

УДК:579.842.23:577.114

ВЛИЯНИЕ НЕЙТРОФИЛОКИНОВ НА РАЗВИТИЕ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧУМЕ

Киселёва А.К.

*ФГУЗ научно-исследовательский противочумный институт,
Ростов – на – Дону*

Подробная информация об авторах размещена на сайте
«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

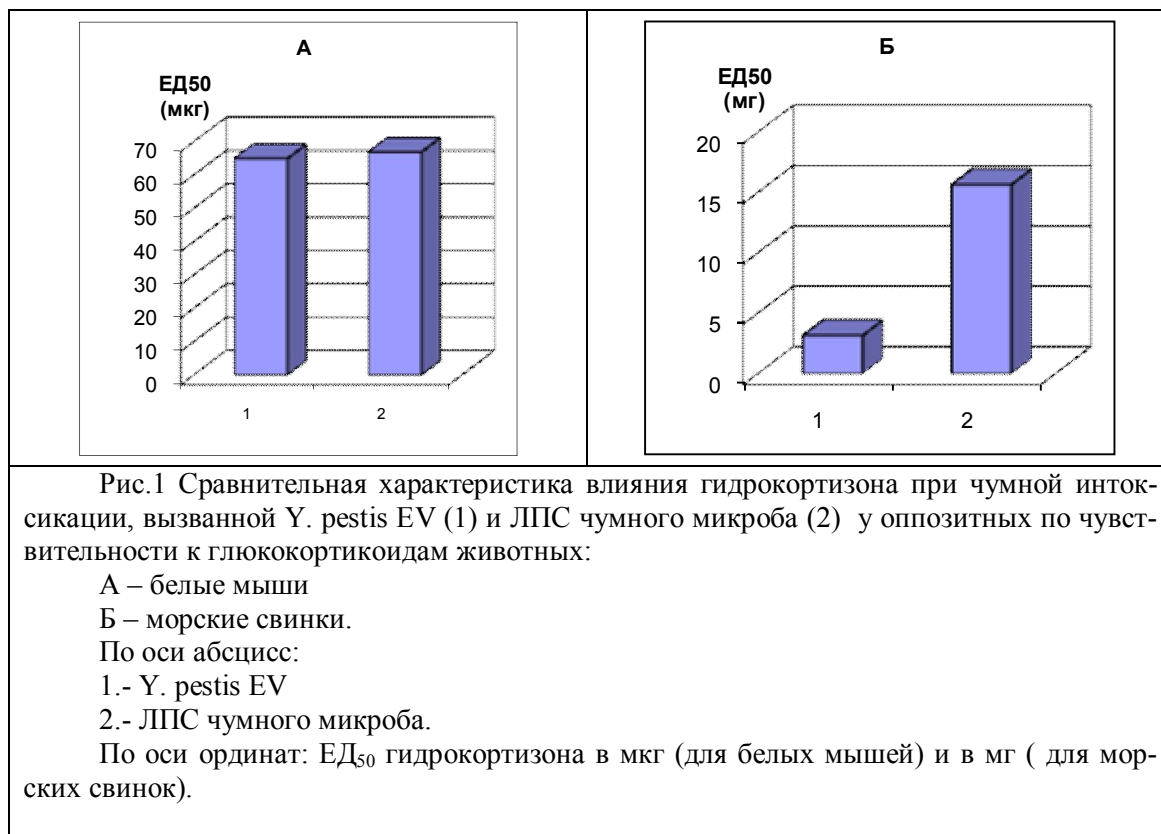
Изучено регуляторное действие нейтрофилокинов на развитие интоксикации при экспериментальной чуме. Были выделены хелперные фракции нейтрофилокинов, синтез которых индуцировали с помощью *Y.pestis EV*. Установлено, что эти фракции предотвращали гибель экспериментальных животных от интоксикации, вызванной введением токсической дозы *Y. pestis EV* или смертельной дозы его липополисахарида.

Липополисахариды грамотрицательных микроорганизмов вызывают сложный гуморальный и клеточный ответ через индукцию цитокинов и других медиаторов из клеток иммунной системы макроорганизма, которые инициируют генерализованную воспалительную реакцию, в результате чего на терминальной стадии формируются гипотензия, сердечно-сосудистые расстройства и мультиорганный патология [4]. ЛПС *Y. pestis* индуцирует развитие эндотоксического шока, являющегося главной причиной высокой летальности при чумной инфекции [3]. Клинические испытания показали, что метилпреднизолон в высокой дозе не снижает уровень смертности и не предотвращает развития септического шока [7]. В связи с этим проводятся исследования возможности коррекции отдельных патологических проявлений эндотоксикоза с помощью цитокинов [10].

Цель настоящего исследования заключалась в испытании защитных свойств гомологичных хелперных фракций нейтрофилокинов при чумной интоксикации на опозитных по чувствительности к глюкокортикоидам экспериментальных животных (белые мыши, морские свинки).

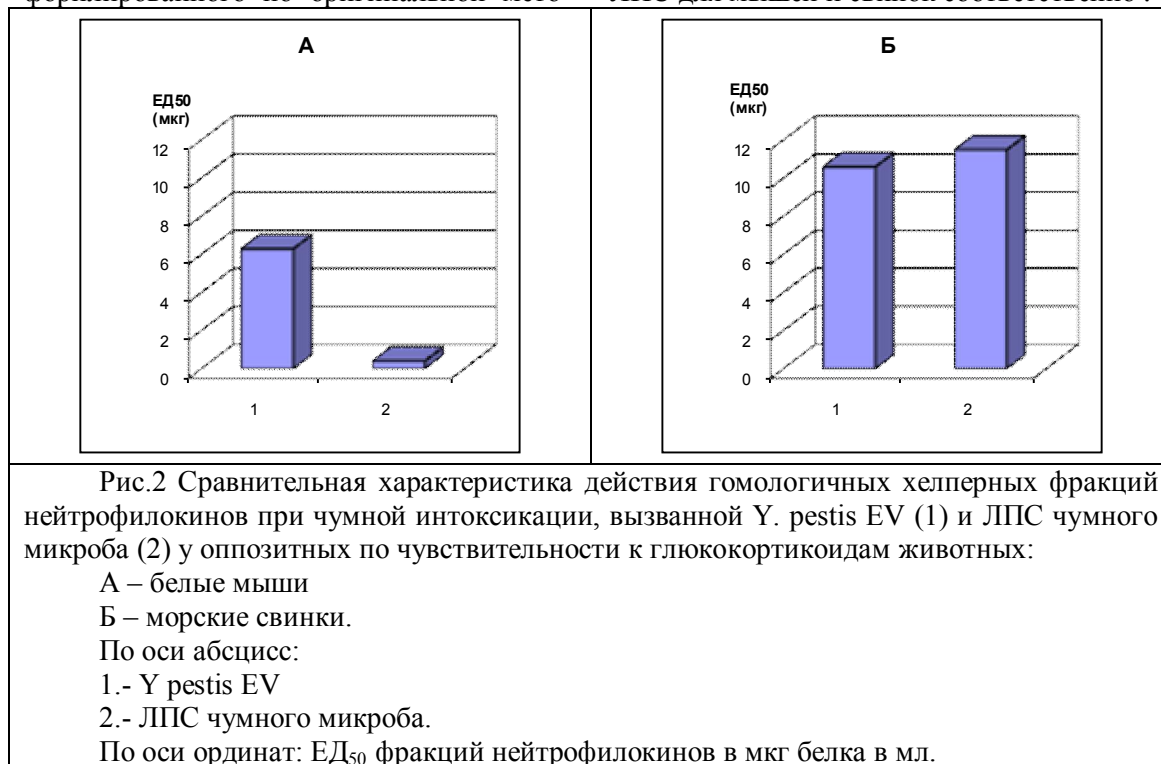
Нами испытаны препараты хроматографических фракций нейтрофилокинов, полученных методом гель-фильтрации на сефадексе G-75. Анализ показал, что фракции являются продуктами полипептидной и белковой природы. Молекулярные массы, которые установили методом электро-

фореза в полиакриламидном геле, соответствовали 85, 62 и 10 кДа. Фракции различались по количеству белков. Во фракциях нейтрофилокинов, полученных от иммунных животных, содержание белка было выше, чем в соответствующих фракциях от неиммунизированных живой чумной вакциной животных. Предварительное исследование пула нейтрофилокинов от интактных и иммунных животных с помощью моноклональных антител к различным цитокинам выявило, что отдельные фракции содержали активность ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α . Пул нейтрофилокинов содержал также ряд других низкомолекулярных биологически активных пептидов, не блокировавшихся МКА к вышперечисленным цитокинам, поскольку они и после блокады стимулировали пролиферацию лимфоцитов. Предварительно испытывали действие фракций нейтрофилокинов на функции иммунокомпетентных клеток при первичном и вторичном противочумном иммунитете. Результаты показали, что некоторые фракции оказывали хелперное, другие – супрессорное действие. Так, фракции низкомолекулярных пептидов (~ 10 кДа) усиливали киллерную активность макрофагов. Наиболее активным стимулирующим эффектом обладали фракции нейтрофилокинов, полученные от иммунных животных. Фракции нейтрофилокинов с наиболее выраженным хелперным действием были испытаны в качестве альтернативного гидрокортизону средства.



Биопробным животным внутрибрюшинно вводили смертельную дозу ($2LD_{50}$) культуры или ЛПС чумного микроба [5], полученного по методу Вестфала и дефосфорилированного по оригинальной мето-

дике, разработанной в лаборатории иммунологии РостНИПЧИ. LD_{50} , оттитрованные в предварительных экспериментах, составили 1,7 и 380 млрд м. кл. и 435 и 692 мкг ЛПС для мышей и свинок соответственно .



Двукратные разведения гидрокортизона ацетата (или сукцината) или испытуемые гомологичные фракции нейтрофилокинов в изотоническом растворе хлористого натрия вводили заражённым животным подкожно в объёме 0,2 мл и определяли величину ED_{50} гидрокортизона и нейтрофилокинов [2]. Заражали по 4 группы животных по 6 мышей или свинок в каждой. Контрольным группам вводили $2LD_{50}$ культуры или ЛПС без лечения или наивысшую испытанную дозу гидрокортизона или фракций нейтрофилокинов без культуры или токсина. Гибель животных после введения смертельной дозы культуры наступала через 3 часа, а липополисахаридного токсина чумного микроба - через 2, (белые мыши), свинок – через 4 и 3 часа соответственно. Сроки введения гидрокортизона или нейтрофилокинов подбирались таким образом, чтобы препарат начинал действие на пике развития процесса интоксикации и выделения ФНО- α [11] - за 30-40 минут до гибели животных в контрольной группе. Учёт результатов производили через 24 часа.

Результаты терапии гидрокортизоном инфекционно-токсического и эндотоксического шока у белых мышей и морских свинок представлены на рисунке 1. ED_{50} гидрокортизона для мышей составляла 65 и 67 мкг при инфекционно-токсическом и эндотоксическом шоке соответственно, для морских свинок – 3,2 и 15,7 мг. Проведённые исследования доказали возможность коррекции чумного токсического шока у животных с различной чувствительностью к кортикостероидам [8]. При этом дозы гидрокортизона, способные снять патологические симптомы, приближаются к тем, которые рекомендованы для сенсibilизации биопробных животных [1]. Следует также учитывать, что введение экзогенных глюкокортикоидов может вызвать усугубление течения патологических процессов [6].

Известно, что лимфоидные клетки крыс, кроликов и обезьян чувствительны к глюкокортикоидным гормонам, а лимфоциты человека и морских свинок – относительно резистентны [8]. Резистентность лимфоидных клеток морских свинок к глюкокортикоидам, - физиологическим

индукторам апоптоза, - сочетается с тем, что введение этих гормональных препаратов не вызывает у них снижения уровня ФНО- α , активность которого обуславливает развитие всей картины инфекционно-токсического шока [9]. В связи с этим мы изучили возможность использования для профилактики чумной интоксикации гомологичных хелперных фракций нейтрофилокинов, синтезированных нейтрофилами иммунизированных чумной вакциной мышей и свинок и стимулированных *in vitro* *Y. pestis* EV 76. На рисунке 2 представлены результаты, показавшие, что для мышей ED_{50} фракций нейтрофилокинов составила 6,3 и 0,41 мкг белка, а для морских свинок ED_{50} фракции нейтрофилокинов при инфекционно-токсическом чумном шоке составляет 10,6 мкг белка, при эндотоксическом – 11,5 мкг.

Таким образом, введение гомологичных фракций нейтрофилокинов лабораторным животным оказывало защитное действие и предотвращало их гибель при чумной интоксикации. При этом следует отметить, что наивысшие испытанные дозы нейтрофилокинов не вызывали гибели животных в контрольных группах, что открывает новые подходы к коррекции иммунопатологических сдвигов, возникающих при чумной интоксикации, в том числе эндотоксемии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Айкимбаев А.М., Темиралиева Г.А., Ахмедьянова Н.К. /Проблемы специфической профилактики чумы и холеры.- Саратов.-1985.- С. 38-41.
2. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л.: Медгиз, 1962. – 180 с.
3. Дмитровский А.М. / Материалы межгосударственной научной конференции «Профилактика и меры борьбы с чумой», посвящ. 100-летию открытия возбудителя чумы.- Алмааты.-1994.-С.15-16.
4. Рябченко Е.В., Веткова Л.Г., Бондаренко В.М. // Журн. микробиол.- 2004.- № 3.- С. 98-105.
5. Терновой В.И., Козырева Л.А., Голотина М.Б., Глянько Е.В. / Микробиология, биохимия и спцифич. Профилактика

- карантинных инфекций.- Саратов.- 1990.- С.59-66.
6. Челова Л.А. //Лаб. диагностика, биохимия и спец. проф. чумы и холеры.- Саратов.- 1986.- С. 32-40.
7. Bone R., Fisher C., Clemmer T. et al. //N.Engl.J.med.- 1987.- Vol. 317, 2,-p.653-658.
8. Claman H. //N. Engl. J. med.- 1972.- Vol.287,-1.- p.388-397.
9. Tracey K., Lawry S., Cerami A. // J. infect. dis.- 1988.-157.- P. 413-419.
10. Wahl A., Wallace P.M. //Ann. Rheum. Dis. - 2001. - 60 (3): P. 75-80.
11. Zuckerman S.H., Bendele A.M. //Inf.immun.- 1989. - Vol.57, №10.-P. 3009-3013.

NEUTROPHILOKINE INFLUENCE ON FORMATION OF THE EXPERIMENTAL PLAGUE INTOXICATION.

Kiseleva A.K.

Science Research Antiplague Institute, Rostov-on-Don

The neutrophilokine regulatory effect on the formation of the experimental plague intoxication was investigated. The helper fraction of neutrophilokines whose synthesis was induced by *Yersinia pestis* EV has been obtained. It was established that these fractions prevent experimental animal death of intoxication which was conditioned by *Yersinia pestis* or its lipopolysaccharide lethal doses.