

С.Д. Жамсаранова, А.Г. Гонгаева

ОЦЕНКА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ АУТОЛИЗАТОВ СЕЛЕЗЕНКИ ЯКОВ НА МОДЕЛИ АЗАТИОПРИНОВОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» (Улан-Удэ)

В данной работе на модели иммуносупрессии рассматривается влияние аутолизатов, выделенных из селезенки яков, на показатели клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа экспериментальных животных (мышей). Оценена нейротропная активность указанных средств. Установлено, что тимическая ростстимулирующая активность коррелирует с иммуномодулирующей и нейротропной.

Ключевые слова: аутолизаты селезенки яков, иммуносупрессия

ESTIMATION OF IMMUNOBIOLOGICAL EFFICIENCY OF YAKS SPLEEN AUTOLYSATES ON THE MODEL WITH AZATHIOPRINE IMMUNOSUPPRESSION

S.D. Zhamsaranova, A.G. Gongayeva

East-Siberia State University of Technology and Management, Ulan-Ude

The article on the immunodeficiency model describes the influence of autolysates isolated from yaks spleen on the performance of cellular and humoral immune response of experimental animals (mice). Neurotropic activity of these funds was estimated. Found that thymic growth stimulate activity correlates with immunomodulatory and neurotropic.

Key words: autolysates of yaks spleen, immunosuppression

По современным представлениям регуляция гомеостаза многоклеточных систем осуществляется с помощью нейроэндокринных, иммунологических систем, клеточных и молекулярных механизмов. Наиболее изучена роль нервных и гормональных воздействий на процессы, позволяющие организму контролировать постоянство внутренней среды. Функция иммунной системы рассматривается как висцеральная, обеспечивающая сохранение генетического постоянства внутренней среды организма, т.е. она является одним из гомеостатических механизмов целостного организма.

Уникальные свойства эндогенных медиаторов давно уже привлекали к себе пристальное внимание в плане разработки средств коррекции тех или иных изменений в работе системы иммунитета. Наибольшие успехи в этом направлении стали возможными после открытия регуляторных пептидов центральных органов иммунитета (тимуса и костного мозга), а впоследствии и периферических органов иммунной системы. В настоящее время в клинической практике применяются следующие препараты тимуса, костного мозга, селезенки и их синтетические аналоги: тималин, тактивин, тимозин, тимактид, спленин, миелопид и пр.

Целью данной работы явилось изучение нейроиммунобиологических свойств аутолизатов селезенки яков в экспериментах на лабораторных животных на фоне иммунодефицита, вызванного азатиоприном.

МЕТОДИКА

Для исследований использовали селезенку от клинически здоровых молодых яков (фермерские хозяйства Окинского района Республики Бурятия,

благополучные по эпидемиологическому окружению).

За основу выделения аутолизатов селезенки яков была взята модифицированная схема В. Я. Ариона [1]. В дальнейшем, нами были оптимизированы основные технологические параметры ключевого этапа — аутолиза — с использованием математического метода Протождяконова [2].

В ходе исследования нами были использованы аутолизаты селезенки яков с высокой (№ 1), средней (№ 2) и низкой (№ 3) тимической ростстимулирующей активностью.

Изучение тимической ростстимулирующей активности аутолизатов селезенки в реакции «активного розеткообразования» тимоцитов морской свинки с эритроцитами кролика проводили согласно ВС 42-1571-85.

В постановке экспериментов руководствовались требованиями приказов № 1179 МЗ СССР (11.10.1983 г.) и № 267 МЗ РФ (19.06.2003 г.), «Правилами по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных» (МЗ СССР, 1977 г.; МЗ РСФСР, 1977 г.).

На следующем этапе работы изучали нейроиммуномодулирующую активность аутолизатов селезенки с высокой, средней и низкой биологической активностью. Экспериментальная часть была выполнена на белых беспородных мышьях-самцах массой 18—20 г. Первая группа мышьях — интактная — животные находились на общевиварном рационе. У второй группы животных иммунодефицит воспроизводили пероральным введением иммунодепрессанта — цитостатика азатиоприна (Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко, Россия) в концентрации 50 мг/кг массы тела 1 раз в сутки

в течение 5 дней. Третьей, четвертой и пятой группам животных до еды на фоне иммуносупрессии вводили аутолизаты селезенки яков в дозе 0,1 мг/кг массы тела животного 1 раз в сутки в течение 7 дней. Введение азатиоприна и исследуемых образцов осуществляли перорально с помощью металлического зонда. Животных фиксировали головой вверх, запрокидывая ее назад. Зонд продвигали под языком по задней стенке по ходу пищевода.

Оценка влияния аутолизатов на состояние иммунной системы экспериментальных животных осуществлялась путем определения следующих показателей: массы животных, абсолютных и относительных значений масс органов иммунной системы (тимуса и селезенки), клеточности тимуса и селезенки, индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и титра гемагглютининов (ГА).

Показатель титра гемагглютининов, отражающий функциональную активность В-системы иммунитета, и индекс реакции ГЗТ, характеризующий активность Т-системы иммунитета, определяли согласно МУК 2.3.2.721-98 [4].

Для оценки нейротропной активности использовали тест «открытое поле», в основе которого лежат безусловнорефлекторные поведенческие акты [5]. Установка «открытое поле» представляет собой камеру размером 120 × 120 см. Пол камеры разделен равномерно линиями на 9 квадратов с 16 отверстиями диаметром 4 см. В процессе 3-минутного пребывания животного в открытом поле регистрировали следующие показатели: перемещения с квадрата на квадрат (горизонтальная двигательная активность), количество вставаний на задние конечности (вертикальная двигательная активность), количество умываний (груминг) и количество актов дефекации по числу фекальных шариков (болусов).

Статистическую обработку данных проводили с вычислением средних арифметических и их доверительных интервалов при $p < 0,05$. Для оценки достоверности результатов использовали параметрический критерий статистической обработки данных по методу Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Состояние иммуносупрессии создавали с помощью цитостатика — азатиоприна. Для оценки

иммунологических показателей у экспериментальных животных были выделены органы иммунной системы — селезенка и тимус, у которых была определена масса и клеточность.

В результате проведенных исследований установлено, что под воздействием иммунодепрессанта азатиоприна в экспериментальной группе № 2 наблюдалось снижение показателей массы тела животных, абсолютных и относительных значений масс тимуса и селезенки, а также их клеточности. Использование же аутолизатов приводило к восстановлению данных показателей.

Показатели клеточности иммунных органов, а также результаты реакций ГЗТ и ГА приведены в таблице 1.

К числу эффектов, направленность которых определяется видом клеток-мишеней и характером имеющихся повреждений, в первую очередь следует отнести формирование иммунного ответа на тимусзависимый антиген, в качестве которого использовали эритроциты барана, отмытые изотоническим раствором хлористого натрия. Как следует из представленных данных, применение аутолизатов селезенки на фоне иммуносупрессии способствовало увеличению количества антиэритроцитарных антител. Введение этих образцов в третьей, четвертой и пятой группах восстанавливало показатель реакции ГА на 63,3; 25,3; 20,3 %, соответственно, по отношению к интактной группе животных. Опытные образцы оказали также модулирующее действие на реакцию гиперчувствительности замедленного типа. Все аутолизаты вызывали достоверное увеличение индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа относительно соответствующих показателей в группе животных, получавших азатиоприн.

Известно, что нервная и эндокринная системы модулируют функции иммунной системы с помощью нейротрансмиттеров, нейропептидов и гормонов, а иммунная система взаимодействует с нейроэндокринной системой с помощью цитокинов, иммунопептидов и других иммунотрансмиттеров. В настоящее время установлена роль эндогенных пептидов в формировании компенсаторно-приспособительных реакций организма в ответ на стресс и нарушения гомеостаза. Система регуляторных пептидов рассматривается в качестве

Таблица 1

Влияние аутолизатов селезенки на клеточность тимуса и селезенки, индекс реакции ГЗТ и титр гемагглютининов (ГА) экспериментальных животных на фоне азатиоприновой иммуносупрессии ($M \pm m$, $n = 10$)

№ группы	Вариант опыта	Клеточность селезенки, $\times 10^6$	Клеточность тимуса, $\times 10^6$	Индекс реакции ГЗТ	Титр ГА, 1/Г
1	Интактная	$126 \pm 9,0$	$57,8 \pm 4,1$	$0,35 \pm 0,03$	$31,6 \pm 4,9$
2	Азатиоприн (Аз)	$102 \pm 10,5$	$50,3 \pm 3,9$	$0,22 \pm 0,03^{*1}$	$2,9 \pm 0,6^{*1}$
3	Аз+аутолизат (№1)	$136,5 \pm 4,9^{*2}$	$55,8 \pm 3,0$	$0,32 \pm 0,03^{*2}$	$20,0 \pm 3,9^{*2}$
4	Аз+ аутолизат (№2)	$127,5 \pm 19,0$	$69,3 \pm 6,9^{*2}$	$0,31 \pm 0,03^{*2}$	$8,0 \pm 1,9^{*2}$
5	Аз+ аутолизат (№3)	$167 \pm 11,3^{*1,2}$	$51,5 \pm 2,5$	$0,31 \pm 0,04^{*2}$	$6,4 \pm 0,8^{*2}$

Примечание: *1,2 – различия достоверны относительно первой или второй группы.

Таблица 2

Влияние исследуемых аутолизатов на поведение животных в тесте «открытое поле»

№ группы	Исследуемые группы	ЦК	ПК	ВА	ДА	Гр	Б
1	Интактные	10,7 ± 2,9	140 ± 14,8	8,1 ± 0,98	158,8 ± 5,2	1,8 ± 0,2	1,2 ± 0,3
2	Азатиоприн (Аз)	3,36 ± 2,0 * ¹	41,4 ± 7,0 * ¹	4,34 ± 0,5 * ¹	49,1 ± 3,8 * ¹	1,4 ± 0,4	1,5 ± 0,4
3	Аз+ аутолизат (№1)	—	96,4 ± 11,9 * ^{1,2}	7,6 ± 1,2 * ²	104 ± 4,4 * ^{1,2}	1,8 ± 0,2	2,0 ± 0,3
4	Аз+ аутолизат (№2)	4,8 ± 1,6 * ¹	71,5 ± 7,8 * ^{1,2}	6,1 ± 0,75	82,4 ± 2,8 * ^{1,2}	2,3 ± 0,5	1,3 ± 0,4
5	Аз+ аутолизат (№3)	4,2 ± 0,9 * ¹	63,7 ± 7,1 * ^{1,2}	5,3 ± 0,34	73,2 ± 2,3 * ^{1,2}	2,0 ± 0,3	1,7 ± 0,3

Примечание: * ^{1,2} – $p < 0,05$ относительно 1-й или 2-й группы, ЦК – центральные квадраты, ПК – периферические квадраты, ВА – вертикальная (познавательная) активность, ДА – общая двигательная активность, Гр – груминг, Б – болюсы.

универсальной при нейроиммуноэндокринных взаимодействиях [3, 6].

Из таблицы 2 видно, что животные, получавшие аутолизаты селезенки яков, проявляли высокую общую двигательную активность. Количество посещений квадратов и вставаний на задние конечности у мышей третьей, четвертой и пятой групп в 2,1, 1,7 и 1,5 раза соответственно превышало общую двигательную активность животных второй группы.

Включение в рацион питания животных аутолизата с высокой ростстимулирующей активностью на фоне иммуносупрессии, повысило вертикальную двигательную активность на 75 %, что, в свою очередь, относительно показателей контрольной группы составило 93,8 %. Данный аутолизат восстанавливал показатели актов груминга и дефекации до уровня контрольной группы. Показатели познавательной деятельности мышей, получавших биорегуляторы со средней и низкой ростстимулирующей активностью, увеличились на 40, 5 и 22,1 % и составили 75,3 и 65,4 % соответственно относительно контрольной группы.

ВЫВОДЫ

1. Проведенные исследования свидетельствуют об иммунобиологической эффективности полученных образцов, так как они восстанавливали показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета на фоне иммунодепрессии, вызванной азатиоприном.

Сведения об авторах

Жамсаранова Сэсэгма Дашиевна – д.б.н., профессор, заведующий кафедрой «Биоорганическая и пищевая химия» Института пищевой инженерии и биотехнологии (ИПИБ), Восточно-Сибирского государственного университета технологий и управления (ВСГУТУ) (670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, д. 40В, стр. 1; тел.: 8 (3012) 43-14-15, тел. сот.: 89246522858; тел. служебный 8 (3012) 41-71-46; e-mail: office@esstu.ru)

Гонгаева Аюна Галдановна – аспирант 3-го года обучения ВСГУТУ, ИПИБ, кафедра «Биоорганическая и пищевая химия» (670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 60; тел. сот.: 89246530700; тел. служ.: 8 (3012) 417146; e-mail: gonza10.05.87@mail.ru)

2. Исследуемые образцы обладали нейромодулирующей активностью, выражающейся в усилении поведенческих реакций экспериментальных животных на фоне азатиоприновой иммуносупрессии.

3. Степень выраженности нейроиммунобиологической эффективности исследуемых аутолизатов селезенки яков проявлялась в зависимости от уровня тимической ростстимулирующей активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арион В.Я. Иммунологически активные факторы тимуса // Итоги науки и техники. Сер. Иммунология / ВИНТИ. – 1981. – Т. 9. – С. 10–50.
2. Гонгаева А.Г., Битуева А.В., Жамсаранова С.Д. Оптимизация этапа аутолиза гомогената селезенки яков на основе математического метода планирования эксперимента // Вестник ВСГУТУ. – Улан-Удэ, 2011. – № 4 (35). – С. 109–114.
3. Корнева Е.А., Шхинек Э.К. Гормоны и иммунная система. – Л.: Наука, 1988. – 251 с.
4. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище: Методические указания – М., 1998. – 86 с.
5. Bhattacharya S.K., Satyan K.S. Experimental methods for evaluation of psychotropic agents in rodents I. Antianxiety agents // Indian J. Exp. Biol. – 1997. – Т. 35, N 6. – P. 565–575.
6. Fabry Z., Raine C.S., Hart M.N. Nervous tissue as an immune compartment: The dialect of the immune response in the CNS // Immunol. Today. – 1994. – Vol. 15, N 5. – P. 218–224.