

УДК 612.017+591.434:616.36-002+616.24-008.6]-001.5

*І.Я. Криницька*

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет  
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України»*

## ПОКАЗНИКИ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНИМ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНИМ СИНДРОМОМ

В експерименті на щурах з модельованим гепатопульмональним синдромом досліджено зміни показників гуморального імунітету і вмісту циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові. Результати дослідження вказують на виражені порушення з боку гуморальної ланки імунітету, які проявляються зростанням функціональної активності В-лімфоцитів з підвищенням вмісту основних класів сироваткових імуноглобулінів (А, М, G) і збільшенням вмісту циркулюючих імунних комплексів.

**Ключові слова:** *гуморальний імунітет, кров, циркулюючі імунні комплекси, гепатопульмональний синдром.*

Гуморальний імунітет забезпечується імуноглобулінами різних класів, в основному IgM, IgG, IgA, які синтезуються плазматичними клітинами, що є кінцевим етапом диференціювання В-лімфоцитів під впливом антигенного стимулу і хелперного сигналу [1, 2]. Однією з важливих біологічних функцій імуноглобуліну є зв'язування антигену та утворення циркулюючого імунного комплексу (ЦІК). Важливою характеристикою ЦІК є їх розмір [3, 4]. Відомо, що великомолекулярні імунні комплекси, порівняно з іншими фракціями, швидко елімінуються внаслідок їх фагоцитозу клітинами макрофагальної фагоцитуючої системи, тоді як дрібномолекулярні імунні комплекси тривалий час циркулюють в крові, як правило, не спричиняючи значних пошкоджень органів і тканин. Саме середньомолекулярні імунні комплекси мають найбільшу патогенність в організмі хворих: вони відкладаються в стінках мікросудин, активують комплемент за альтернативним шляхом і тому сприяють підвищенню порозності мікросудин і порушенням мікрогемодинаміки [5].

Печінка відіграє важливу роль у формуванні як клітинної, так і гуморальної ланок імунної системи, а її ураження призводить до значних змін функціонального стану імунітету [6]. Є дані, що при захворюваннях печінки

знижується активність неспецифічної реактивності та розвивається явище імунного дистресу [7]. У пацієнтів з цирозом печінки невірусного генезу відмічалися чітко виражені порушення з боку імунологічного статусу, які можна охарактеризувати як вторинний імунодефіцитний стан [8].

Значна роль в імунній відповіді належить і мононуклеарним клітинним елементам, здатним до фагоцитозу. Функції макрофагів в організації імунної відповіді дуже різні: фагоцитоз, який забезпечує не лише знищення мікроорганізмів, але і зв'язування та виведення продуктів руйнування власних тканин; участь у клітинному імунітеті – стимуляція життєдіяльності клітин, обробка і презентація антигенного матеріалу, регуляція роботи Т-лімфоцитів; участь у гуморальному імунітеті – презентація АГ, активація В-лімфоцитів; протипухлинний імунітет і цитотоксичність; розвиток запальної реакції; регуляція кінінової системи й гемостазу [9, 10].

Патогенез гепатопульмонального синдрому детально вивчався в роботах [11–13], проте його імунологічна складова залишається недостатньо відомою. Тому доцільно проаналізувати особливості гуморальної ланки імунітету при гепатопульмональному синдромі, що буде сприяти поглибленню розуміння суті даного патологічного процесу

© І. Я. Криницька, 2013

й дасть можливість патогенетично обґрунтувати нові напрямки терапії.

Метою даної роботи було дослідити основні зміни показників гуморального імунітету і вміст ЦІК в крові щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом.

**Матеріал і методи.** Досліди проведені на 56 безпородних щурах-самцях масою 180–220 г. В процесі моделювання патології 8 тварин загинуло. Перша експериментальна модель гепатопульмонального синдрому створювалася шляхом накладання подвійної лігатури на загальну жовчовивідну протоку і подальшого її пересічення скальпелем [14]. Тварин (експериментальна група I, n=12) анестезували внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу натрію в дозі 40 мг/кг маси тварини. Виконавши розріз під мечовидним відростком, загальну жовчовивідну протоку відділяли від розташованих поруч тканин, накладали подвійну лігатуру вище і нижче місця запланованого перетину. Потім загальну жовчовивідну протоку пересікали скальпелем. У тварин контрольної групи I (n=12) загальна жовчовивідна протока була відділена від тканин, але не пересікалася. Післяопераційна рана пошарово, наглухо зашивалася. На 31-шу добу після операції тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом.

Друга експериментальна модель гепатопульмонального синдрому була створена шляхом 8-тижневого внутрішньошлункового введення олійного розчину  $CCl_4$  (400 г на 1 л) у дозі 0,5 мл на 100 г маси тіла тварин (експериментальна група II, n=12), в 1-й день експерименту, 0,3 мл на 100 г на 3-й день експерименту і далі кожного третього дня до закінчення експерименту 0,3 мл на 100 г. Додатково в раціон щурів було введено суміш кукурудзяної муки, смальцю і холестеролу та розчин алкоголю. Тварини контрольної групи II (n=12) перебували на стандартному раціоні віварію і отримували внутрішньошлунково оливкову олію в еквівалентній кількості [15].

Утримання тварин та експерименти проводилися у відповідності до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Гуморальну ланку імунітету оцінювали шляхом визначення рівня імуноглобулінів

класу А, М, G у сироватці крові біохімічним методом [16]. Суть методу полягає у фракціонуванні білків сироватки крові органічними розчинниками і буферними розчинами. Білково-буферні комплекси, які утворюються, змінюють оптичну щільність середовища. Фотометрію проводили при довжині хвилі 440 нм. Кількість циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові визначали преципітацією їх розчином поліетиленгліколю-6000 [16].

Результати обробили параметричними методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** Результати основних показників гуморального імунітету в сироватці крові щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом наведені в таблиці.

Як відомо, концентрація імуноглобулінів у сироватці крові відображає усталену рівновагу між їх синтезом і розпадом. Наші дослідження показали наявність вираженої дисімуноглобулінемії у тварин обох експериментальних груп. Так, у щурів експериментальної групи I (на 31-шу добу після перев'язки загальної жовчовивідної протоки) зафіксовано підвищення вмісту IgA в сироватці крові в 2,2 раза ( $p<0,002$ ) відносно щурів контрольної групи I. У щурів експериментальної групи II (після 8-тижневого введення тетрахлорметану) встановлено підвищення вмісту IgA в сироватці крові в 3,2 раза ( $p<0,001$ ) відносно щурів контрольної групи II (рис. 1).

При порівнянні вмісту IgA в сироватці крові тварин обох експериментальних груп виявлено його переважання на 61,5 % у щурів з тетрахлорметан-індукованим цирозом ( $p<0,01$ ).

Вміст IgM у щурів експериментальної групи I збільшився в 3,4 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи щурів I. У щурів експериментальної групи II встановлено підвищення вмісту IgM в сироватці крові в 2,3 раза ( $p<0,001$ ) відносно контрольної групи щурів II.

При порівнянні вмісту IgM в сироватці крові тварин обох експериментальних груп нами виявлено його переважання на 64,5 % у щурів на 31-шу добу після перев'язки загальної жовчовивідної протоки ( $p<0,001$ ).

Вміст IgG у щурів експериментальної групи I збільшився в 1,3 раза ( $p<0,05$ ) відносно щурів контрольної групи I. У щурів експери-

Показники гуморального імунітету в сироватці крові щурів ( $n=12$ )  
з модельованим гепатопульмональним синдромом ( $M\pm m$ )

| Показник    | Групи        |                               |               |   |
|-------------|--------------|-------------------------------|---------------|---|
|             | контрольна I | експериментальна I            | контрольна II | експериментальна II                           |
| IgA, г/л    | 0,35 ± 0,05  | 0,78 ± 0,09<br>$p_1 < 0,002$  | 0,39 ± 0,07   | 1,26 ± 0,12<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 < 0,01$  |
| IgM, г/л    | 0,91 ± 0,09  | 3,11 ± 0,10<br>$p_1 < 0,001$  | 0,83 ± 0,08   | 1,89 ± 0,11<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 < 0,001$ |
| IgG, г/л    | 2,05 ± 0,22  | 2,77 ± 0,23<br>$p_1 < 0,05$   | 2,47 ± 0,24   | 3,61 ± 0,18<br>$p_1 < 0,01$<br>$p_2 < 0,02$   |
| ЦК, ум. од. | 31,46 ± 1,25 | 53,52 ± 1,74<br>$p_1 < 0,001$ | 32,62 ± 1,32  | 51,07 ± 1,93<br>$p_1 < 0,001$<br>$p_2 > 0,05$ |

Примітка.  $p_1$  – різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами;  $p_2$  – у порівнянні з ураженими тваринами.

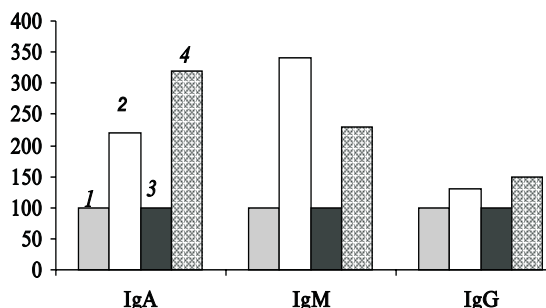


Рис. 1. Зміни показників гуморального імунітету в сироватці крові щурів:

- 1 – контрольна група I;
- 2 – експериментальна група I;
- 3 – контрольна група II;
- 4 – експериментальна група II

ментальної групи II встановлено підвищення вмісту IgG в сироватці крові в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ) відносно щурів контрольної групи II. При порівнянні вмісту IgG в сироватці крові тварин обох експериментальних груп виявлено його переважання на 30,3 % у щурів з тетра-хлорметан-індукованим цирозом ( $p < 0,02$ ).

Клітини синусоїдних гемокапілярів печінки (клітини Купфера, зірчасті клітини Іто) відіграють важливу роль у функціонуванні імунної системи організму як в нормі, так і при

патології [17]. Печінкова екстракція речовин, що зазвичай фагоцитуються клітинами Купфера, зменшується за умови цирозу. В даних умовах велика кількість бактеріальних продуктів кишкового походження, а особливо ендотоксини, що потрапляють у велике коло кровообігу, є циркулюючими антигенами, здатними активувати систему гуморального імунітету. Активовані В-лімфоцити продукують підвищену кількість імуноглобулінів, що підтверджується і нашими дослідженнями. Крім того, зниження печінкового поглинання та елімінації антигенів зумовлює підвищену продукцію антитіл селезінкою, яка є місцем специфічної імунної відповіді на антигени, що циркулюють у крові, а макрофаги селезінки беруть на себе функцію макрофагів печінки [18, 19].

Однією з важливих фізіологічних функцій імуноглобулінів є нейтралізація антигенів, у тому числі й аутоантигенів, з утворенням ЦК і наступною їх елімінацією з організму, яка спрямована на підтримку імунологічного гомеостазу. Але за певних умов ЦК можуть фіксуватися у судинній стінці та під базальними мембранами у деяких внутрішніх органах, включаючи й легені [20, 21]. Суб-

ендотеліальне відкладення імунних комплексів супроводжується рекрутуванням і активацією нейтрофілів і резидентних макрофагів, а продуковані ними кисневі радикали і протеази викликають вторинне пошкодження тканини легень [22, 23]. Тому ми вважали доцільним визначити вміст ЦІК у сироватці крові як важливу ланку патогенезу імунного ураження за умови гепатопульмонального синдрому (таблиця).

У щурів експериментальної групи I (на 31-шу добу після перев'язки загальної жовчовивідної протоки) вміст ЦІК у сироватці крові зріс на 70,1 % ( $p < 0,001$ ) відносно щурів контрольної групи I. У щурів експериментальної групи II (після 8-тижневого введення тетрахлорметану) встановлено підвищення вмісту ЦІК у сироватці крові на 56,6 % ( $p < 0,001$ ) відносно контрольної групи II (рис. 2). При порівнянні вмісту ЦІК у сироватці крові тварин обох експериментальних груп достовірних змін не виявлено.

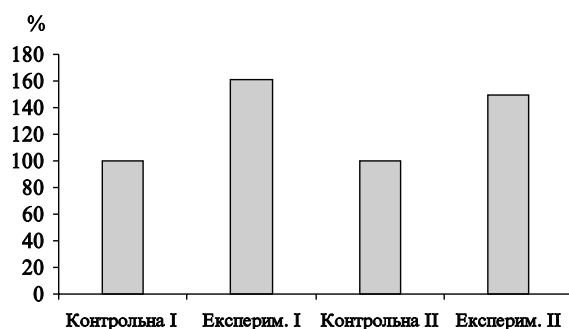


Рис. 2. Зміни вмісту ЦІК в сироватці крові досліджуваних тварин

Зростання вмісту ЦІК у сироватці крові щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом вказує на посилення інтенсивності утворення цих комплексів або/та на порушення механізмів їхньої елімінації. Імунні комплекси видаляються з організму за допомогою різних клітинних, біохімічних і ензиматичних процесів системою мононуклеарних і тканинних фагоцитів. Високі концентрації ЦІК при ефективній роботі

фагоцитів самі по собі не зумовлюють патологічно значуще відкладення імунних комплексів, але навіть незначне підвищення ЦІК при зниженому або паралізованому фагоцитозі може призвести до цього. Дуже важливе значення має функціональний стан печінки, де і відбувається руйнування імунних комплексів ретикулоендотеліоцитами. При фагоцитозі ЦІК різко зростають поглинання кисню, витрата глюкози, накопичення молочної кислоти. Така активація метаболізму супроводжується «окиснювальним вибухом» і споживанням великої кількості енергії. При функціональній недостатності системи макрофагів печінки різко послаблюється процес елімінації ЦІК [24]. Найбільш патогенними є імунні комплекси середнього розміру, що тривало циркулюють у судинному руслі і здатні ініціювати в тканинах ланцюг послідовних патологічних процесів [22, 23]. Вони можуть взаємодіяти з лімфоцитами і нейтрофілами, змінюючи їх функціональний стан, блокувати Fc-рецептори B-лімфоцитів, що призводить до зниження продукції антитіл.

### Висновки

У крові щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом спостерігаються виражені порушення з боку гуморальної ланки імунітету, які проявляються зростанням функціональної активності B-лімфоцитів з підвищенням вмісту основних класів сироваткових імуноглобулінів (A, M, G) і збільшенням вмісту циркулюючих імунних комплексів, що пов'язано з посиленням інтенсивності їх утворення і/або порушенням механізмів елімінації.

**Перспективність дослідження.** В перспективі наші дослідження будуть продовжені шляхом вивчення показників гуморального імунітету в бронхоальвеолярному змиві щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом і за умов застосування коригувальних чинників.

### Список літератури

1. Палійчук І. В. Вміст імуноглобулінів (IgM, IgG, IgE) у сироватці крові хворих на протезні стоматити різного генезу / І. В. Палійчук, М. М. Рожко, Р. В. Куцик // Галицьк. лікарськ. вісник. – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 87–90.

2. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник; 3-е изд., доп. – К.: Полиграф плюс, 2006. – 482 с.
3. Шаповалова І. О. Рівень циркулюючих імунних комплексів та їхній молекулярний склад у хворих на хронічний токсичний гепатит, поєднаний з хронічним некалькульозним холециститом / І. О. Шаповалова // Укр. мед. альманах. – 2008. – Т. 11, № 4. – С. 193–195.
4. Осипов С. Г. Методы определения циркулирующих иммунных комплексов (обзор литературы) / С. Г. Осипов, В. В. Еремеев, В. И. Рудиев // Лаб. дело. – 1983. – № 11. – С. 3–7.
5. Терьошин В. О. Вплив циклоферону на рівень циркулюючих імунних комплексів та їх фракційний склад у хворих на неалкогольний стеатогепатит / В. О. Терьошин // Укр. морфол. альманах. – 2011. – Т. 9, № 2. – С. 87–90.
6. Печень и иммунологическая реактивность / И.Н. Алексеева, Т.М. Брызгина, С.И. Павлович, Н.В. Ильчевич. – К.: Наук. думка, 1991. – 168 с.
7. Назар П. С. Особливості змін показників клітинного імунітету у хворих на алкогольне ураження печінки / П. С. Назар, О. І. Осадча, М. М. Левон // Клін. та експерим. патологія. – 2012. – Т. XI, № 1 (39). – С. 119–121.
8. Прудникова І. В. Стан клітинної ланки імунітету у хворих на цироз печінки невірусного генезу на тлі нейроциркуляторної дистонії / І. В. Прудникова // Укр. мед. альманах. – 2008. – Т. 11, № 6. – С. 154.
9. Андрейчин М. А. Клінічна імунологія та алергологія / М. А. Андрейчин, В. В. Чоп'як, І. Я. Господарський. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2005. – 372 с.
10. Куценко С. А. Основы токсикологии / С. А. Куценко. – СПб, 2002 // Режим доступу до журн.: <http://www.medline.ru/public/monografy/toxicology/contents1p>
11. Degano B. Nitric oxide production by the alveolar compartment of the lung in cirrhotic patients / B. Degano // Eur. Respir. J. – 2009. – Vol. 34. – P. 138–144.
12. Fallon M. B. Mechanisms of pulmonary vascular complications of liver disease. Hepatopulmonary syndrome / M. B. Fallon // J. Clin. Gastroenterol. – 2005. – Vol. 39. – P. 138–142.
13. Rodriguez-Roizin R. Hepatopulmonary syndrome – a liver-induced lung vascular disorder / R. Rodriguez-Roizin, M. J. Krowka // New England J. Medicine. – 2008. – Vol. 358. – P. 2378 – 2387.
14. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome / M. B. Fallon, G. A. Abrams, J. W. McGrath [et al.] // Am. J. Physiol. – 1997. – Vol. 272. – P. 779 – 784.
15. Multiple pathogenic factor-induced complications of cirrhosis in rats: A new model of hepatopulmonary syndrome with intestinal endotoxemia / Hui-Ying Zhang, De-Wu Han, Zhong-Fu Zhao [et al.] // World J. Gastroenterology. – 2007. – Vol. 13 (25). – P. 3500–3507.
16. Чернушенко Е. Ф. Иммунологические методы исследования в клинике / Е. Ф. Чернушенко, Л.С. Когосова. – К.: Здоров'я, 1978. – 159 с.
17. Журавлєва Л. В. Влияние комбинированной терапии на иммунный статус больных гипертонической болезнью с нарушением функции печени / Л. В. Журавлєва, О. Н. Ковалєва // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 5 (31). – С. 11–15.
18. Correlation between hepatic morphology and immunoglobulins and antibodies to Escherichia coli in cirrhosis / H. Prytz, M. Jorneboe, P. Christoffersen [et al.] // Gut. – 1977. – Vol. 18. – P. 28–32.
19. Павлова И. Е. Влияние спленэктомии на состояние иммунной системы у больных с синдромом портальной гипертензии: отдаленные результаты / И. Е. Павлова // Вестник С.-Пб. ун-та. – 2007. – Сер. 11, Вып. 3. – С. 118–127.
20. Марущак М. І. Особливості патогенетичних механізмів ендогенної інтоксикації та гуморального імунітету при експериментальному гострому ураженні легень / М. І. Марущак // Вісник наукових досліджень. – 2011. – № 3. – С. 108–112.
21. Матвеев С. Б. Оценка эндогенной интоксикации по показателям среднемолекулярных пептидов при неотложных состояниях / С. Б. Матвеев, Н. В. Федорова, М. А. Годков // Клин. лаб. – 2009. – № 5. – С. 16–18.

22. Ward P. A. Oxidative stress: acute and progressive lung injury / P. A. Ward // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2010. – Vol. 1203. – P. 53–59.

23. Лебедева Е. С. Влияние иммуносупрессии на пневмотоксический эффект диоксида азота / Е. С. Лебедева, Т. Н. Преображенская, И. В. Двораковская // Биомед. журн. – 2012. – Т. 13. – С. 103–111.

24. Иванов И. И. Значение определения уровня циркулирующих иммунных комплексов в оценке эффективности лечения преэклампсии беременных / И. И. Иванов, Е. Н. Прочан // Таврич. мед.-биол. вестник. – 2010. – Т. 13, № 4 (52). – С. 62–67.

**И. Я. Криницкая**

#### **ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У КРЫС С МОДЕЛИРОВАННЫМ ГЕПАТО-ПУЛЬМОНАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ**

В эксперименте на крысах с моделированным гепатопульмональным синдромом исследовано изменение показателей гуморального иммунитета и содержания циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови. Результаты исследования указывают на выраженные нарушения со стороны гуморального звена иммунитета, которые проявляются ростом функциональной активности В-лимфоцитов сповышением содержания основных классов сывороточных иммуноглобулинов (А, М, G) и увеличением содержания циркулирующих иммунных комплексов.

**Ключевые слова:** гуморальный иммунитет, кровь, циркулирующие иммунные комплексы, гепатопульмональный синдром.

**I. Ya. Krynytska**

#### **INDEXES OF HUMORAL IMMUNITY IN RATS WITH MODULATED HEPATOPULMONARY SYNDROME**

In experiments on rats with modulated hepatopulmonary syndrome the changes in the indexes of humoral immunity in blood were studied. Results of the investigation indicate a pronounced imbalance of humoral immunity, manifested by increasing of functional activity of B-lymphocytes with increasing content of the major classes of serum immunoglobulins (A, M, G) and increasing content of circulating immune complexes.

**Key words:** humoral immunity, blood, circulating immune complexes, hepatopulmonary syndrome

*Поступила 11.03.13*