

Медико-биологические науки

**МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ
МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ
ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ,
НЕСУЩИХ ЛИГАНДЫ К TOLL-
ПОДОБНЫМ РЕЦЕПТОРАМ**

Лебединская Е.А.¹,
Лебединская О.В.¹, Ахматова Н.К.²,
Годовалов А.П.¹

¹ГОУ ВПО Пермская государственная
медицинская академия
им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава,
г. Пермь,

²ГУ «Научно-исследовательский
институт вакцин и сывороток
им. И.И. Мечникова РАМН»,
Москва, Россия

Цель исследования — изучение иммунофенотипа спленоцитов мышей при действии бактериальных иммуномодуляторов, несущих лиганды к Toll-подобным рецепторам (TLR).

Материалы и методы. В исследованиях использованы поликомпонентная вакцина Иммуновак (НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН, г. Москва), состоящая из антигенных компонентов *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* и *Escherichia coli*, а также стафило-протейно-синегнойная жидкая вакцина (СПСА) в дозе 0,5 мл/мышь и моновалентная стафилококковая вакцина (СВ). Выделение мононуклеарных лейкоцитов (МЛ) осуществляли путем центрифугирования взвеси спленоцитов при 400 g в течение 30 минут в градиенте плотности фиколл-урогафина («Pharmacia», плотностью 1,077 г/см³). Оценку субпопуляционной структуры лимфоцитов осуществляли методом проточной цитометрии с применением моноклональных антител (Caltag Laboratories, США) против клеточных антигенов. На МЛ селезенки мышей исследовали уровни экспрессии молекул субпопуляций Т-клеток (CD3, CD4, CD8, CD4/CD25/Foxp3), В-лимфоцитов (CD19), NK, NKT (CD3/NK) и белков МНС I и II классов. Гейт (окно) популяции клеток устанавливали на основе комбинации прямого и бокового светорассеяния и размера клеток. При учете результатов подсчитывали 5000 клеток в гейте.

Основные результаты. В ходе проведенных исследований было показано, что введение как СПСА, так и Иммуновак способствует уве-

личению количества НКТ-клеток (CD3+/NK+) и активированных лимфоцитов (CD4+/CD25+) в 1,5-3 раза через 24 часа после введения препаратов. Особенно выраженный эффект наблюдается при введении СПСА, когда наряду с перечисленными маркерами в 1,5-2 раза повышается уровень экспрессии молекул CD8a, I-AK, H-2Db, CD19, CD5.2, CD40 и CD5.2/CD40. Введение вакцины Иммуновак характеризуется несколько меньшими изменениями подобного рода в субпопуляционном составе Т-лимфоцитов селезенки экспериментальных животных. Следовательно, под действием Иммуновак увеличивается, в основном, количество натуральных киллеров, а под влиянием СПСА — наряду с натуральными киллерами — число активированных и цитотоксических лимфоцитов.

При изучении монокомпонентной стафилококковой вакцины показано, что через 4, 24, 48 и 96 часов в 2 раза относительно контроля (МЛ без добавления вакцин) увеличивается количество клеток, экспрессирующих CD3. Сходная картина наблюдалась при выявлении NK-клеток, CD4 Т-лимфоцитов (увеличение через 24 часа в 8,6 раз и почти в 2 раза соответственно) и CD19 клеток — в 2 раза. Антигены гистосовместимости II класса относятся к пан-В-клеточному маркеру, но также экспрессируются на моноцитах и активированных Т-клетках. В этой связи увеличение числа МНСII-позитивных лимфоцитов характерно для активации иммуногенеза. Через 24-48 часов отмечен максимальный пик содержания МНСII (почти в 2,5 раза по сравнению с контролем). Повышение количества популяции В1-лимфоцитов (CD5.2) в 4,3 раза указывает на активацию эффекторов мукозального иммунитета, которые рассматриваются большинством исследователей как первая линия защиты от патогенов. В нашем исследовании отмечено также увеличение содержания Т-регуляторных клеток CD4/CD25/Foxp3 (в 9 раз). Через 48 часов наблюдается увеличение числа клеток, экспрессирующих маркеры CD3/NK (NKT клетки участвуют в распознавании гликолипидных антигенов, презентированных неполиморфными МНСI-подобными молекулами CD1d) — от 0,98% до 5,3% (в 5,3 раза), CD25 (лимфоциты отражают активацию иммунокомпетентных клеток) — от 0,27% до 7,8% (в 28,9 раз), CD8 (дифференцировочные молекулы поверхности цитотоксических Т-лимфоцитов) — от 11,2% до 20,1% (почти в 2 раза), CD19 (В-лимфоциты) — от 14,3% до 40,5% (в 2,8 раз), а также TLR2 — от 0,5 до 2,1 (в 4,2 раза). Полученные данные

свидетельствуют о том, что через 24-48 часов бактериальная стафилококковая вакцина вызывает наибольшую активацию эффекторов врожденного иммунитета (NK, NKT) и инициирует процесс формирования адаптивного иммунитета (Т и В лимфоцитов, T-reg).

Закключение. Таким образом, показано, что все исследованные бактериальные иммуномодуляторы оказывают стимулирующее действие на систему врожденного иммунитета. Иммуновак, главным образом, действует на натуральные киллеры, а СПСА — на активированные и цитотоксические лимфоциты. Моновалентная стафилококковая вакцина кроме активации эффекторов врожденного иммунитета инициирует формирование адаптивного иммунитета.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ХИТОЗАНОВОЙ ПЛЕНКИ В ТЕРАПИИ ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА

Утельбаева З.Т., Батырбеков Е.О.

*Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова,
Институт химических наук
им. А.Б. Бектурова,
г. Алматы, Казахстан,
erkeshbatyrbekov@mail.ru*

Введение

Дистрофические заболевания сетчатки являются основными заболеваниями людей пожилого и старческого возраста, приводящие к нарушению зрительных функций. Традиционно используемым способом коррекции дистрофических изменений в тканях заднего отрезка глаза являются операции так называемой «реваскуляризации» хориоидеи, активизирующие трофические процессы. Реваскуляризирующие операции направлены на улучшение микроциркуляции в заднем полюсе глаза, приостановление распространения патологического воздействия, протекцию и стимуляцию интактных зон сетчатки для сохранения остаточных функций, т.е. открывают новые возможности в поиске путей одновременного воздействия на стабилизацию дистрофического процесса.

Существует много модификаций этих операций, общее направление которых сводится к созданию дополнительного коллатерального кровоснабжения внутренних оболочек глаза [1]. К модификациям реваскуляризирующих операции относятся операции, включающие подведение в супрахориоидальное пространство мате-

риалов биологической и синтетической природы. К материалам биологической природы относят: аутофасцию, склеру, твердую мозговую оболочку, хрящ, брешоткань, умбиликальную ткань, амнион, аутокровь с гидрокортизоном, фибринообразующие компоненты крови [2-4], к синтетическим материалам: коллагеновую губку, тальк и т.д. [5]. Совокупность и многообразие методов для проведения реваскуляризирующих операций свидетельствуют об отсутствии единого высокоэффективного и универсального способа и материала.

Таким образом, в настоящий момент актуально создание новых, более совершенных материалов, отвечающих следующим основным требованиям: биосовместимость, ареактивность, пластичность, возможность моделирования, простота стерилизации, замещение собственной богатовакуляризированной тканью, наличие структуры, обеспечивающей адекватные биомеханические свойства и создающей условия для прорастания новообразованных полноценных сосудов.

Перспективными носителями в системах направленной доставки лекарств являются природные полимеры хитин и хитозан, относящиеся к классу полисахаридов — высокомолекулярных соединений, построенных из элементарных звеньев моносахаридов, соединенных между собой гликозидными связями. Хитозан имеет высокую биосовместимость и способность к биодеструкции в организме с образованием безвредных низкомолекулярных соединений, обладает иммуностимулирующей активностью, ранозаживляющим эффектом и антисептическим действием.

Цель исследования

Целью исследования явилось экспериментальное изучение действия хитозановой пленки на ткани глаза при введении в супрахориоидальное пространство.

Материал и методы исследования

Для изготовления лечебных пленок был использован хитозан (Chitosan, Practical Grade from Crab Shells) производства «Sigma» (США). Пленки получали из соответствующих растворов хитозана путем испарения растворителя (воды). Исследование выполнено на 7 взрослых кроликах (14 глазах) породы «Шиншилла» массой 3,2-3,5 кг. Из хитозановой пленки формировали имплантат размером 2x4 мм. После проведения эпibuльбарной анестезии 1% раствором алкаина производили разрез конъюнктивы в нижненаружном квадранте в 12 мм от лимба, параллельно к лимбу. Интрасклерально, по направлению к заднему полюсу глазного яблока, формировали туннель, затем вскрывали супрахориоидальное пространство. Хитозановую