E, г/л	1,24±0,02	2,64±0,08 ***
ФАЛ: ФЧ	3,54 ± 0,02	2,3 ± 0,06 ***
% ФЛ	34,79 ± 0,12	23,06 ± 0,96 ***

даної системи: кількості фагоцитуючих лейкоцитів (% ФЛ), яка достовірно зменшилась на 53,9 %, та їхньої поглинальної здатності (ФЧ), що зменшилась на 50,9 % відносно аналогічних показників у групі інтактних тварин. Факт різкого зниження ФАЛ у щурів з експериментальним канцерогенезом свідчить на користь того, що при цій патології спостерігається перевищення „порогу ємності” фагоцитуючої системи, виникають дефекти в системі елімінації ЦІК, внаслідок чого поглиблюються деструктивні явища в організмі піддослідних тварин.

ВИСНОВКИ

1. За умов змодельованої хронічної неопластичної інтоксикації встановлено зростання рівня ендогенної інтоксикації, на що вказує підвищення проникності еритроцитарних мембран та збільшення у крові рівня високомолекулярних фракцій молекул середньої маси.

2. Хронічна неопластична інтоксикація супроводжується вираженими імунореактивними змінами в організмі експериментальних тварин, а саме: ослаблення неспецифічних факторів імунного захисту та посилення дисфункції гуморальної ланки імунітету, що поглиблює деструктивні зміни органів і систем.

В наших подальших дослідженнях ми плануємо вивчати стан ферментної та неферментної ланок антиоксидантної системи за умов змодельованої неопластичної інтоксикації, а також розробити методи патогенетично обґрунтованої корекції виявлених змін.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белицкий Г.А. Химический канцерогенез // Вопросы онкологии. - 2008. - Т. 50, № 6. - С. 166-168.
2. Влияние вилона на неопластические процессы, индуцированные 1,2-диметилгидразином / Г.Б. Плисс, А.С. Мельников, В.В. Малинин, В.Х. Хавинсон

// Вопросы онкологии. - 2005. - Т. 51, № 4. - С. 466-469.

3. Габриэлян Н. И., Липатова В. И. Определение содержания среднемoleкулярных пептидов в крови / Лаб. дело. - 1984. - № 3. - С. 138-140.

4. Гриневиц Ю. А., Алферов А. М. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. - 1981. - № 8. - С. 493-495.

5. Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Разин А.Н. Экспериментальное изучение действия (Шиитаке) на рост опухоли у мышей на моделях трансплантационного и химического канцерогенеза // Российский онкологический журнал. - 2009. - № 1. - С. 33-38.

6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А. - Київ: Авіцена, 2002. - 156 с.

7. Патоморфология печени и надпочечников в эксперименте при воздействии несимметричного диметилгидразина / Е.Э. Касапиди, М.М. Тусупбекова // Морфология. - 2008. - Т. 133, № 2. - С. 60.

8. Попова Н.А. Модели экспериментальной онкологии // Соросовский образовательный журнал. - 2000. - Т 6, № 8. - С. 33-38.

9. Способ определения «средних молекул» / Николайчик В. В., Моин В. М., Кирковский В. В., Мазур Л. И. и др. // Лаб. дело. - 1991. - № 10. - С. 13-18.

10. Тогайбаев А. А., Кургузкин А. В., Рикун И. В. Метод определения эндогенной интоксикации // Лаб. дело. - 1988. - № 9. - С. 22-24.

11. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. С. Иммунологические методы исследований в клинике. - К.: Здоров'я, 1978. - 159 с.

12. Экспрессная оценка токсикогеномных эффектов несимметричного диметилгидразина / С.Д. Иванов, С.Е. Колбасов, В.А. Ямшанов и др. // Токсикологический вестник - 2009. - № 3. - С. 11-18.