

ВПЛИВ ВІТАСОЛОВОЇ МАЗІ НА СЛИНОВИДІЛЕННЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ У ЩУРІВ

Застосування вітасолової мазі для лікування експериментального пародонтиту у щурів показало, що препарат виявляє пародонтопротекторну дію, стимулюючи слиновиділення та нормалізуючи біохімічні показники слини, які характеризують стан перекисного окиснення ліпідів і рівень протеолізу. Аплікації розробленої лікувальної мазі ефективно пригнічували процеси резорбції в кістковій тканині щелеп і стимулювали репаративну регенерацію в кістковій тканині щелеп щурів.

Ключові слова: експериментальний пародонтит, слиновиділення, вітасолова мазь, резорбція кісткової тканини пародонта, перекисне окиснення ліпідів.

THE INFLUENCE OF VITASOL OINTMENT ON SALIVATION UNDER EXPERIMENTAL PARODONTITIS IN RATS

The use of Vitasol ointment for treatment of experimental parodontitis in rats showed the preparation to be of marked parodontoprotective action. It stimulates salivation and normalizes biochemical indices in saliva, that characterizes LPO state and the level of proteolysis. The application of the elaborated treatment ointment depressed effectively the processes of resorption in osseous tissues of gums and stimulated the reparative regeneration in osseous tissue of rats gums.

Key words: experimental parodontitis, salivation, Vitasol ointment, parodontium osseous tissue resorption, lipids peroxide oxidation.

УДК 616.36-002.12-099-06:616.41/42-091

О. В. Сивоконок,

А. И. Даниленко, *д-р мед. наук, проф.***ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ***Одесский государственный медицинский университет*

В настоящее время имеется большое количество данных, свидетельствующих об изменении иммунного статуса организма при различных заболеваниях печени и ее экспериментальных повреждениях [1].

Печень взрослого организма может как стимулировать, так и подавлять иммунный ответ [2; 3]. Имея все необходимое для формирования иммунного ответа на своей территории, печень в нормальных условиях обеспечивает ограничение иммунных реакций. При патологии печени возможно изменение иммунного гомеостаза организма, а также нарушение защитных механизмов для развития иммунных реакций на территории печени и включение их в патогенез заболеваний [4–6].

По разнообразию и составу клеток, участвующих в формировании иммунного ответа, она не уступает селезенке и пери-

ферической крови [7]. Она играет важную роль в регуляции иммунных процессов как в пренатальном, так и постнатальном онтогенезе. В сроке 11,5 нед. развития эмбриона лимфоциты с иммуноглобулинами М, G, А выявляются в печени, селезенке, тимусе и крови. Лимфоциты печени отвечают бласттрансформацией на фитогемагглютинин (ФГА) и в смешанной культуре с аллогенными лимфоцитами на 8-й неделе развития [8]. Эта реакция предшествовала развитию таковой в тимусе, где она обнаружена только на 9–10-й неделе развития. В 11 нед. в печени определяются В-лимфоциты, несущие рецепторы к С3-компоненту комплемента в количестве от 2,5 до 12 %. Таким образом, в печени плода человека появляются лимфоциты, способные отвечать на раздражение, и они разделены уже на две системы: Т- и В-клетки.

При токсических и лекарственных гепатитах химические вещества проникают в липопротеиновую мембрану гепатоцитов, разрушают ее, и в ответ на деструкцию возникают иммунные реакции. Они и способствуют развитию заболеваний [9; 10]. При токсических повреждениях печени, в частности четыреххлористым углеродом (CCl₄), наблюдается угнетение Т-хелперов и увеличение количества Т-супрессоров [3; 7].

Ранее проведенные нами исследования [11] показали, что при остром экспериментальном токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом, в ткани селезенки выявляются признаки активизации макрофагального звена иммунитета в виде увеличения количества макрофагов в различных функциональных зонах селезенки. Изменения со стороны Т-клеточной популяции се-

лезенки проявляются уменьшением хелперно-супрессорного индекса. Увеличена популяция клеток-продуцентов СЗ-фракции комплемента, тогда как популяция клеток-продуцентов IgM и IgG существенно не изменилась.

Целью настоящей работы стало исследование динамики иммуногистохимических особенностей основных популяций иммунных клеток, располагающихся в селезенке, а также степень выраженности апоптоза при курсовом введении гептрала в дозе 20 мг/кг в условиях острого химического повреждения печени СС₄. В связи с тем, что пик морфогистохимических изменений приходится на 3-и сутки острого токсического гепатита (ОТГ), этот временной промежуток был избран нами для исследований, результаты которых изложены в данной работе.

Материалы и методы исследования

Опыты проводили на 126 белых крысах линии Вистар массой 180–250 г. Животных содержали на стандартном рационе вивария в условиях свободного передвижения и доступа к воде. Работу с лабораторными животными проводили с соблюдением общепринятых нормативных и биолого-этических требований [12].

Были сформированы следующие опытные группы:

а) интактные животные (контроль);

б) животные с острым токсическим гепатитом;

в) животные с курсовым введением гептрала внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг в условиях ОТГ.

Вызывали ОТГ однократным внутрижелудочным введением 50%-го масляного раствора СС₄ в дозе 5 мл / 1000 г. Животных выводили из эксперимента на 3-и сутки путем декапитации под легким эфирным наркозом. После фиксации в 10%-м растворе нейтрального

формалина и спиртовой проводки кусочки селезенки заливали в целлоидин-парафин, изготавливали срезы толщиной 5–6 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону. Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах непрямым методом Кунса по методике Brosnan (1979). Иммунные клетки дифференцировали с помощью крысиных моноклональных антител (МКА) к различным типам клеток фирмы Serotec. Использовали следующие маркеры: CD95, CD8, CD4, CD3, CD45RA, ED1, IgA, IgM, IgG, СЗ-фракцию комплемента. В качестве люминесцентной метки использовали F (ab)-2-фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченных ФИТЦ. Препараты изучали в люминесцентном микроскопе МЛ-2 с использованием светофильтров: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Относительные объемы основных клонов иммунных клеток определяли с помощью сетки Г. Г. Автандилова [13] в люминесцентном микроскопе. Апоптотный индекс рассчитывали по формуле:

$$\text{среднее количество клеток в поле зрения} \times 400 - 100 \%;$$
$$\text{среднее количество клеток, экспрессирующих рецепторы CD95 в поле зрения} \times 400 - X;$$
$$X = \text{среднее количество клеток, экспрессирующих рецепторы CD95 в поле зрения} \times 400 \times 100 / \text{среднее количество клеток в поле зрения} \times 400.$$

Статистическая обработка цифровых данных проводилась методом дисперсионного анализа с применением непараметрического критерия Вилкоксона. Описательная статистика приведена в виде медианы и значений первого и третьего квартилей. Нулевая гипотеза принималась при $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В селезенке через 3 суток после однократного введения тетра-хлорметана и гептрала отмечаются умеренно выраженные гиперпластические процессы в сочетании с макрофагально-плазмочитарной реакцией и проявляются неравномерным увеличением лимфоидных фолликулов.

При иммуногистохимическом исследовании выявлена зональность расположения Т- и В-лимфоцитов в селезенке животных с токсическим гепатитом на фоне введения гептрала. Т-лимфоциты (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺) располагались в периатериальных зонах фолликулов. В светлых центрах фолликулов и их мантийных зонах преимущественно локализовались В-лимфоциты (CD45RA⁺). В красной пульпе селезенки отмечались В-лимфоциты, Т-лимфоциты и макрофаги. По сравнению с группой токсического гепатита значительно увеличилась популяция макрофагов и плазмобластов, продуцирующих IgM и IgG (таблица). По сравнению с контролем изменилось соотношение CD3⁺/ED1⁺/CD45RA⁺ — 1,1 : 1,0 : 1,4 (контрольный показатель -2,7 : 1,0 : 4,5). Такое соотношение свидетельствует о резком усилении макрофагальной реакции на фоне относительного уменьшения Т- и В-лимфоцитов (рисунок).

Тем не менее, для В-клеточного звена характерна плазматизация, что проявилось нарастанием относительных объемов клеток-продуцентов IgM и IgG, тогда как относительный объем клеток-продуцентов СЗ-фракции комплемента значительно снизился.

По сравнению с группой токсического гепатита в Т-клеточном звене относительно уменьшилась популяция Т-супрессоров (CD8⁺) и соответственно увеличилась популяция Т-хелперов (CD4⁺), в связи с чем значительно повысилось соотно-

Относительные объемы основных популяций
иммунных клеток в селезенке при токсическом гепатите
на фоне применения гептрала (Ме (25 %; 75 %))

Группа	Отдельные субпопуляции Т-лимфоцитов			ED1 ⁺	CD45RA ⁺	Отдельные субпопуляции клеток-продуцентов иммуноглобулинов		
	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺			IgM	IgG	С3-фракция комплемента
Контроль	33 (30; 36)	75 (50; 98)	25 (15; 35)	12 (8; 16)	55 (49; 61)	12 (9; 15)	16 (12; 20)	2 (1; 3)
ОТГ	34 (28; 40)	65 (38; 86)	35 (29; 41)*	22 (19; 26)**	44 (40; 48)*	13 (9; 16)	14 (9; 19)	5,5 (2; 9)*
Гептрал	31 (28; 34)	70 (36; 95)	27 (21; 33)	28 (20; 35)**	41 (38; 44)*	17 (12; 21)*	27 (20; 33)*	3 (1; 5)

Примечание. * — достоверность различий (P<0,05); ** — достоверность различий (P<0,01).



Рисунок. Обилие макрофагов в селезенке животного с токсическим гепатитом на фоне введения гептрала. Непрямой метод Кунса с МКА ED1 × 900

шение CD4⁺/CD8⁺, которое составило 2,5 (контрольный показатель 3,0). Апоптотный индекс лимфоцитов составил (34,0 ± ±2,4) %, что незначительно выше контрольного показателя и значительно меньше такового в группе токсического гепатита.

В селезенке при токсическом гепатите на фоне применения гептрала выявляются признаки активации макрофагального и гуморального звеньев иммуногенеза на фоне относительной стабильности клеточного звена иммунитета. Вышеуказанное подтверждается нарастанием относительного объема ED1⁺, а также клеток-продуцентов IgM и IgG. При этом угнетается продукция С-фракции комплемента. Относительная стабильность Т-клеточного звена подтверждается пока-

зателем хелперно-супрессорного соотношения, которое приближается к контрольному.

По данным литературы, опыты с переносом иммунокомпетентных клеток свидетельствуют об участии клеточных иммунных механизмов в патологии печени. В экспериментах на мышях установлено, что смесь клеток костного мозга, тимуса и селезенки от доноров с экспериментальным токсическим гепатитом, введенная здоровым животным, вызывает у них дистрофические изменения в печени [2]. Также отмечается инфильтрация стромы печени лимфо-гистиоцитарными элементами при переносе клеток селезенки от мышей с экспериментальным аутоиммунным гепатитом.

Анализируя полученные нами данные об изменении иммунологической реактивности при различных заболеваниях печени, участии иммунных механизмов в патогенезе и хронизации болезней, можно предположить иммунопатологическую концепцию основных острых и хронических заболеваний печени. В связи с этим возникает проблема проведения оптимальной иммунотерапии, модулирующей иммунный ответ в клинически необходимом направлении. Поэтому важными задачами в гепатологической клинике являются разработка, изучение и применение специ-

фических средств, стимулирующих или подавляющих (модулирующих) иммунные реакции организма. Таким образом, немаловажным является наличие иммуномодулирующих свойств гепатопротекторов, что приводит к лучшему лечебному эффекту.

Выводы

Введение животным гепатопротектора гептрала на фоне острого экспериментального токсического гепатита при выраженном дисбалансе основных звеньев иммунитета способствует снижению С3-фракции комплемента, увеличению объема плазмоцитов и макрофагов, повышению хелперно-супрессорного индекса и приближению его к нормальному состоянию.

Вышеуказанное свидетельствует о более сбалансированных отношениях между основными звеньями иммуногенеза в случаях развития токсического гепатита при одновременном использовании гептрала.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Immunology and the liver* / M. Peters, J. Vierling, M. F. Gershwin [et al.] // *Hepatology*. — 1991. — Vol. 13. — P. 977-994.
2. *Логинов А. С.* Иммунная система и болезни органов пищеварения / А. С. Логинов, Т. М. Царегородцева, М. М. Зотина. — М.: Медицина, 1986. — 256 с.
3. *Иммунология и иммунопатология пищеварительной системы* / Ю. И.

Бажора, В. И. Кресюн, К. Л. Сервецкий, И. Н. Годзиева. — Одесса : ОКФА, 2001. — 190 с.

4. Козько В. Н. Прогностическое значение некоторых иммунологических показателей у больных вирусным гепатитом С / В. Н. Козько, А. О. Соколенник, А. Е. Бондарь // *Лабораторная диагностика*. — 2004. — № 1. — С. 25-31.

5. Мартинова Т. В. Функціональна активність перитонеальних макрофагів при ураженні печінки мишей конканаваліном А / Т. В. Мартинова, Л. І. Алексюк // *Фізіологічний журнал*. — 2007. — Т. 53, № 5. — С. 47-52.

6. Шаповалова І. О. Інтерфероновий статус крові хворих на хронічний токсичний гепатит, сполучений з хро-

нічним некалькульозним холециститом та ожирінням / І. О. Шаповалова // *Український медичний альманах*. — 2009. — Т. 12, № 1. — С. 200-202.

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

8. Хлыстова З. С. Становление системы иммуногенеза плода человека / З. С. Хлыстова. — М. : Медицина, 1987. — 255 с.

9. Буеверов А. О. Лекарственные поражения печени / А. О. Буеверов // *Русский медицинский журнал*. — 2001. — № 13/14. — С. 608-610.

10. Полунина Т. Е. Лекарственные гепатиты / Т. Е. Полунина // *Терапев-*

тический архив. — 1999. — № 12. — С. 46-49.

11. Сивоконюк О. В. Иммуноморфология органов центрального и периферического иммуногенеза при экспериментальном токсическом гепатите / О. В. Сивоконюк // *Одеський медичний журнал*. — 2007. — № 3 (101). — С. 24-28.

12. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. — К. : Вища школа, 1983. — 383 с.

13. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. — М. : Медицина, 1990. — 383 с.

УДК 616.36-002.12-099-06:616.41/42-091

О. В. Сивоконюк, А. И. Даниленко

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Проведено иммуногистохимическое исследование основных популяций иммунных клеток, располагающихся в селезенке у крыс при введении гептрала на фоне острого токсического гепатита (ОТГ), вызванного четыреххлористым углеродом (CCl₄). Показано, что введение животным гептрала на фоне ОТГ способствует снижению С3-фракции комплемента, увеличению количества плазмочитов и макрофагов, повышению хелперно-супрессорного индекса и приближению его к нормальному состоянию. Полученные данные свидетельствуют о более сбалансированных отношениях между основными звеньями иммуногенеза в случаях развития токсического гепатита при одновременном использовании гептрала.

Ключевые слова: иммуноморфология, токсический гепатит, гептрал.

UDC 616.36-002.12-099-06:616.41/42-091

O. V. Sivokonyuk, A. I. Danilenko

PATHOMORPHOLOGICAL ASPECTS OF THE PERIPHERAL IMMUNE SYSTEM DURING THE EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS

Immunohistochemical research of basic populations of immune cells located in the spleen was carried out in the rats at injections of heptal on the background of the experimental acute toxic hepatitis (ATH) caused by carbon tetrachloride. It was shown that injections of heptal decrease complement's C3-fractions. They increase amount of plasmocytose and macrophages, helper-suppressor's index, which approaches to the normal condition. Received results show more balanced relations between basic chains of immunogenesis during ATH and using heptal at the same time.

Key words: immunomorphology, toxic hepatitis, heptal.

УДК 616.832

Т. Ю. Степанова,

Т. О. Філіпова, *д-р біол. наук, проф.*,

Б. М. Галкін *д-р біол. наук, проф.*

ВПЛИВ ТИЛОРОНУ НА РІВЕНЬ ФНП- α , ІФН- γ ТА ІЛ-10 У ТКАНИНАХ МИШЕЙ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛЕРГІЧНИМ ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТОМ

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова МОН України

Проблема регуляції імунної відповіді за розсіяним склерозом (РС) і його експериментальною моделлю (експериментальним алергічним енцефаломієлітом — ЕАЕ) сьогодні є однією з найбільш гострих у терапії цієї складної нейро-

імунної патології. Все частіше для цього використовуються імуномодулятори з різними механізмами дії, одним з яких є тилорон (аміксин) — синтетичний низькомолекулярний індуктор ендogenous інтерферону.

Як відомо, за РС і ЕАЕ спостерігається посилення окисного метаболізму моноцитів, активується проліферація клітин-посередників макрофагів і, як наслідок, змінюється загальний стан цитокінового ланцюга імунітету за рахунок акти-