

UNTRADITIONAL CORRECTION OF MAINTENANCE AND SIZES OF IMMUNE COMPLEXES AT AN EXPERIMENTAL TOXIC-DUST BRONCHITIS

Krushevsky V.D.

НЕТРАДИЦИОННАЯ КОРРЕКЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ И РАЗМЕРОВ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИКО-ПЫЛЕВОМ БРОНХИТЕ

В

последние годы отмечается увеличение хронических неспецифических заболеваний легких, в первую очередь, профессионального хронического бронхита (ХБ). В настоящее время это заболевание занимает одно из первых мест в профессиональной заболеваемости [1, 2].

ХБ сопровождается существенными изменениями в иммунном статусе. Поэтому при лечении ХБ в клинике проводят коррекцию этих нарушений с использованием различных иммуностропных лекарственных средств, применение которых становится в настоящее время стратегией, призванной служить повышению эффективности общепринятого патогенетического лечения [3].

Иммунологические исследования используются для оценки тяжести заболевания, выяснения причин часто возникающих и длительно текущих патологических процессов. Особое значение приобретают исследования, направленные на выяснение состояния различных звеньев иммунной системы, выявление нарушений в них и определение возможности их коррекции.

Для профессиональных легочных заболеваний наиболее информативными критериями эффективности иммунокоррекции является снижение ранее повышенных уровней циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) [4].

Известно также, что важной характеристикой ЦИК является их размер. Комплексы, которые образовывались при избытке антигена, имеют небольшой размер, не активируют комплемент и не вызывают воспалительный процесс. ЦИК, которые образовались при избытке антител, хоть и способны активировать комплемент, но имеют большой размер, бы-

стро фагоцитируются и имеют небольшую патогенность. Наибольшим патогенным потенциалом владеют ЦИК средних размеров, которые образуются при незначительном избытке антигена, способны активировать комплемент и при этом трудно элиминируются [5].

По данным клинических и экспериментальных исследований физико-химических свойств ИК в сыворотке крови, в частности их размеров, при ХБ профессиональной этиологии отмечается усиленное формирование ЦИК средних размеров, т. е. наиболее патогенных [6-8].

Однако сведения о взаимосвязи содержания и размеров ЦИК в организме при профессиональном ХБ, а также о способах повышения эффективности иммуностропных средств сегодня весьма немногочисленны [7-10].

Целью данной работы является разработка наиболее эффективных комплексов иммуностропных средств по коррекции формирования ЦИК при экспериментальном токсико-пылевом бронхите.

Материалы и методы исследования. Для реализации поставленной цели был смоделирован экспериментальный токсико-пылевой бронхит с получением характерных морфологических изменений в бронхо-легочной системе [11].

Исследования проводились на 130 беспородных белых крысах. Все подопытные животные подвергались трехмесячному сочетанному ингаляционному воздействию оксидов азота и аморфного диоксида кремния в концентрации 5 ПДК и 15-20 ПДК соответственно 5 раз в неделю по 4 часа.

Оксиды азота получали в колбе Вюрца реакциями взаимодействия 44,4% водного раствора Na_2NO_2 с 50% водным раствором серной кислоты,

КРУШЕВСКИЙ В.Д.

Украинский НИИ
промышленной медицины,
г. Кривой Рог

УДК 612.112.94:616.233-
002(001.891.53)

*НЕТРАДИЦІЙНА КОРЕКЦІЯ
ВМІСТУ ТА РОЗМІРІВ ІМУННИХ
КОМПЛЕКСІВ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ
ТОКСИКО-ПИЛОВОМУ
БРОНХІТІ*

Крушевський В.Д.

*У експерименті на 130
нелінійних білих щурах третьої
категорії якості змодельовано
експериментальний
токсико-пилувий хронічний
бронхіт для виявлення змін у
формуванні та накопиченні ЦІК
різних розмірів у сироватці
крові і легенях.*

*Встановлено, що для
патогенезу експериментального
токсико-пилового
бронхіту характерне
формування і накопичення
у сироватці крові легень ЦІК
середніх, найбільш
патогенних розмірів.*

*Розроблено спосіб активації
воднорозчинних імунокоректорів та антиоксидантів.*

которые подавались в цилиндрическую затравочную камеру емкостью 1 м^3 с помощью воздушной барботации. Контроль за концентрацией оксидов азота в камере осуществлялся фотометрически через каждые 30 минут [12].

Из аэрозолей был выбран аморфный диоксид кремния с размером частиц менее 1 мкм с удельной поверхностью $100\text{ м}^2/\text{г}$, критерием для выбора которого была концепция повышенной скорости клиренса пылевых частиц, обусловленная их гидрофобностью.

Для отработки режимов ингаляции использовались эжекционно-дисковые пылеподатчики. Измерения концентраций пыли в камерах осуществлялись стандартным гравиметрическим методом на фильтры АФА-ВП-20. Отбор проб пыли проводился на протяжении всего срока ингаляционных затравок дискретно с 1-2-минутными перерывами на замену фильтра.

Для иммунокоррекции использовались препарат вилочковой железы тимоген и препарат селезенки — спленин.

Иммунокорректоры вводили ежедневно внутримышечно на протяжении последних двух недель от начала опыта в таких дозах: тимоген — $1\text{ мкг}/100\text{ г}$, спленин — $0,29\text{ мкл}/100\text{ г}$.

Учитывая взаимосвязь иммунных и свободнорадикальных процессов введение иммуностропных средств осуществляли в сочетании с антиоксидантами прямого действия: аевитом, аскорбиновой и липоевой кислотой.

Антиоксиданты вводились ежедневно перорально в течение последних двух месяцев от начала ингаляционных воздействий бронхитогенных агентов в таких дозах: аевит — 5 мг на 100 г массы тела, липоевая кислота — $0,14\text{ мг}$ на 100 г массы тела, аскорбиновая кислота — $0,6\text{ мг}/100\text{ г}$.

Для уменьшения погрешности вводимых доз антиоксидантов и иммунокорректоров мы использовали следующие их разведения в изотоническом растворе хлорида натрия $\text{pH}=7,3$: аскорбиновая кислота — $0,24\%$, липоевая кислота — $0,24\%$, тимоген — $0,0004\%$, спленин — $0,12\%$. Аевит (в подсолнечном масле) — $0,7\%$ (1 мл раствора содержит $0,75\text{ мг}$ аевита).

UNTRADITIONAL CORRECTION OF MAINTENANCE AND SIZES OF IMMUNE COMPLEXES AT AN EXPERIMENTAL TOXIC-DUST BRONCHITIS **Krushevsky V.D.**

In experiment on 130 nonlinear white rats of the third category of quality after classification the experimental toxic-dust chronic bronchitis were simulated for revealing changes in formation and accumulation of the circulatory immune complexes in blood serum and lungs. It is determined that at pathogenesis of experimental toxic-dust bronchitis the CIC of the average most pathogenic measurements are formed and accumulated in blood serum and lungs. Developed method of activating of hydrogen-dissolved of correction immunity and antioxidants.

Кроме этого для увеличения биологической активности водорастворимых растворов антиоксидантов и иммунокорректоров осуществлялось их разведение в изотоническом растворе хлорида натрия с содержанием водородных ионов $1,25 \cdot 10^{-3}\text{ г-ион}/\text{л}$ ($\text{pH}=2,9$). Это обусловлено механизмом ингибирования свободнорадикального окисления (СРО) антиоксидантами прямого действия, т.е. восстановлением активных свободных радикалов антиоксидантами в стабильную молекулярную форму, в результате чего происходит окисление антиоксиданта в радикал: $\text{R}^\circ + \text{InH} > \text{RH} + \text{In}^\circ$. Эти антиоксидантные радикалы как пассивные частицы не способны продолжить цепь аутоокисления, но и не способны к дальнейшему ингибированию СРО. Поэтому введение антиоксидантов в организм с избытком водородных ионов позволяет реактивировать их ингибирующую способность.

Исследования проводились на 10 опытных сериях животных с различными комбинациями сочетанного действия иммунокорректоров и антиоксидантов:

- 1 серия: тимоген + аевит;
- 2 серия: тимоген[°] + аевит (° — активированный раствор);
- 3 серия: спленин + аевит;
- 4 серия: спленин[°] + аевит;
- 5 серия: тимоген + спленин + липоевая к-та;
- 6 серия: тимоген + спленин + липоевая к-та[°];
- 7 серия: тимоген + спленин + липоевая к-та + аскорбиновая к-та;
- 8 серия: тимоген[°] + спленин[°] + липоевая к-та[°] + аскорбиновая к-та[°];
- 9 серия: тимоген + спленин + аскорбиновая к-та;
- 10 серия: тимоген + спленин + аскорбиновая к-та[°]; и на 2 контрольных сериях животных:

11 серия: животных подвергали бронхитогенным ингаляциям без корректоров;

12 серия: интактные животные.

По завершении ингаляционных экспозиций животных умерщвляли декапитацией. Отпрепарированные легкие измельчили препаровальными ножницами, гомогенизировали в изотоническом растворе хлорида натрия в соотношении 1:10, определяли содержание и размеры ЦИК в сыворотке крови и в фильтрате гомогената легких [13, 14].

Результаты исследований и их обсуждение. Анализ результатов исследования по сравнительной оценке эффективности коррекции содержания и размеров ЦИК при воздействии различных комбинаций иммунокорректоров и антиоксидантов при экспериментальном токсико-пылевом бронхите показал, что наибольшей биологической активностью обладает комплекс тимогена, спленина, липоевой и аскорбиновой кислот с содержанием водородных ионов $1,25 \cdot 10^{-3}\text{ г-ион}/\text{л}$. В этом случае показатели содержания ЦИК в крови и в легких подопытных животных не имеют достоверных отличий от таковых у интактных животных серии № 12, но почти в 2 раза ниже, чем в 11 контрольной серии животных (табл. 1). При этом средний коэффициент, определяющий их размеры, значительно выходит за пределы наиболее патогенных ЦИК и соответствует в крови в 80% случаев, а в легких — в 70% малым размерам комплексов, которые не активируют комплемент и не вызывают воспалительный процесс (табл. 2).

Дальнейшее распределение снижения эффективности коррекции содержания ЦИК как

крови, так и в легких у экспериментальных животных происходит в следующей последовательности: серии № 6, 2, 1, 10, 4, 5, 8, 3, 9, 11.

При этом необходимо отметить, что в зависимости от увеличения содержания ЦИК в этом распределении отмечается увеличение формирования комплексов средних размеров. Например, у интактных животных в 70-80% случаев обнаружены ЦИК малых размеров, у контрольных животных 11 серии преобладают средние комплексы (62,5-75%). У животных 3, 5, 8 и 9 серий этот средний показатель близок к коэффициенту средних размеров комплексов и в крови, и в легких (табл. 2).

Нельзя утверждать, что результаты активации водорастворимых иммунокорректоров и антиоксидантов при

различных исследованных комбинациях их воздействия на экспериментальных животных в данном опыте носит линейную зависимость. То есть, если первое место по эффективности ингибирования накопления ЦИК в крови и легких животных заняла седьмая серия, где все вводимые растворы были активированы, то серия с аналогичной комбинацией, но без активации находится на 10 месте. А в случае сочетанного действия тимогена и аевита активация увеличивает эффективность лишь на одну позицию (серии № 1, 2).

Тем не менее, во всех исследованных комбинациях показана более высокая эффективность водорастворимых иммунокорректоров и антиоксидантов с повышенным содержанием водородных ионов (табл. 1, 2).

Выводы

1. Увеличение содержания водородных ионов до $1,25 \cdot 10^{-3}$ г-ион/л в растворах иммунокорректоров и антиоксидантов активирует их ингибирующую способность к накоплению ЦИК в крови и легких, а также формированию комплексов средних, наиболее патогенных размеров при экспериментальном токсико-пылевом бронхите до контрольных параметров.

2. Наиболее эффективным иммуностропным средством по выведению ЦИК и особенно наиболее патогенных в данных исследованиях является сочетанное действие активированного комплекса тимогена, спленина, липоевой и аскорбиновой кислот.

3. Комбинирование неактивированных и активированных иммунокорректоров и антиоксидантов за счет увеличения содержания водородных ионов до $1,25 \cdot 10^{-3}$ г-ион/л не может быть универсальным и требует соответствующей корректировки в каждом конкретном случае.

4. Соотношение содержания и размеров ЦИК в крови и легких экспериментальных животных в зависимости от исследованных комплексов иммуностропных средств прямо пропорционально их эффективности, т. е. снижению концентрации ЦИК сопутствует уменьшение формирования средних, наиболее патогенных комплексов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кундиев Ю.И. Медицина труда на Украине на пороге XXI века // Медицина труда и промышленная экология. — 1998. — № 6. — С. 9-13.
2. Измеров Н.Ф. Медицина труда в третьем тысячелетии // Медицина труда и промышлен-

Таблица 1

Содержание иммунных комплексов в сыворотке крови и гомогенатах легких белых крыс при воздействии на них различных комбинаций иммунокорректоров и антиоксидантов в динамике экспериментального токсико-пылевого бронхита

№	Количество ИК в 1 мл				Наименование корректоров
	Кровь	n	Легкие	n	
1	1924,1±219,6(*)(**)	9	1676,7±225,7(*)	9	Тимоген + аевит
2	1884,7±169,2(*)(**)	12	1777,2±130,2(*)(**)	12	Тимоген ^o + аевит
3	2190,0±207,3(**)	13	2052,6±210,6(**)	13	Спленин + аевит
4	2005,0±289,5(**)	10	1868,7±285,9(*)	10	Спленин ^o + аевит
5	2059,3±229,1(**)	18	1928,6±206,3(*)(**)	18	Тимоген+спленин+липовая к-та
6	1798,9±166,3(*)(**)	7	1757,6±156,2(*)(**)	7	Тимоген+спленин+липовая к-та ^o
7	2200,0±233,3(**)	8	2083,3±266,7(**)	8	Тимоген+спленин+липовая к-та +аскорбиновая к-та
8	1633,3±100,0(*)(**)	10	1500,0±210,0(*)	10	Тимоген ^o +спленин ^o +липовая к-та ^o +аскорбиновая к-та ^o
9	2133,3±133,3(**)	9	1966,7±200,0(*)(**)	9	Тимоген+спленин+аскорбиновая к-та
10	1946,7±220,0(**)	9	1766,7±100,0(*)(**)	9	Тимоген+спленин+аскорбиновая к-та ^o
11	2833,3±366,7	8	2800,0±300,0	8	Контроль без корректоров
12	1164,3±166,7	15	1133,3±233,3	15	Контроль интактные

Примечания к таблицам 1 и 2:

(*) — различия достоверны, $P < 0,05$ (относительно серии № 11);

(**) — различия достоверны, $P < 0,05$ (относительно серии № 12);

^o — активированные иммунокорректоры и антиоксиданты;

n — количество животных.

ленная экология. — 1998. — № 6. — С. 4-9.

3. Диева Л.А. Значение иммунокорректоров в комплексной терапии профессиональных заболеваний бронхолегочной системы // Медицина труда и промышленная экология. — 2002. — № 12. — С. 37-44.

4. Чернушенко Е.Ф. Иммунокорректирующая терапия // Журнал практического врача. — 2001. — № 1. — С. 24-27.

5. Стручков П.В., Константинова Н.А., Чучалин А.Г. и др. Изменения физико-химических свойств при гемосорбции // Советская медицина. — 1985. — № 1. — С. 35-39.

6. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С., Гнатко Е.П. и др. Аутоиммунные процессы и их роль в клинике внутренних болезней. — К.: Здоров'я. — 1985. — 160 с.

7. Карнаух М.Г., Крушевський В.Д. Розміри циркулюючих імунних комплексів у білих щурів при хронічній інгаляційній дії оксидів азоту, сірки та кремнію // Современные проблемы токсикологии. — 2004. — № 2. — С. 12-16.

8. Крушевський В.Д., Гирин С.В., Рубцов Р.В., Бондар-

чук О.М., Кривошей Л.А. Размеры циркулирующих иммунных комплексов у больных хроническим бронхитом при использовании различных способов лечения // Український пульмонологічний журнал. — 1997. — № 1. — С. 33-35.

9. Тонкопряд І.В., Рубцов Р.В., Крушевський В.Д. Вплив методів екстракорпоральної детоксикації на рівень та розміри циркулюючих імунних комплексів у лікуванні тяжкої стадії професійно обумовленої хронічної обструктивної хвороби легень // Медичні перспективи. — 2005. — Т. X, № 2. — С. 58-60.

10. Крушевський В.Д., Беднарик О.М., Луговський С.П., Ковальчук Т.А., Рубцов Р.В., Гірін С.В., Бондарчук О.М. Спосіб імунотерапії активованим тимогеном // Патент на винахід № 29053 А, UA, А61В10/00, А61К35/55, 16.10.2000. — Бюл. № 5-11.

11. Карнаух М.Г., Крушевський В.Д., Луговський С.П., Комаров М.А. Морфофункціональні зміни у легенях лабораторних тварин у патогенезі експериментального хронічного бронхіту токсичної та пилової

етиології // Гігієна населених місць. — 2003. — Вип. 41. — С. 53-58.

12. Методические указания на фотометрическое определение двуокиси азота в воздухе / № 1638-77. Утв. МЗ СССР / 18.04.1977 г.

13. Белокрыницкий Д.В. Методы клинической иммунологии // Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 292 с.

14. Стручков П.В., Константинова Н.А., Чучалин А.Г. и др. Изменения физико-химических свойств иммунных комплексов при гемосорбции // Советская медицина. — 1985. — № 1. — С. 35-39.

Таблица 2

Размеры иммунных комплексов в сыворотке крови и гомогенатах легких белых крыс при воздействии на них различных комбинаций иммунокорректоров и антиоксидантов в динамике экспериментального токсико-пылевого бронхита

№	Размеры ИК, усл. ед.				Наименование корректоров
	Кр (M±m), %				
	Кровь	n	Легкие	n	
1	$\frac{2,09 \pm 0,18^{(*)}}{88,9}$	9	$\frac{2,04 \pm 0,26}{77,8}$	9	Тимоген + аевит
2	$\frac{2,29 \pm 0,28^{(*)}}{83,3}$	12	$\frac{2,25 \pm 0,33}{75,0}$	12	Тимоген ^o + аевит
3	$\frac{1,68 \pm 0,14^{(**)}}{76,9}$	13	$\frac{1,58 \pm 0,23^{(**)}}{69,2}$	13	Спленин + аевит
4	$\frac{1,91 \pm 0,17^{(*)}}{80,0}$	10	$\frac{1,85 \pm 0,21}{70,0}$	10	Спленин ^o + аевит
5	$\frac{1,72 \pm 0,11^{(**)}}{72,2}$	18	$\frac{1,65 \pm 0,13^{(**)}}{66,7}$	18	Тимоген+спленин+липоевая к-та
6	$\frac{2,35 \pm 0,37^{(*)}}{71,4}$	7	$\frac{2,32 \pm 0,43}{57,1}$	7	Тимоген+спленин+липоевая к-та ^o
7	$\frac{2,48 \pm 0,33^{(*)}}{80,0}$	10	$\frac{2,39 \pm 0,42}{70,0}$	10	Тимоген ^o +спленин ^o +липоевая к-та ^o +аскорбиновая к-та ^o
8	$\frac{1,61 \pm 0,17^{(**)}}{87,5}$	8	$\frac{1,55 \pm 0,19^{(**)}}{75,0}$	8	Тимоген+спленин+липоевая к-та+аскорбиновая к-та
9	$\frac{1,70 \pm 0,19^{(**)}}{77,8}$	9	$\frac{1,60 \pm 0,20^{(**)}}{66,7}$	9	Тимоген+спленин+аскорбиновая к-та
10	$\frac{2,01 \pm 0,19^{(*)}}{88,9}$	9	$\frac{1,87 \pm 0,20}{66,7}$	9	Тимоген+спленин+аскорбиновая к-та ^o
11	$\frac{1,32 \pm 0,19}{75,0}$	8	$\frac{1,46 \pm 0,20}{62,5}$	8	Контроль без корректоров
12	$\frac{2,67 \pm 0,11}{80,0}$	10	$\frac{2,65 \pm 0,38}{70,0}$	10	Контроль интактные

19*E&H