ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

На правах рукопису

НИКИТЮК
ГАЛИНА ПЕТРІВНА

УДК: 616-092:612.017)-056.3-07:616.155.32/.24+611-018.74]-07-08

НЕЙТРОФІЛЬНО-ЕНДОТЕЛІАЛЬНІ МЕХАНІЗМИ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ГІПЕРІМУНОКОМПЛЕКСНІЙ ПАТОЛОГІЇ ТА ДЕЯКІ ПІДХОДИ ДО ЇХ КОРЕКЦІЇ

14.03.04 – Патологічна фізіологія

Д и с е р т а ц і я
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник
Бідюк Мартин Миколайович
доктор медичних наук, професор

Л Ь В І В – 2004

З М І С Т

Перелік прийнятих скорочень.....5

Вступ.....6

Розділ 1. Сучасні уявлення про основні ланки патогенезу хронічного імунокомплексного процесу, роль в цих механізмах нейтрофілів та ендотелію і наявні можливості імунокорегуючої (імуномодулюючої) терапії хронічного імунокомплексного процесу 13

1.1. Основні ланки патогенезу хронічного імунокомплексного процесу.....13

1.2. Роль нейтрофільних механізмів у розвитку імунокомплексного процесу.....18

1.3. Роль ендотелію у розвитку імунокомплексного процесу.....25

1.4. Сучасний погляд на можливості застосування імуномодулюючої терапії хронічного імунокомплексного процесу.....29

Розділ 2. Матеріали і методи дослідження.....34

2.1. Об′єкти, етапи та умови проведення експерименту.....34

2.2. Методи дослідження.....41

2.2.1. Методика визначення циркулюючих імунних комплексів.....41

2.2.2. Методика визначення гемолітичної активності комплементу.....41

2.2.3. Методика визначення показників неспецифічної захоплювальної здатності НФ.....42

2.2.4. Методика визначення показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ. 42

2.2.5. Методика визначення показників окисно-відновної здатності лізосом НФ, а також його резервну можливість.....43

2.2.6. Методика виявлення лізосомально-катіонних білків в цитоплазмі лейкоцитів за допомогою бромфенолового синього.....43

2.3. Електронно-мікроскопічне дослідження.....44
2.4. Статистична обробка матеріалу.....44
2.5. Характеристика досліджуваних середників……..45
Розділ 3. Показники нейтрофілозалежного фагоцитозу за умов хронічного імунокомплексного процесу…….....47
3.1. Характеристика показників прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу інтактних тварин……....47
3.2. Характеристика показників прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу тварин за умов хронічного імунокомплексного процесу…….....50
Розділ 4. Показники нейтрофілозалежного фагоцитозу за умов ХІКП при дії плацентарного полібіоліну і корвітину……..…….....56
4.1. Характеристика показників прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу інтактних тварин після введення ПП.....57
4.2. Характеристика показників прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу інтактних тварин після введення К…….....61
4.3. Особливості впливу плацентарного полібіоліну на перебіг хронічного імунокомплексного процесу……....66
4.4. Особливості впливу корвітину на перебіг хронічного імунокомплексного процесу…….....72
Розділ 5. Характеристика фагоцитарних процесів in vitro в умовах інкубації нейтрофілів з ендотеліоцитами у інтактних тварин, при хронічному імунокомплексному процесі та вплив на ці процеси корвітину….....79
5.1. Характеристика нейтрофілоопосередкованих фагоцитарних процесів в умовах інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію у інтактних тварин.....80
5.2. Характеристика впливу корвітину на нейтрофілопосередковані процеси фагоцитозу в умовах інкубації нейтрофілів з кліти-

нами ендотелію інтактних тварин.....83
5.3. Характеристика нейтрофілопосередкованих фагоцитарних процесів в умовах інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію у тварин з хронічним імунокомплексним процесом.....86
5.4. Особливості впливу корвітину на нейтрофілопосередковані процеси фагоцитозу в умовах інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію при хронічному імунокомплексному процесі.....89
Розділ 6. Морфологічна характеристика нейтрофілів у інтактних тварин та в умовах хронічного імунокомплексного процесу……....94
Розділ 7. Аналіз і узагальнення результатів досліджень……...101
Висновки……114
Список використаних джерел…….....116
Додатки.....148

ПЕРЕЛІК ПРИЙНЯТИХ СКОРОЧЕНЬ

АГ – антиген

АТ – антитіло

Е – ендотелій

ЕК – ендотеліальні клітини

ІВ – імунна відповідь

ІК – імунні комплекси

ІС – імунна система

К – корвітин

КВ – кверцетин

КФІ – коєфіцієнт фагоцитозу

ЛКТ – лізосомально-катіонний тест

ЛТ – латексний тест

МПТ – мієлопероксидазний тест

НФ – нейтрофіли

НСТ-тест – нітросиній тетразолієвий тест

ПМЯЛ – поліморфноядерні лейкоцити

ПП – плацентарний полібіолін

ФІ – фагоцитарний індекс

ФЧ – фагоцитарне число

ХІКП – хронічний імунокомплексний процес

ЦІК – циркулюючі імунні комплекси

ВСТУП

Аналіз світових тенденцій розвитку медицини на рівні ВООЗ дозволив зробити висновок про пріоритетне значення проблем алергології. Цей висновок обгрунтований низкою обставин, і в першу чергу, критичними змінами в екології, які викликані накопиченням в довколішньому середовищі хімічних, фізичних та біологічних факторів, що мають виражену алергізуючу дію [126]. Як результат, тільки за останні 15 років кількість хворих на алергію і автоімунні захворювання збільшилися з 10-15% до 20-30%. Особлива увага приділяється імунокомплексним хворобам. Серед яких вагоме місце займають системні захворювання [2, 12, 21, 23, 79, 153, 169, 173, 211, 216, 219, 220, 277]. Аналогічним механізмом розвитку характеризується хронічна сироваткова хвороба – захворювання, що викликається введенням гомо- чи гетерологічних сироваток або отриманих з них препаратів.

У патогенезі імунокомплексних захворюваннь провідна роль належить циркулюючим імунним комплексам (ЦІК). Кількість останніх зростає при збільшенні утворення комплексів антиген-антитіло, особливо при надлишку антигену, недостатності системи комплементу або системи фагоцитів [6, 32, 44, 54, 69, 79, 111, 129, 136, 248]. Пролонговане збільшення ЦІК у крові залежить не тільки від характеру та інтенсивності утворення імунних комплексів, а й значною мірою визначається станом полінуклеарних фагоцитів. Нейтрофіли за останніми дослідженнями [6, 21, 167, 172, 242, 253, 277], займають провідну роль у виведенні імунних комплексів з організму. За даними [2, 79, 133, 233, 240, 250, 262, 271, 273, 278] імунні комплекси викликають активацію нейтрофілів. Активовані нейтрофіли секретують біологічно активні речовини (нейтрофілокіни), котрі викликають підвищення експресії молекул адгезії на поверхні ендотеліальних клітин [1, 3, 22, 23, 34, 42, 43, 60, 62, 86, 172, 190, 195], що в свою чергу є ініціюючим моментом

міграції нейтрофілів із судинного русла [84, 86, 95, 98, 166, 167, 168, 177, 182, 185, 192, 193]. Фіксація імунних комплексів на рецепторах ендотеліальних клітин викликає їх пошкодження і десквамацію [9, 99, 133, 142, 153, 156, 184].

У той же час залучення та взаємодія імунокомпетентних, нейтрофільних та ендотеліальних клітин за умов ХІКП потребують вивчення.

Актуальність теми. В роботах C.Wilson, F. Dixon [276] висвітлено роль імунних комплексів і нейтрофілів у формуванні судинно-запальних процесів, їх участь у пошкодженні ендотеліальних клітин. Оскільки за такої патології найчастіше ушкоджується судинна стінка, ми досліджували кооперацію клітин, задіяних у судинно-запальних процесах. Однак механізми взаємодії нейтрофілів і ендотеліальних клітин при підвищеному рівні імунних комплексів у кровоплині вивчені недостатньо.

Незадовільними залишаються результати терапії імунокомплексних захворювань, що пояснюється складністю та недостатньою вивченістю механізмів імунокомплексних процесів. Незважаючи на інтенсивні наукові розробки, які ведуться у цьому напрямку в різних країнах, проблема імунокорекції та профілактики розвитку імунокомплексних захворювань ще є далекою від задовільного вирішення.

В цьому плані викликає інтерес плацентарний полібіолін, який запатентований і випускається бакпідприємством "БІОФАРМА". Продукція його сертифікована Європейською комісією. Встановлено, що в склад плацентарного полібіоліну входять α_2-макроглобулін, α_2-глікопротеїн та трофобластичний β_1-глікопротеїн [36, 73]. Виявлено також, що він має імунодепресивну дію і протизапальний ефект як інгібітор лізосомальних протеаз та стимулятор фагоцитозу [29, 30, 36, 73, 110, 152].

Цікавим є також препарат кверцетин – натуральний екстракт із класу біофлавоноїдів з: антигістамінною дією – блокує вироблення гістаміну,

серотоніну та лейкотрієнів [67, 116, 175]; протизапальною та протинабряковою дією, стабілізує клітинні мембрани, знижує проникність капілярів [67, 96, 175]; антиоксидантною дією: блокує вільні радикали як ендогенного так і екзогенного походження [102, 149, 175]. Ми використовували його парентеральну форму – „Корвітин”®, що випускає Борщагівський хімфармзавод.

Таким чином, вивчення показників нейтрофільно-ендотеліальних асоціацій за умов хронічного імунокомплексного процесу і можливостей їх корекції плацентарним полібіоліном та корвітином є актуальним і заслуговує експериментальних і клінічних обґрунтувань.

Зв'язок роботи з програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є складовою частиною планової наукової міжкафедральної теми "Імуно-нейтрофільно-ендотеліально-епітеліально залежні механізми в розвитку гіперімунокомплексного синдрому в експерименті та клініці", яку виконують кафедри патологічної фізіології та клінічної імунології і алергології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (№ держреєстрації 0101U009233). Автор дослідила роль нейтрофільних механізмів і ендотеліоцитів у розвитку хронічного імунокомплексного процесу на моделі хронічної сироваткової хвороби, а також особливості динаміки показників прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу за дії корвітину і плацентарного полібіоліну. За цих умов вивчила фагоцитарні процеси in vitro під час інкубації нейтрофілів з ендотеліальними клітинами в інтактних тварин і під час хронічного імунокомплексного процесу, провела морфологічну кореляцію і довела можливість корекції цієї патології корвітином. Тема дисертації затверджена проблемною комісією “Патологічна фізіологія та імунологія” 13 червня 2002 р. (протокол № 18).

Мета роботи. Вивчити нейтрофільнозалежні механізми залучення фагоцитозу in vivo та in vitro у мікст-культурі нейтрофілів з ендотеліоцитами в розвиток хронічного імунокомплексного процесу та оцінити підходи до їх корекції плацентарним полібіоліном та корвітином.

Завдання дослідження: відповідно до мети поставлені такі основні завдання:

1. На моделі хронічного імунокомплексного процесу дослідити показники захоплювальної та ферментативної активності нейтрофільних фагоцитів.
2. Вивчити захоплювальну та функціональну активність мікрофагів, інкубованих з ендотеліоцитами in vitro за умов хронічного імунокомплексного процесу.
3. Оцінити зміни ультраструктури нейтрофілів за умов хронічного імунокомплексного процесу.
4. Дослідити можливі підходи до корекції виявлених функціональних і морфологічних порушень за умов хронічного імунокомплексного процесу корвітином та плацентарним полібіоліном.
5. На основі отриманих результатів сформулювати наукові та практичні рекомендації.

Об'єкт дослідження – хронічний імунокомплексний процес, відтворений на моделі хронічної сироваткової хвороби у білих лабораторних щурів.

Предмет дослідження – показники фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів тварин з хронічним імунокомплексним процесом до та після введення їм плацентарного полібіоліну та корвітину.

Методи дослідження – підрахунок загальної кількості лейкоцитів; лейкоцитарної формули; фагоцитарного числа – відсоток фагоцитуючих клітин від загальної кількості фагоцитів, фагоцитарного індексу – середня кількість частинок, захоплених однією клітиною та коєфіцієнту фагоцитозу,

що характеризує швидкість цього процесу; показників окисно-відновних процесів у нейтрофілі – нітросиній тетразолієвий тест; резервних можливостей окисно-відновних систем – стимульований нітросиній тетразолієвий тест; кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах нейтрофілів – міелопероксидазний тест; кисневонезалежних бактерицидних можливостей мікрофагів – лізосомально-катіонний тест; визначення циркулюючих імунних комплексів різних розмірів, так як останній відіграє важливе значення для патогенної дії на організм; гемолітичної активності комплементу.

Наукова новизна одержаних результатів: Вперше на сучасному методичному рівні вивчено динаміку показників захоплювальної та ферментативної активності нейтрофілів під час хронічного імунокомплексного процесу в організмі білих щурів. Вперше проведено інкубацію нейтрофілів з клітинами ендотелію в аналогічних умовах досліду і вивчено вплив ендотеліоцитів на показники захоплювальної та ферментативної активності нейтрофільних гранулоцитів. Вперше досліджена динаміка кисневозалежних та кисневонезалежних показників фагоцитозу нейтрофільних гранулоцитів під час хронічного імунокомплексного процесу і інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію. За цих умов вперше виявлено структурні зміни в нейтрофільних гранулоцитах, які свідчать про активацію згаданих клітин. Виявлені зміни корелюють з показниками кисневозалежної і кисневонезалежної ферментативної активності фагоцитів. Вперше вивчено вплив на ці процеси введення корвітину. Доказана виражена коригуюча дія корвітину на функціональні та структурні порушення, під час хронічного імунокомплексного процесу (знижується рівень циркулюючих імунних комплексів малих і середніх розмірів, стабілізуються нейтрофілозалежні процеси фагоцитозу і структурні зміни в нейтрофілах, що запобігає

руйнівним процесам, які виникають під час перезбудження нейтрофільних гранулоцитів.

Практичне значення одержаних результатів. Результати виконаних досліджень розширюють існуючі уявлення про патогенез імунокомплексних уражень, а також роль у цих механізмах захоплювальної та ферментативної активності нейтрофільних гранулоцитів, кисневозалежних та кисневонезалежних показників фагоцитозу нейтрофільних гранулоцитів під час інкубації in vitro з клітинами ендотелію і вплив на ці процеси корвітину. Виражена стабілізуюча дія корвітину вказує на доцільність його подальшого вивчення з метою корекції порушень цих процесів за умов патології імунокомплексного генезу і розробки методичних рекомендацій. Результати дослідження впроваджені в навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Тернопільської державної медичної академії імені І.Я. Горбачевського, Буковинської державної медичної академії, та кафедрі клінічної імунології і алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, що підтверджено відповідними актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Це знаходить своє віддзеркалення в оцінці автором актуальності та сучасного стану вивчення проблеми. На основі проведеного літературного огляду автор обґрунтувала мету і задачі дослідження, вибрала та опрацювала адекватні моделі і методики. Самостійно виконала всю експериментальну частину роботи, підготувала матеріал для морфологічних досліджень, статистично обробила, проаналізувала і узагальнила отримані результати. Висновки сформулювала сумісно з науковим керівником. В опублікованих із співавторами наукових працях здобувачу належать основні

ідеї, практичний матеріал та їх узагальнення. У тій частині впроваджень, що стосуються наукової новизни, викладено фактичні дані отримані дисертантом.

Апробація результатів дисертації: результати роботи були оприлюднені і обговорені на II Українській науково-практичній конференції "Актуальні проблеми клінічної імунології" (Львів, 1996); Пленумі Українського товариства патофізіологів України (Чернівці, 1998); III Національному конгресі патофізіологів України (Одеса, 2000); Пленумі патофізіологів України (Одеса, 2002); Міжнародній науково-практичній конференції присвяченій пам'яті професора І.В. Шостаківської (Львів, 2002), спільному засіданні Львівської обласної філії наукового медичного товариства патофізіологів і кафедр патологічної фізіології та клінічної імунології і алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (Львів, 2004). IV Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (Чернівці, 2004).

Публікації. Результати дисертації викладено у 9 друкованих працях, з них 3 – у наукових фахових виданнях та 6 – у матеріалах і збірниках конференцій та конгресів.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ОСНОВНІ ЛАНКИ ПАТОГЕНЕЗУ ХРОНІЧНОГО ІМУНОКОМПЛЕКСНОГО ПРОЦЕСУ, РОЛЬ В ЦИХ МЕХАНІЗМАХ НЕЙТРОФІЛІВ ТА ЕНДОТЕЛІЮ І НАЯВНІ МОЖЛИВОСТІ ІМУНОКОРЕГУЮЧОЇ (ІМУНОМОДУЛЮЮЧОЇ) ТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО ІМУНОКОМПЛЕКСНОГО ПРОЦЕСУ

1.1. Основні ланки патогенезу хронічного імунокомплексного процесу

Останнє десятиріччя характеризується неухильним ростом імуноопосередкованих захворювань [126]. Ріст захворюваності, зумовленої порушенням ІВ, за останні роки викликаний тим, що система захисту організму не завжди адекватно може прореагувати на постійне зростання антигенного навантаження та на динамічну зміну складу антигенів [21, 28, 32, 53, 68, 172, 190, 233]. Серед недавніх досягнень в цій галузі видне місце займає розпізнавання великої групи захворювань в розвитку яких беруть участь комплекси антиген-антитіло – імунні комплекси. Це дозволило виділити особливе поняття – імунокомплексні захворювання [126]. Недивлячись на те, що думки про роль ІК в патогенезі сироваткової хвороби висловлювались Пірке ще на початку XIX століття, фактично вивчення цієї моделі як можливого прототипу хвороби ІК почалось в 50-тих роках минулого століття з робіт американських дослідників під керівництвом Dixon. ІК відіграють певну роль в локальних патологічних процесах, таких як інфаркт міокарду, пневмонія, злоякісні новоутвори [21, 28, 32, 59, 69, 84, 98, 104, 189].

Найчастіше утворення ІК проходить на основі інфекційних агентів, особливо при довготривалій персистуючій інфекції [22, 23, 32, 59, 69, 78, 211, 219, 226]. Тоді антиген довготривало існує в організмі і в зв’язку з цим

можлива зустріч антигену із специфічними антитілами і формування ІК. Місце зустрічі АГ з АТ і визначає подальші події. Якщо зустріч проходить в кровоплині, то такі ураження носять системний характер (наприклад, колагенози). Якщо ІК заносяться в органи і тканини, то патологічний процес розвинеться там. Частіше ІК заносяться в нирки, суглоби, рідше в легені, печінку [3, 6, 21, 28, 32, 69, 78, 211, 219, 226, 229].

До імунокомплексних захворювань відносяться різноманітні захворювання інфекційної і неінфекційної природи, в патогенезі яких ведучу роль грають циркулюючі в загальному кровоплині ІК [6, 21, 28, 32, 59, 68, 88, 211, 219, 226]. Вони розвиваються при порушенні рівноваги процесів утворення ІК і виведення їх з організму, наприклад, при утворенні великої кількості ІК в організмі на протязі короткого часу, при персистенції або повторному введенні антигену [44]. Також причиною розвитку імунокомплексного захворювання може бути порушення виведення ІК з організму при недостатності функції фагоцитів [32, 44, 56, 68, 78, 111, 127, 262].

Всі екзо- і ендогенні антигени, що взаємодіють з рецепторами клітин ІС і викликають синтез антитіл, – фактично є індукторами утворення імунних комплексів [34, 44, 68, 262]. Вірогідно, що в кров'яному плині постійно є присутній широкий спектр ЦІК, що мають різну структуру і біологічні властивості [9, 21, 44, 68, 172, 242, 250, 274]. Звідси випливає, що утворення ІК є нормальною імунною відповіддю організму, тобто, утворення імунних комплексів є фізіологічним процесом, що направлений на підтримання гомеостазу організму. Дійсно більшість вірусів і бактерій, що потрапляють в організм людини, виводяться з нього після їхньої взаємодії з антитілами (тобто утворенні ІК) [6, 68]. За останніми дослідженнями імунні комплекси взаємодіючи з клітинними рецепторами можуть грати важливу роль в імунорегуляції, модулюючи клітинні і гуморальні відповіді організму. Деякі біологічно активні речовини (гормони, пептиди, лікарські препарати),

можливо переносяться до органів-мішеней в складі ІК [6, 20, 199, 219, 226, 229]. Все це свідчить про те, що імунокомплексний процес є таким самим фундаментальним процесом як антитілоутворення, фагоцитоз і т.д. Існує ряд регуляторних механізмів, що підтримують нормальне протікання імунокомплексного процесу, кінцевим етапом якого є виведення з організму ЦІК. На експериментальних моделях встановлено, що ЦІК в нормі швидко захоплюються і руйнуються системою фагоцитів [32, 39, 44, 69]. І тільки в деяких випадках утворення ІК виходить з під контолю і має прогресуючий характер, тому розвивається та чи інша імунокомплексна патологія [31, 69, 167, 188].

Аналіз літературного матеріалу дозволяє виділити декілька взаємопов'язаних причин, котрі можуть спричинити розвиток імунокомплексного процесу: якісні особливості ІК, пов'язані з властивостями антигенів і генетично детермінованими особливостями імунної відповіді, і зниженням функціональної активності фагоцитів [6, 39, 44, 69, 127, 262, 274].

ІК розрізняються по класу імуноглобулінів. Найчастіше це імуноглобулін G, але можуть бути також і A, M, D, E [274]. Немаловажну роль відіграє також розчинність комплексів, наявність в їх складі комплементу, афінності АГ і АТ.

Величезне значення мають розміри комплексів, їх концентрація і час присутності в кровоплині [44, 69, 70, 127, 172, 242, 250, 274].

Серед інших факторів найбільший вплив на структурні властивості ІК має концентрація взаємодіючих антигенів і антитіл [44, 69, 70]. У випадку сильної переваги концентрації АГ над концентрацією АТ утворюються малі ІК, котрі без перешкод видаляються із організму через нирки [44, 70, 274]. По мірі наростання концентрації АТ і наближення до рівня рівноваги з концентрацією АГ утворюються ІК середніх розмірів. Ці комплекси є найбільш небезпечні – вони погано фагоцитуються і погано виводяться з організму [44, 69, 70, 274]. Вони здатні активувати систему комплементу за

класичним шляхом. При оптимальних співвідношеннях концентрацій АГ і АТ утворюються великі ІК, котрі менш патогенні, так як легко фагоцитуються [44, 69, 70, 274]. Якщо в організмі є генетичний або набутий дефект системи комплементу або фагоцитів то такі комплекси перетворюються на патогенні [43, 69, 70].

Властивостями антитіл визначається і інша особливість ІК – здатність активувати систему комплементу і взаємодіяти з клітинними рецепторами [20, 70, 126, 133, 167]. У роботах Nielsen C. було показано, що комплемент відіграє важливу роль в імунокомплексній генерації респіраторного вибуху і вивільнені специфічних гранул ПМЯЛ [263]. Роботи Коваль С.Б. та співавт. показують, що Fc-рецептори і комплементарні рецептори нейтрофілів задіяні у зв'язуванні розчинних ІК і специфічної дегрануляції [62, 63]. Роль комплементу в розвитку імунокомплексного процесі велика. Активація ІК системи комплементу є ведучим фактором імунокомплексного запалення [90, 129, 136, 184, 195, 219, 248, 278]. Найбільша роль відводиться С1, С3 і С5 компонентам комплементу [90, 136, 278]. С1 виявляє хемотаксичну активність і, синтезуючись ішемізованими та пошкодженими тканинами, ініціює міграцію НФ з крові в ці тканини. С5а сильний хемоатрактант для гранулоцитів, тому починається приплив нейтрофілів з розвитком інфільтрації, крім того, гранулоцити активуються і секретують велику кількість ферментів [2, 6, 21, 136, 209]. Це може привести до пошкодження тканин. Hopken U.E., Lu B. [209, 240] показали, що розрив С5а рецептору анафілотоксину попереджує ушкодження легень при імуноопосередкованому запаленні.

Дослідження останніх років показують, що під впивом ІК відбувається активація нейтрофілів і при цьому велику роль відіграють Fc-рецептори [145, 160, 199, 202, 223, 232, 271, 277, 278]. Роботи цих авторів показують, що Fc-рецептори і комплементарні рецептори нейтрофілів задіяні у зв'язуванні розчинних ІК і специфічної дегрануляції. Frohlich D. визначив, що Fc-

опосередкований респіраторний вибух нейтрофілів спрямований до ендотеліоцитів [199]. Розуміється, що наявність клітинних рецепторів далеко не вичерпує причини, що ведуть до відкладання імунних комплексів в певних тканинах. Важливе значення мають місцеві фактори, наприклад збільшення гідродинамічного тиску в судинах нирок, локальне виділення біогенних амінів і простагландинів, що викликають підвищення судинної проникності [44, 69, 199, 232].

Антигени, що приймають участь в утворенні ІК, можуть мати різноманітне походження: екзогенне і ендогенне. Необхідної інактивації антигену при цьому не проходить, але вид, характер і токсичність не мають суттєвого значення для патогенного ефекту ІК. Так, при дії ІК, в склад якого входять різноманітні віруси, антигени бактерій, простіших або гельмінтів, може виникнути в принципі однотипна клініко-морфологічна картина. Тому імунокомплексні захворювання об’єднує тільки спільність патогенезу.

Пошкоджуюча дія ІК залежить від антитіл, що в нього входять [90, 248, 278]. При утворенні ІК в молекулі Ig G або Ig M активізується ділянка, до котрої може приєднатися С3-компонент комплементу [184, 248, 278]. Крім того, Fc-фрагмент імуноглобуліну залишається вільним і з його допомогою ІК може фіксуватися до відповідних рецепторів, що є на багатьох видах клітин. Патогенний ефект, обумовлений ІК, стає ще інтенсивнішим, якщо в його утворенні бере участь С3-компонент і система комплементу активується класичним шляхом [90, 129, 136, 184].

При імунокомплексному захворюванні патологічний процес розгортається основним чином в судинах мікроциркуляторного русла: в загальному кровоплині при наявності великої кількості ІК або в судинах деяких органів (нирки, легені, шкіра і т.), де ІК утворюються або накопичуються в результаті фіксації або виділення. Фіксація ІК на рецепторах ендотеліальних клітин викликає їх пошкодження і десквамацію

[9, 21, 69, 80, 98, 155, 170, 177, 190]. Це полегшує проникнення ІК в стінки судин і тканини.

Класичний приклад імунокомплексної патології – сироваткова хвороба. Вона широко поширена вналідок застосування гетерологічних сироваток. При сироватковій хворобі пошкодження розвиваються під час взаємодії антигену і антитіла в кровоплині. Модель хронічної сироваткової хвороби застосовують для вивчення імунокомплексних ушкоджень нирок або системної патології [170, 189, 230, 247]. Експериментальні дані [189, 230] показують, що в деяких ділянках одночасно з розвитком ураження відкладаються антиген, Ig господаря і комплемент у вигляді ІК. Було встановлено, що розчинні ІК викликають скорочення гладких м'язів, підвищують проникність судинної стінки [170, 189, 192]. З присутністю ІК в крові знижується рівень комплементу і з'являються гострі запальні процеси нирок, серця, артерій, суглобів, що нагадують пошкодження при гострому гломерулонефриті, суглобовому ревматизмі, системному червоному вовчаку і ревматоїдному артриті [3, 23, 79, 129, 173, 129, 229, 247, 262]. Ступінь ураження не однакова і залежить від різниці в реакції клітин на дію ІК, але найчастіше відбувається проліферація ендотелію, підвищення проникності судинної стінки і дуже мінлива інфільтрація поліморфноядерними лейкоцитами [164, 168, 172, 192, 218].

Таким чином, вивчення ЦІК дозволяє краще зрозуміти основні клініко-патогенетичні закономірності розвитку імунокомплексного процесу, розширити межі імунокомплексної патології, включивши сюди ряд нових нозологічних форм. Але не дивлячись на досягнуті успіхи, вивчення хвороб імунних комплексів як в прикладному, так і в теоретичному аспекті ще тільки починається.

1.2. Роль нейтрофільних механізмів у розвитку імунокомплексного процессу

Роль нейтрофілів у імунокомплексному процесі цікавила багатьох дослідників [4, 5, 6, 23, 26, 34, 42, 70, 77, 133, 172, 199, 202, 223, 232, 241, 274].

Циркулюючі в крові НФ містять в своїй цитоплазмі від кількох сотень до тисяч різноманітних за своїми морфофункціональними властивостями гранул [62, 63]. Азурофільні гранули, або первинні лізосоми НФ містять ті ж гідролітичні ферменти, що і інші клітини. Однак для них характерний і ряд особливостей, що визначають антимікробні та антитоксичні можливості нейтрофільних лейкоцитів. В них міститься мієлопероксидаза, і тому ці гранули ще називають пероксидазо - вміщуючими. Мієлопероксидаза визначає наявність в НФ кілька мієлопероксидазозалежних антимікробних систем. З азурофільними гранулами пов’язують функціонування таких антимікробних систем, як НАД-Н2 та НАДФ-Н2 - оксидазні, аскорбатна, катіонні білки. Специфічні (вторинні) гранули містять лужну фосфатазу, лактоферин, лізоцим, ряд неферментних катіонних білків, колагеназу, протеїни, що зв'язують вітамін B_{12}. Ці біологічно активні речовини також беруть безпосередню участь в основних біологічних функціях НФ [62].

Функції НФ проявляються тільки після екзогенних або ендогенних стимулюючих впливів, без яких НФ знаходяться в неактивному стані [154, 158, 199, 201, 257].

Так при взаємодії деяких речовин з мембранами азурофільних гранул відбувається їх руйнування з наступним вивільненням лізосомального вмісту в цитоплазму НФ [62, 63, 154, 199, 233, 241, 257]. Це призводить до загибелі клітини з подальшим надходженням всього цитоплазматичного вмісту в міжклітинне середовище. В даному випадку має місце внутрішньклітинний механізм. Можлива і дегрануляція, за якої

цитоплазматичні гранули НФ цілком опиняються за межами клітини, що, певно може спостерігатись при первинній пошкоджуючій дії на цитоплазматичну мембрану, з екстраклітинним вивільненням цитоплазматичних структур та наступним руйнуванням самої клітини.

Існує думка [257], що під час циркуляції в судинному руслі активність НФ різко знижена, і, лише мігруючи в тканини, НФ здатні проявляти свої основні функції. Однак дегрануляційні реакції можуть відбуватись і безпосередньо у НФ, що знаходяться у циркулятоному руслі, до їх надходження у тканини. А саме, при реалізації у цілісному організмі неспецифічного адаптаційного синдрому, після вираженого абсолютного нейтрофільозу, зумовленого активацією гранулоцитопоезу, у циркулюючих НФ виявляються дегрануляційні процеси [63]. Лізосомальний апарат НФ, що знаходяться в циркуляторному руслі, відповідає реакцією екзоцитозу, яка проявляється в тому, що первинні лізосоми переміщуються до плазмолеми, зливаються з нею та виділяють свій вміст у плазму крові, без порушення цілісності самої клітини [62]. Цей екзоцитоз може бути не повним, тоді в циркулюючих НФ можуть знаходитись первинні лізосоми, частково позбавлені свого вмісту [62].

Вперше роль нейтрофілів у імунологічному запаленні вивчалася в 50-60-х роках минулого століття. Було встановлено, що в тварин, з видаленими нейтрофілами викликає дегрануляцію їх і вивільнення гістаміну, серетоніну, ПРСА і ін. біологічно активних речовин. Макрофаги підсилюють синтез простагландинів. Хемотаксис нейтрофільних і еозинофільних лейкоцитів, котрий викликається фрагментом С5а визначає розвиток імунологічного запалення [21, 62, 136, 209, 240]. Нейтрофільні гранулоцити у відповідь на дію ІК виділяють ферменти лізосом і бактеріоцидні білки в довколишнє середовище [2, 21, 62, 70, 127, 274]. В роботах Gamberale R. показано, що ІК здатні модулювати апоптоз нейтрофілів [233]. З дією біологічно активних речовин повязано порушення тонусу судин

мікроциркуляторного русла, а потім дистрофічними і некротичними процесами в судинній стінці [63, 192, 219, 233, 251, 264].

Важливим наслідком утворення ІК є порушення згортання крові [246]. Фактор Хагемана є активатором як згортання крові так і системи комплементу. Активація тромбоцитів викликається дією самих комплексів, а також колагеном судинної стінки, оголеним після деструкції ендотелію. Судини тромбуються, в крові утворюються фібрин-емболи.

Нейтрофіли належать до найбільш реактивних клітин крові [62, 63]. Вони є високочутливими до різноманітних змін внутрішнього середовища, котрі ведуть до порушення гомеостазу в багатьох системах організму [62, 87, 240]. Реакції нейтрофіла відображують не тільки пряму взаємодію з стимулюючим агентом. Нерідко вони зумовлені попередньою активацією інших гуморальних і клітинних факторів. В свою чергу, продукти стимульованих нейтрофілів виступають як сильні активатори ферментних систем плазми, клітин крові і сполучної тканини [63, 190, 192].

Зрілий нейтрофіл – це високоспеціалізована клітина, що містить великий набір ефекторних молекул, котрі націлені на руйнування і інактивацію біологічних об'єктів [87, 90, 91]. У нормі нейтрофіли швидко покидають судинне русло не використавши своїх потенційних можливостей. Але коли вони зустрічаються з агентами, що змушують клітину змінювати свій фізіологічний стереотип, то відразу активуються. Піддаючись активації, нейтрофіл перетворюється не тільки в могутній інструмент знешкодження шкідливих агентів, але стає небезпечним і для нормальних тканин, особливо в тих випадках, коли пусковий фактор не може бути елімінований малими силами, вимагаючи підключення значного числа клітин-ефекторів [86, 88, 89].

Ефекторний потенціал нейтрофілів складається з суми ферментних і неферментних молекул, преформованих в гранулах, а також компонентів, що утворюються стимульованими клітинами [1, 2, 3, 43]. До першої категорії

належать гідролітичні ферменти, що руйнують біополімери, й катіонні білки, що пошкоджують клітинні мембрани. До другої відносяться оксиданти, котрі виникають в процесі респіраторного вибуху і дають величезний біопошкоджуючий ефект [2, 3, 21]. Активуючи кисень, нейтрофіли стають важливим компонентом вільнорадикального окислення ліпідів [145, 222, 245]. Із гідролітичних ферментів найбільше значення мають нейтральні протеїнази, котрі мають широкий спектр біологічної активності, атакують найважливіші структури базальних мембран, вузлові елементи ефекторних систем плазми, медіаторні пептиди і ін. Крім того, при активації нейтрофіли синтезують ейкозаноїди, інші похідні фосфоліпідів з високою біологічною активністю (фактори активації тромбоцитів, хемотаксису еозинофілів і ін.), низькомолекулярні білки з пірогенними, прокоагулюючими і хемотаксичними властивостями. Вони відіграють важливу роль в розвитку основних проявів запалення [35, 54, 153]. Характер нейтрофільних реакцій пояснюється ефекторним зарядом нейтрофілів. Важливо, що вони займають одну з самих активних позицій в системі гуморально-клітинної кооперації, являючись високореактивною мішенню для похідних комплементу і інших ферментних систем плазми, цитокінів, фосфоліпідних метаболітів, імуноглобулінів, білків гострої фази і ін. [3, 6, 82, 90]. Це є гарантом підключення важливого гомеостатичного механізму, котрий, гіпертрофуючись, приймає патогенетичний характер [82, 87, 108, 112, 121, 126, 129].

Результати досліджень Santos G. [251] свідчать про те, що в розвитку реакції Артюса має значення як активація комплементу, нагромадження НФ, так і експресія Р-селектину. Активовані НФ секретують розчинні молекули, котрі викликають на поверхні ендотеліоцитів Р-селектину [254,]. А поява (або підвищення експресії) на поверхні ендотеліоцитів молекул адгезії сімейства селектинів: Р- і Е-селектину є ініціюючим моментом міграції нейтрофілів з судинного русла [165, 184]. Роботи Kaplanski G.

підтверджують, що зв'язування селектину є першим кроком у екстравазації лейкоцитів через ендотелій [165]. А висновки з досліджень Zachem Y. і Lefkowith J. полягають у тому, що Р-селектин відіграє важливу роль в акумуляції нейтрофілів і тромбоцитів і опосередковує ушкодження ниркових клубочків [210, 221].

Функціональний образ активованих нейтрофілів відображає особливості стимулюючих агентів і обособленість молекулярних механізмів, детермінуючих збудження клітин [87]. Активація може проявитися і в скритій формі, коли зовнішні прояви реакції відсутні, але чутливість до вторинного стимулу змінюється - підсилюється або послаблюється. Цей феномен дістав назву кондиціонування нейтрофілів [91].

В роботах Долгушина І.І. і Зурочки А.В. показано, що нейтрофіл виступає в ролі регулюючої клітини, при взаємодії в системі нейтрофіл-імуноцит [41, 42]. Так, наприклад, при штучній нейтропенії знижується активність природних кілерів, супроводжується розвитком імунодефіцитних станів [41]. Важливе значення для поняття регулятивної ролі нейтрорфілів мають небагаточисленні, але переконливі дані про їх здатність представляти антиген лімфоцитам. Долгушин І.І. і співавт., а також Зурочкою А.В. [41, 42] із супернатантів нейтрофілів людини виділені пептидні фактори, що мають імунотропну активність. Вони впливають на локомоторну, лізосомальну і фагоцитарну активність, кисневозалежний метаболізм нейтрофілів, моноцитів і макрофагів in vitro і in vivo [2, 41]. Крім того імуностимулюючі фракції мали нейротропну та атопротективну активність [4, 174], стимулювали процеси тканинної репарації, кістковомозкове кровотворення і впливали на агрегацію тромбоцитів [63, 174, 176].

Не буде перебільшенням сказати, що ключовою подією в реалізації патогенетичних ресурсів нейтрофіла служить взаємодія з ендотелієм [9, 22, 77, 131, 166, 176, 181]. Вона починається з адгезії на ендотеліоцитах і закінчується виходом клітин з циркуляторного русла. Цей процес, котрий

здійснюється головним чином через посткапілярні венули, є фізіологічним; міграція лейкоцитів з мікроциркуляторного русла, що підтримується припливом клітин із кроветворних центрів, постійно проходить в нормальних умовах [43] При пошкодженні нейтрофіли перші концентруються в зоні дестабілізації гомеостазу (феномен крайового стояння) і проникаючи через стінку судин, виходять в екстравазальний простір [62, 77, 80, 89]. Реакція відрізняється від фізіологічного діапедезу: вона носить масовий характер (в зоні виходу скопичується значна кількість нейтрофілів); мігруючі клітини підлягають активації, секретуючи комплекс ефекторних молекул, про котрий ми згадували вище. Саме збіг цих факторів визначає деструктивний відтінок аварійної еміграції нейтрофілів у вогнище запалення [87, 91, 164]. Її з самого початку супроводжує пошкодження ендотеліоцитів і базальної мембрани.

Виділяють два механізми адгезії НФ до ендотелію: глікопротеїнзалежний та глікопротеїннезалежний [251]. Рецептори адгезії нейтрофілів - це структурно зв'язані глікопротеїни, що знаходяться в неактивній клітині інтрацелюлярно в специфічних гранулах. При активації НФ більша частина глікопротеїнових рецепторів переміщується на клітинну мембрану, контактуючи з ЕК. Інший тип адгезії, глікопротеїннезалежний, залежить від збудження клітин ендотелію, тому називається ще ендотеліальнозалежним. Цей механізм реалізується через зв’язування ендотеліальних хемотаксичних чинників, які одночасно контактують з НФ і зумовлюють його адгезію до ендотелію.

Величезне значення в адгезії НФ має система комплементу [125, 133, 153, 163, 218, 262, 270, 276]. Найбільша роль відводиться С1, С3 і С5 компонентам комплементу. С1 виявляє хемотаксичну активність і, синтезуючись ішемізованими та пошкодженими тканинами, ініціює міграцію НФ з крові в ці тканини. Крім того, С5а сильний хемоатрактант для гранулоцитів, тому починається приплив нейтрофілів з розвитком інфільтрації, крім того, гранулоцити активуються і секретують велику

кількість ферментів [1, 6, 17, 20, 208]. Інтерес викликає С3, на поверхні плазматичної мембрани НФ є специфічні рецептори до цього фрагменту комплементу. При активації НФ ці рецептори звязуються з С3 ендотелію. Число таких містків, що утворилися, а отже і міцність адгезії нейтрофіла до ендотелію, залежать від ступеню його активації.

Показовим є поведінка нейтрофілів в культурі ендотеліоцитів [66]. В середовищі безактивуючих впливів нейтрофілів пристінкового пулу [66]. Нейтрофіли фіксовані на монослойних культурах ендотеліоцитів ведуть себе ще більш активно [70].

Аналіз взаємодії нейтрофілів і едотеліоцитів було відтворено в дослідах на кроликах. Було виявлено, що при лейкоцитарному лейкостазі виникають такі ознаки як: підвищення тиску в легеневій артерії, підсилення лімфовідтоку в легенях, поява альбуміну і еритроцитів в запальній рідині, набряк, котрі свідчать про пошкодження мікросудин [28, 40, 41, 69]. І ці всі ознаки виражені набагато слабше у тварин з лейкопенією. Основною причиною набряку при лейкостазі є пошкодження ендотелію продуктами активованих нейтрофілів, а не механічна закупорка судин. Треба сказати, що нейтропенія лише згладжує, але не виключає пошкодження ендотелію. Пошкодження ендотелію можуть викликатися іншими факторами: медіаторами макрофагів, тромбоцитів, лаброцитів. Деякі автори вважають, що нейтрофіли стимулюються при функціональній перебудові ендотеліоцитів [20, 22]. Нейтрофіли виступають як один із ранніх факторів деструктивного процесу, і можуть бути не єдиною причиною пошкодження. Та треба сказати, що нейтрофіли виконують унікальні функції, що не можуть бути відтворені іншими клітинами. Основна функція нейтрофілів є нейтралізація пошкоджуючого агенту, що забезпечує завершення процесу. І якщо сила подразника невелика то реакція обривається не викликавши клінічної картини запалення [22].

В роботах [185, 250] досліджено, що у нейтрофілах міститься серинова протеїназна еластаза, яка зберігається в азурофільних. гранулах і секретується у відповідь на запальний стимул, еластаза розщеплює багато компонентів позаклітинного матриксу і виявляє цитотоксичний ефект по відношенню до ендотеліоцитів.

1.3. Роль ендотелію в розвитку імунокомплексного процесу

За сучасними уявленнями, ендотелій (Е) – не просто бар'єр або фільтр. Це – активний ендокринний орган, найбільший в організмі, що дифузно розсіяний по всіх тканинах [31, 35, 39, 69, 210, 267]. Він синтезує субстанції важливі для контролю згортання крові, регуляції судинного тонусу і артеріального тиску, фільтраційної функції нирок, скоротливої активності серця, метаболічного забезпечення мозку [17, 31, 35, 46, 82, 210], має фагоцитарну активність [35, 65]. Реагує на механічні дії, чутливий до хімічних і анатомічних ушкоджень [35, 46, 82, 141].

Розміщення ендотелію між кров'ю і підлежачими структурами судинної стінки визначає його унікальність та стратегічну важливість позиції, що він займає [35, 210, 267]. На дію подразників Е відповідає вивільненням біологічно активних речовин, зміною структури, функції і метаболізму, що відображається не тільки на життєдіяльності судинної стінки, але і стані багатьох функціональних систем організму [17, 35, 117, 123, 267].

В ендотеліальних клітинах знаходиться стандартний для клітин набір органел і специфічні гранули – тільця Вейбеля-Палладе [35, 210]. В тільцях виявлено гістамін [210, 267], мультимери фактору Вілебранда і в мембрані тілець P-selectin (з класу адгезивних молекул) [166, 193].

Уявлення про функцію ендотелію узагальнені Vane J., 1990 [267]:

- селективний бар'єр: перешкоджає тромбоутворенню, захищає ГМК від адгезії лейкоцитів і кров'яних пластинок, регулює транспорт речовин через стінку судин;
- метаболічно-синтетично-секреторна функція;
- регуляція судинного тонусу.

Метаболічно-синтетично-секреторна функція включає:

- синтез і метаболізм вазоактивних речовин (ендотеліни, простагландини E_4 і P_4, фактор вазодилатації - оксид азоту);
- захоплення і інактивація ацетилхоліну, катехоламінів, брадикініну, серотоніну, гістаміну, гепарину;
- вироблення стимуляторів (фактор росту судинного ендотелію, лужний фактор росту фібробластів, фактор росту тромбоцитів, інсуліноподібний фактор росту), а також інгібіторів (трансформуючий фактор росту, інтерлейкін-1), клітинної проліферації;
- секрецію цитокінів, що регулюють кровотворення, проліферацію і диференціювання Т- і В-лімфоцитів;
- синтез компонентів базальної мембрани.

В ряді робіт підтверджена активна участь Е в запаленні, імунній відповіді, гемостазі, контролі клітинної проліферації [17, 35, 98, 108, 117].

У відповідь на дію пошкоджуючого агента ендотеліальні клітини реагують принципово подібним чином [98, 108]. Ця реакція носить універсальний адаптивний характер - стрес реакція, її проявами є скорочення і підвищення адгезивності ЕК для клітин крові внаслідок експресії ряду адгезивних молекул [31, 110]. Останнє супроводжується адгезією і локальною концентрацією лімфоцитів, моноцитів і нейтрофілів [117, 123, 199]. Часто при цьому лейкоцити активуються і можуть пошкоджувати ЕК і (або) стимулювати їх функціональну активність [35, 98, 200].

Функціональна перебудова ендотелію при дії на нього патологічних факторів проходить декілька стадій [110]:

1 стадія - підвищена синтетична активність клітин ендотелію. Ендотелій працює як "біосинтетична машина".

2 стадія - порушення збалансованої секреції факторів, що регулюють тонус судин, систему гемостазу, процеси міжклітинної взаємодії. На цій стадії порушується природня бар'єрна функція ендотелію, підвищується його проникність для різноманітних компонентів плазми.

3 стадія - виснаження ендотелію, що супроводжується загибеллю клітин і сповільненими процесами регенерації.

Не можна недооцінювати ролі ендотелію при імунокомплексних захворюваннях [3, 9, 39, 44, 60, 67, 78, 83, 93, 96, 174].

У роботах Kawana S. [219, 220] наголошується на ушкодженні ендотелію при імунокомплексному васкуліті. Вказується про вплив комплементу на цілісність мембран ендотеліальних клітин. Це підверджуєтья і роботами Шебеко В.И., що вказують на постійний вплив комплементу на ендотелій. Продукти активації системи комплементу призводять до множинних змін функцій ендотеліальних клітин [156].

Участь ендотелію в запальних реакціях ніколи не заперечувалась. Тезис І.І. Мечнікова "нема запалення без фагоцитів" проти Конгейма "нема запалення без судин" був емоційним ствердженням імунітетної сутності запалення [84], але ні в якому разі не зменшував значення судинних реакцій. І.І. Мечніков підкреелював, що за лейкоцитами судини і їх ендотеліальне покриття грають найважливішу роль в запаленні. Але тільки факти отримані в останнє десятиліття, дякуючи інтенсивному вивченню функціонального потенціалу ендотеліоцитів іп vitro і на рівні організму, дозволили конкретизувати патогенетичні акценти [44, 108]. В основі сучасної теорії лежить визнання високої реактивності, функціональної лабільності і ефективної мультипотентності ендотеліоцитів, від реалізації котрої залежать прояви місцевого або системного запалення [131, 200, 204, 205, 210, 224]. Ендотеліальні клітини володіють високопластичним рецепторним апаратом

[67, 192, 200, 204], в котрому представлені молекули, що управляють адгезивними реакціями клітин. Адгезини, взаємодіючи між собою і іншими елементами плазматичної мембрани впливають на секвестрацію лейкоцитів в активованих ділянках мікроциркуляторного русла [44, 67, 93, 129, 135]. Якщо сигнали виникають всередині судини активація едотеліальних клітин носить системний характер, що створює умови для масової адгезії лейкоцитів. Це стає причиною для генералізованого пошкодження ендотелію активованими нейтрофілами. Ендотеліоцити здатні активно захищатись від агресивних молекул лейкоцитів і тромбоцитів, а також регулювати експресію із адгезивного і біотехнічного потенціалів [235, 243].

У останні роки, коли з'явилась можливість культивувати ендотеліоцити, піддаючи їх різноманітним впливам, активна позиція ендотелію в лейкоцитарних реакціях отримала експериментальне підтвердження [200, 225, 226, 238, 243]. В культурі in vitro стимульвані ендотеліоцити виділяють хематрактанти, що фокусують лейкоцитарні реакції [39, 69].

1.4. Сучасний погляд на можливості застосування імуномодулюючої терапії хронічного імунокомплексного процесу

Незадовільні результати терапії імунокомплексних процесів пояснюються складністю і недостатннім вивченням імунопатологічних механізмів, які лежать в основі їх розвитку. Незважаючи на інтенсивні наукові розробки, які ведуться в цьму напрямку в різних країнах світу, проблема імунокорекції та профілактики розвитку імунокомплексних захворювань, залишається і надалі актуальною.

За останннє десятиріччя появилася нова спеціальність – імунофармакологія, завданням якої є фармакокорекція порушення імунної

системи. Імуноактивні середники можуть або стимулювати або пригнічувати функцію клітин, що приймають участь в імунній відповіді організму.

Результати вивчення хімічної структури, фармакокінетики і фармакодинаміки, практичного використання імуностимуляторів не дають однозначної відповіді на питання вибору окремого препарату, схеми і часу лікування [10, 24, 38, 77, 80, 113]. Крім того у хворих з одним і тим ж імунопатологічним захворюванням при подібній клінічній картині виявляються різні зміни функції імунної системи [10, 45, 55, 72, 119, 133].

Літературний аналіз дозволяє виділити декілька причин [80, 119, 160], що взаємопов'язані між собою, чому терапевтичні можливості при імунокомплексних захворюваннях є обмеженими. Цьому сприяє недостатнє розуміння патогенезу імунокомплексних захворювань, тому є неможливим виділення однорідних груп хворих [24, 169, 225]. А тому застосування лікарських препаратів може давати ефект лікування або ж ефекту не буде [10, 136, 225, 228]. Є великий процент побічної дії лікарських препаратів [39, 44, 225, 239]. Тобто, треба проводити індивідуальний підхід до лікування кожного хворого і нозологічної форми хвороби.

Сьогоднішній етап вивчення ефективних імунотропних засобів характеризується пошуком сполук з відносно селективною дією на популяції і субпопуляції імунокомпетентних клітин. У роботах [38, 45, 78] вказується, що індивідуалізація імуномодулюючої терапії базується на селективності дії імуноактивних препаратів, структурній та часовій організації імунної системи, типах імунних прушень при різних захворюваннях.

У дослідженнях [239] виявили, що імуноактивні речовини можуть діяти на: 1) процесінг антигену і його презентацію Т-клітинам; 2) розпізнавання Т-клітинами антигену; 3) Т-клітинну активацію і клональну проліферацію; 4) вивільнення цитокінів; 5) активацію ефекторних клітин; 6) вивільнення ефекторних медіаторів; 7) зв'язування медіаторів рецепторами.

У роботах [137, 169] рекомендується застосовувати імуносупресивні препарати при більшості форм імуноопосередкованих захворювань. Пригнічення імунної відповіді при таких процесах обгрунтовується тим, що антитіла або сенсибілізовані клітини, які взаємодіють з циркулюючими або локалізованими антигенами, можуть пошкоджувати ендотелій. Однак, такий підхід до терапії імунопатологічних станів є суперечливий і піддається серйозній критиці [81, 119] Враховуючи складність механізму ІВ не можна беззаперечно стверджувати, що підвищена продукція антитіл є ознакою гіперактивності ІС. Навпаки часто це є свідченням дефекту Т-супресорної ланки. Лікування такого стану повинно бути спрямоване на імуностимуляцію.

Спірним є питання застосовування лікувальних курсів глюкокортикоїдами та імуносупресивними середниками [256] , так як при тривалому застосуванні імуносупресорів існує небезпека розвитку синдрому Кушінга, мієлотоксикозу, раку шкіри, лімфоми та лейкемії [257]. Існує проблема розвитку легеневих інфільтратів у хворих із скомпроментованою імунною системою, в тому числі у хворих імунокомплексними процесами, при застосуванні імуносупресивних середників [169].

На основі цього можна зробити висновок про недосконаліть імунотропних засобів, які застосовуються для корекції імунологічних порушень при імунокомплексій патології та про актуальність проблеми пошуку середника з селективними імуномодулюючими властивостями, який викликав мінімальний дисбаланс регуляторних механізмів імунної відповіді.

В цьому плані інтерес викликає кверцетин, натуральний екстракт, із класу біофлавоноїдів, що володіє антигістамінною дією, блокуючи вироблення гістаміну, серотоніну та лейкотрієнів [50, 61, 66, 81, 94, 115, 122], протизапальною та протинабряковою дією, стабілізує клітинні мембрани, знижує проникність капілярів [61, 66, 94, 100, 103]; антиоксидантною дією –

блокує вільні радикали як ендогенного так і екзогенного походження [103, 121, 122].

У роботах Миргородського Д.С. та співавт. було досліджено позитивний вплив лікування кверцетином гнійних ран [95] і були встановлені імуностимулюючі властивості кверцетину, що володіє високою біологічною активністю, це проявляється у стимулюванні специфічної резистентності до інфекції шляхом активації перитонеальних макрофагів, а також високою антилейкотрієновою дією. В.Д. Лукьянчук та співавтори досліджували вплив кверцетину на процеси організму в умовах гіпоксії [100] і виявили, що КВ попереджує прооксидантний ефект, значно знижуючи вміст як первинних так і вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів. В.І.Азаров довів, що кверцетин має протекторну дію на кардіоміоцити та ендотеліоцити при гострій ішемії міокарду [94]. Це підтверджується роботами Ю.Н.Колчина і співавт. [66], котрі дослідили, що протекторна дія КВ повязана із гальмуванням біосинтезу лейкотрієну $B_{4,}$ що обмежує приплив гранулоцитів в ішемізований міокард за рахунок блокування хемотаксису і хемокінезу, гальмує процеси перекисного окиснення ліпідів клітинних мембран і утворення вільних радикалів, що пошкоджують ішемізований міокард. Платонова В.А. і співавт. досліджували вплив кверцетину на перебіг респіраторних та бронхо-легеневих захворювань [115]. Д. Іванов вивчав вплив КВ на анемічний синдром при ранніх стадіях хронічної ниркової недостатності [50]. Караванська І.Л. і співавт. виявили, що КВ нормалізуюче впливає на функціональну активність НФ і покращує фагоцитоз при гострому інфаркті міокарду [58]. Becker C., Zijistra J. позитивний ефект оксирутинів (в склад входить три-гідроксилкверцетин) при венозній недостатності. Виявили, що оксирутини нейтралізують активні форми кисню, надають захисну дію навіть якщо ендотеліальні клітини вже пошкоджені і відновлюють до норми морфологічні зміни, гідропровідність, інгібують адгезію нейтрофілів до ендотелію, а також інгібують активність нейтрофілів,

що підтвердили морфологічно, знижують продукцію супероксидного аніону і лейкотрієну B_4 [175]. Їх досліди in vitro та in vivo показали, що оксирутини володіють високою афінністю до ендотелію вен і здатні захищати венозну стінку від пошкодження мембран, що викликані окисленням.

Другий препарат – плацентарний полібіолін, який випускається бакпідприємством "БІОФАРМА". Продукція його сертифікована Європейською комісією. Встановлено, що в склад ПП входять α_2-макроглобулін, α_2-глікопротеїн та трофобластичний β_1-глікопротеїн [36, 71]. Метод виділення оснований на отриманні всієї білкової фракції I - IV за Коном, яка виділяється з відходів донорської сироватки (донорський полібіолін) та суміші плацентарної та ретроплацентарної сироватки (плацентарний полібіолін) після виділення гамма-глобуліну. Виявлено, що ПП володіє імунодепресивною дією і має протизапальну дію, як інгібітор лізосомальних протеаз та активатор фагоцитозу [11, 12, 25, 29, 30, 36, 99, 109, 143, 144, 151, 153].

Таким чином, вивчення показників нейтрофільно-ендотеліальних механізмів за умов хронічного імунокомплексного процесу і дослідження можливостей їх корекції ПП та кверцетином є актуальним і заслуговує експериментальних та клінічних розробок. Ці питання не вивчені і представляють не тільки теоретичний, але і сугубо практичний інтерес.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об′єкти, етапи та умови проведення експерименту

Досліди проводились на білих щурах-самцях лінії Вістар, масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію, в осінню пору року. Всі експериментальні тварини були поділені на 6 груп:

I група – інтактні тварини, які отримували розчин плацебо і служили контролем (24 тварини).

II група – інтактні тварини, які отримували розчин плацентарного полібіоліну (10 тварини).

III група – інтактні тварини, які отримували розчин корвітину (14 тварин).

IV група – тварини з викликаним хронічним імунокомплексним процесом, які отримували розчин плацебо (24 тварини).

V група – тварини з викликаним хронічним імунокомплексним процесом, які отримували розчин плацентарного полібіоліну (10 тварини).

VI група – тварини з викликаним хронічним імунокомплексним процесом, які отримували розчин корвітину (14 тварин).

Крім цього, проводились аналогічні дослідження в суспензії нейтрофілів з клітинами ендотелію в п’ятьох групах:

I група – суспензії нейтрофілів інкубованих без клітин ендотелію інтактних тварин (14 тварини).

II група – суспензії нейтрофілів інкубованих з клітинами ендотелію інтактних тварин, що служили контролем (14 тварини).

III група – суспензії нейтрофілів інкубованих з клітинами ендотелію інтактних тварин, що отримували розчин корвітину (14 тварини).

IV група – суспензії нейтрофілів інкубованих з клітинами ендотелію тварин з викликаним хронічним імунокомплексним процесом (14 тварини).

V група – суспензії нейтрофілів інкубованих з клітинами ендотелію тварин з викликаним хронічним імунокомплексним процесом, які отримували розчин корвітину (14 тварини).

Для відтворення моделі хронічної сироваткової хвороби ми обрали модель запропоновану Cochrane C.G. [188] у модифікації Wilson C.B. et al [279], яка викликається введенням кожних 7 днів на протязі 12 тижнів в хвостову вену щура бичачого сироваткового альбуміну (БСА) в розрахунку 100 мг/кг маси. Оскільки в картині хронічної сироваткової хвороби провідним є збільшення рівня ЦІК у крові, по їх рівню судили про ступінь розвитку хвороби.

Плацентарний полібіолін вводився в разовій дозі 5 мг/100г, корвітин – 4 мг/100г доочеревинно 1 раз на добу, курсом 10 днів.

Нейтрофіли виділяли із крові методом центрифугування на градієнті щільності фікол-верографіну з густиною 1,077 і 1,118 за методом Петровой И.В, 1983 [104]. Гранулоцити в суспензії складали – 98%. Клітини ендотелію виділяли з допомогою колагенази за методом Jaffe E.A, 1978 [217]. Життєздатність клітин складала не менше ніж 95%, її оцінювали за забарвленням трипановим синім.

Досліди на тваринах виконувались з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовують для експериментальних досліджень (Страсбург, 1985). Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації.

Об’єм досліджень та застосовані методики подані у таблицях 2.1.1, 2.1.2.

Таблиця 2.1

Дослідження, проведені in vivo та застосовані методики

№ п/п	Мета дослідження	Кількість		Застосовані методики
		тварин	дослідж	
1	2	3	4	5
1.	Визначення контрольних показників загальної кількості лейкоцитів	24	24	Підрахунок в камері Горяєва
2.	Визначення показників загальної кількості лейкоцитів крові під час ХІКП	24	24	
3.	Визначення динаміки показників загальної кількості лейкоцитів в інтактних тварин після введення імуномодулюючих середників	24	24	
4.	Визначення динаміки показників загальної кількості лейкоцитів під час ХІКП після введення імуномодулюючих середників	24	24	
5.	Підрахунок контрольних показників лейкоцитарної формули	24	24	Мазок крові, фарбований по Романовському-Гімзе
6.	Визначення динаміки показників лейкоцитарної формули під час ХІКП	24	24	
7.	Визначення динаміки показників лейкоцитарної формули інтактних тварин після введення імуномодулюючих середників	24	24	
8.	Визначення динаміки показників лейкоцитарної формули під час ХІКП після введення ПП і К	24	24	
9.	Визначення показників ЦІК різних розмірів в контролі	24	72	Метод преципітації в поліетиленгліколі (Haskova V., 1977; Осипов С.Г., 1983)
10.	Визначення динаміки показників ЦІК різних розмірів при ХІКП	24	72	
11.	Визначення динаміки показників ЦІК різних розмірів в інтактних тварин після введення імуномодулюючих середників	24	72	
12.	Визначення динаміки показників ЦІК різних розмірів під час ХІКП після введення ПП і К	24	72	

Продовження табл. 2.1

1	2	3	4	5
13.	Визначення показників загального комплементу в контролі	24	24	Гемолітична активність комплементу (Вавилова М.М., 1984)
14.	Визначення динаміки показників загального комплементу при ХІКП	24	24	
15	Визначення динаміки показників загального комплементу в інтактних тварин після введення імуномодулюючого середника	24	24	
16.	Визначення динаміки показників загального комплементу під час ХІКП після введення імуно-модулюючого середника	24	24	
17.	Визначення контрольних показ-ників кисневозалежних фермен-тативних процесів в лізосомах НФ	24	24	МПТ-тест (Grechman C., цит. за Тодоровим И., 1978)
18.	Визначення динаміки показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ при ХІКП	24	24	
19.	Визначення динаміки показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ в інтак-тних тварин після введення К і ПП	24	24	
20.	Визначення динаміки показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ під час ХІКП після введення К і ПП	24	24	
21.	Визначення контрольних показ-ників неспецифічної захоплю-вальної здатності НФ	24	48	ЛТ-тест (Чернушенко Е.Ф., 1988; Медведев А.Н., 1991)
22.	Визначення динаміки показників неспецифічної захоплювальної здатності НФ при ХІКП	24	48	
23.	Визначення динаміки показників неспецифічної захоплювальної здатності НФ в інтактних тварин після введення імуномодулюючих середників	24	48	

Продовження табл. 2.1

1	2	3	4	5
24.	Визначення динаміки показників неспецифічної захоплювальної здатності НФ під час ХІКП після введення імуномодулюючих середників	24	48	
25.	Визначення контрольних показників окисно-відновної здатності лізосом НФ і його резервну можливість	24	48	НСТ-тест спонтанний і стимульований (Park J., 1968)
26.	Визначення динаміки показників окисно-відновної здатності лізосом НФ і його резервну можливість під час ХІКП	24	48	
27.	Визначення динаміки показників окисно-відновної здатності лізосом НФ і його резервну можливість в інтактних тварин після введення імуномодулюючих середників	24	48	
28.	Визначення динаміки показників окисно-відновної здатності лізосом НФ, а також його резервну можливість при ХІКП після введення імуномодулюючих середників	24	48	
29.	Визначення контрольних показників кисневонезалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ	24	24	ЛК-тест (Шубіч М.Г., 1976)
30.	Визначення динаміки показників кисневонезалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ під час ХІКП	24	24	
31.	Визначення динаміки показників кисневонезалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ інтактних тварин після введення ПП і К	24	24	
32.	Визначення динаміки показників кисневонезалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ при ХІКП після введення ПП і К	24	24	

Таблиця 2.2

Дослідження проведені в суспензії клітин та застосовані методики.

№ п/п	Мета дослідження	Кількість		Застосовані методики
		тварин	дослід.	
1	2	3	4	5
1.	Визначення контрольних показників неспецифічної захоплювальної здатності НФ культивованих з ЕК	14	14	ЛТ-тест (Чернушенко Е.Ф., 1988; Медведев А.Н., 1991)
2.	Визначення динаміки показників неспецифічної захоплювальної здатності НФ культивованих з ЕК під час ХІКП	14	14	
3.	Визначення динаміки показників неспецифічної захоплювальної здатності НФ культивованих з ЕК в інтактних тварин після введення В	14	14	
4.	Визначення динаміки показників неспецифічної захоплювальної здатності НФ культивованих з ЕК при ХІКП після введення імуномодулюючого середника	14	14	
5.	Визначення контрольних показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ культивованих з ЕК	14	14	МПТ-тест (Grechman, цит. за Тодоровим И., 1978)
6.	Визначення динаміки показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ культивованих з ЕК при ХІКП	14	14	
7.	Визначення динаміки показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ культивованих з ЕК в інтактних тварин після введення імуномодулюючого середника К	14	14	
8.	Визначення динаміки показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ культивованих з ЕК при ХІКП після введення імуномодулюючого середника К	14	14	

Продовження табл. 2.2

1	2	3	4	5
9.	Визначення контрольних показників окисно-відновної здатності лізосом НФ культивованих з ЕК і його резервну можливість	14	28	НСТ-тест спонтанний і стимульований (Park.J., 1968)
10.	Визначення динаміки показників окисно-відновної здатності лізосом НФ культивованих з ЕК і його резервну можливість під час ХІКП	14	28	
11.	Визначення динаміки показників окисно-відновної здатності лізосом НФ культивованих з ЕК і його резервну можливість в інтактних тварин після введення К	14	28	
12.	Визначення динаміки показників окисно-відновної здатності лізосом НФ культивованих з ЕК, і його резервну можливість під час ХІКП після введення К	14	28	
13.	Визначення контрольних показників кисневонезалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ культивованих з ЕК	14	14	ЛК-тест (Шубіч М.Г., 1976)
14.	Визначення динаміки показників кисневонезалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ культивованих з ЕК під час ХІКП	14	14	
15.	Визначення динаміки показників кисневонезалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ культивованих з ЕК в інтактних тварин після введення К	14	14	
16.	Визначення динаміки показників кисневонезалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ культивованих з ЕК під час ХІКП після введення К	14	14	
17.	Морфологічне дослідження клітин – НФ	14	14	Електронна мікроскопія

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Методика визначення циркулюючих імунних комплексів

Кількісне визначення циркулюючих імунних комплексів проводили з допомогою ПЕГІКЕМ-тесту (Haskova V., Kaslik J., Math J., Matejckova M., 1977 та Осипов С.Г. и соавт., 1983), заснованого на преципітації ЦІК при невеликих концентраціях поліетиленгліколю (молекулярна маса - 600). Поліетиленгліколь сприяє неспецифічній агрегації ЦІК, створюючи сприятливе для преципітації середовище. Враховуючи, що при застосуванні ПЕГ низької концентрації (2-3%) преципітують лише великі ЦІК, а при концентрації 6-8% преципітують ЦІК великих і малих розмірів, ми використали три концентрації ПЕГ: 3,5 % – для преципітації великих ЦІК, 5,25 % – для преципітації великих і середніх ЦІК, 7 % – для преципітації великих, середніх і малих ЦІК. Оптичну щільність зразків визначали на спектрофотометрі в кюветах 1х1 при довжині хвилі 450 нм. Відповідь виражали в одиницях оптичної щільності.

2.2.2. Методика визначення гемолітичної активності комплементу

Гемолітичну активність комплементу визначали за уніфікованим методом (Вавилова М.М., 1984) по 50 % гемолізу. Комплемент, що міститься в досліджуваному матеріалі викликає гемоліз еритроцитів барана, які сенсибілізовані гемолітичною сироваткою (комплекс ЕА-еритроцити та АТ до них). Залежність між кількістю комплементу та числом лізованих еритроцитів барана має лінійний характер в інтервалі 25-75 %-го гемолізу. Тому, точне кількісне визначення гемолітичної активності комплементу повинно проводитися саме в цьому інтервалі. Гемолітична активність комплементу встановлюється по мінімальній кількості свіжої сироватки, необхідної для лізису 50 % еритроцитів, які містяться в 1 мл стандартизованої гемолітичної системи при 37 ^{0} С за 1 год. активність комплементу виражається в 50 % гемолітичних одиниць $НС_{50}$.

2.2.3. Методика визначення показників неспецифічної захоплювальної здатності НФ

Суть методики (Чернушенко Е.Ф., 1988; Медведев А.Н., 1991**)** в здатності НФ поглинати частинки латексу розміром 1,0 мкм. („Біостерол" Україна). Латекс тричі відмивали в ізотонічному розчині хлориду натрію та центрифугували при 400 g протягом 20 хв. Ресуспензували в середовищі 199, кількість частинок підраховували в камері Горєва, доводили до концентрації 2×10^8 /мл. У планшету вносили 50 мкл клітинної суспензії нейтрофілів з концентрацією 5×10^6 /мл та 50 мкл завису частинок латексу. Планшета вміщувалась в термостат при 37 С на 30 хв. Для оцінки тесту підраховують в фарбованих препаратах кількість клітин з поглинутими частинками через 20 хв. (фагоцитарне число). Фагоцитарний індекс – середня кількість частинок захоплених однією клітиною. Аналогічно рахуємо через 120 хв. Підраховуємо коєфіцієнт фагоцитозу (КФІ) – $ФІ_{20}/ФІ_{120,}$ що характеризує швидкість цього процесу.

2.2.4. Методика визначення показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ

Кількісне визначення показників кисневозалежних ферментативних процесів в лізосомах НФ проводили з допомогою міелопероксидазного тесту **(**Grechman C., цит. за Тодоровим И., 1978**).** Мієлопероксидаза каталізує утворення хлорамінів, гіпохлорит– та гіпойодид іонів з подальшим галойодуванням білків фагоцитованих мікроорганізмів, каталізує продукцію синглетного кисню і деяких альдегідів. Вона є основною антимікробною системою фагоцитозу. Методика, що дає можливість оцінити стадію дегрануляції. В основі методу лежить здатність окислювати ряд субстратів в присутності перкису водню. Для оцінки тесту підраховують в фарбованих мазках кількість клітин з жовто-коричневими включеннями. Підраховували абсолютний та процентний вміст та цитохімічний індекс.

2.2.5. Методика визначення показників окисно-відновної здатності лізосом НФ, а також його резервну можливість

Для кількісного визначення показників окисно-відновної здатності лізосом НФ, а також його резервної можливість проводили використали тест відновлення нітросинього тетразолію – НСТ-тесту спонтанного і стимульованого (Park J., 1968). Суть тесту полягає в здатності частинок зрілих НФ фагоцитувати барвник нітросиній тетразолій, а потім відновлювати його в нерозчинний формазан темно-синього кольору під впливом окислювальної активності НАДФ-оксидази – ферменту лізосомальних гранул. Диформазан чутливою вважали клітину з великими чи дрібними включеннями темно-синього відновленого барвника. Підраховували їх процентний та абсолютний вміст.

Стимульваний НСТ-тест виконували аналогічно з введенням у тест-систему завису зимозану („Sigma”). Після інкубування цих суспензій та подвійного відмивання проводили підрахунок процентного та абсолютного вмісту.

2.2.6. Методика виявлення лізосомально-катіонних білків в цитоплазмі лейкоцитів за допомогою бромфенолового синього

В основі методу (Шубіч М.Г., 1976) лежить здатність бромфенолового синього вибірково фарбувати катіонні білки лейкоцитів при певному pH середовища. Характеризує киснево-незалежні процеси фагоцитозу НФ. Хід визначення лізосомальні-катіонних білків наступний: мазок фіксували сульфосаліциловою кислотою – 3 хв., фарбували бромфеноловим синім – 5 хв., дофарбовували гарячим фуксином – 2 хв., змивали, сушили. Підраховували процентний та абсолютний вміст нейтрофілів з синіми гранулами, а також цитохімічний індекс.

2.3. Електронно-мікроскопічне дослідження

Морфогістологічний аналіз здійснювали шляхом електронної мікроскопії (Хомерики С.Г., Морозов И.А., 1998). НФ виділяли на градієнті щільності фікол-верографіну, відмивали в буфері Хенкса (без іонів Са і Mg), фіксували в 4% параформальдегіді на буфері Хенкса та дофіксовували в 1% чотирьох окису осмію. Обезводнювали на ацетоні і заключали в суміш смол епону-аралдиту. Ультратонкі зрізи готували на ультратомі LKB-IV і після контрастування ураніл-ацетатом і цитратом свинцю дивились на електронному мікроскопі.

2.4. Статистична обробка матеріалу

Статистичні дослідження проводились з допомогою програми Microsoft Excel, використовуючи персональний комп′ютер (Лапич С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н., 2000).

Достовірність даних, що наводилися у відсотках, визначали за формулою:

$t = P / m P$, де $m P = \sqrt{P (100 - P) / n}$

А для порівняння цих показників між різними вибірками застосовували формулу:

$$t = P_1 - P_2 / \sqrt{P' (100 - P')(\gamma_{n1} + \gamma_{n2})},$$

де P′ - відсотки, що шукали за сукупністю виборок.

Отримані результати експериментальних даних оброблені методом варіаційної статистики відповідно до сучасних вимог. Для обчислення абсолютних величин використано критерій (t) Ст′юдента. За таблицею на підставі величини t визначали ймовірність відмінностей. Для оцінки відмінностей величин, що визначали у відсотках, застосовано непараметричний критерій кутового перетворення (р) Фішера. Вірогідними вважали відмінності, в яких імовірність статистичної похибки складала $P<0,05$.

При оцінці достовірності відмінностей кількох серій спостережень, які проводилися в динаміці на одній і тій же групі тварин, користувалися методом відмінностей. Для цього визначалося середнє квадратичне відхилення таким чином: встановлювалася величина відхилення кожного з членів варіаційного ряду від середньої арифметичної. Знайдені відхилення підносилися до квадрату і сумувалися квадрати всіх відхилень. Отримана сума ділилась на число членів варіаційного ряду, зменшене на одиницю. А з отриманого результату добували квадратний корінь. Отримані результати порівнювали з таблицею, встановлювали рівень ймовірності ”нульової гіпотези” (відсутність різниці між порівнюваними величинами).

З метою аналізу зв′язків між різними показниками проводилось порівняння їх методом кореляційного аналізу.

2.5. Характеристика досліджуваних середників

Досліджуваний середник – кверцетин, натуральний екстракт із класу біофлавоноїдів, що володіє:

- антигістамінною дією, блокуючи вироблення гістаміну, серотоніну та лейкотрієнів [51, 59, 67, 97, 102];
- протизапальною та протинабряковою дією, стабілізує клітинні мембрани, знижує проникність капілярів [58, 67, 82, 96];
- антиоксидантною дією – блокує вільні радикали як ендогенного так і екзогенного походження [67, 96, 97, 104].

Плацентарний полібіолін – отриманий у Львівському НДІ гематології та переливанні крові. Препарат пройшов хімічний та імунохімічний аналіз з допомогою афінної хроматографії та електрофорезу в Московському НДІ гематології під керівництвом акад. Е.О.Зотикова.

З 1991 р. виробляється Київським бакпідприємством “БІОФАРМА”. Продукція цього підприємства сертифікована Європейською комісією,

володіє Міжнародними нормами забору матеріалу, спеціальною обробкою вірусів гепатиту В та С, ВІЛ.

Встановлено, що в склад ПП входять α-макроглобулін, α-глікопротеїн та трофобластний β-глікопротеїн [29]. В їх склад входить ряд гострофазних білків інгібіторів лізосомальних ферментів, цитокінів різнопланового характеру дії. Ці білки мають подібні пептиди після трипсинізації, що дозволяє розглядати їх як “фрагмент захоплювальної” речовини, які приймають участь в іммобілізації протеаз [30, 36, 73, 110, 152]. Ці фактори активно впливають на формування імунної відповіді.

Все це і послужило мотивацією підбору цих середників з метою дослідження їх в якості можливих імунопротекторів, коригуючих виявлені зміни при хронічному імунокомплексному процесі.

РОЗДІЛ 3
ПОКАЗНИКИ НЕЙТРОФІЛОЗАЛЕЖНОГО ФАГОЦИТОЗУ ТВАРИН ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ІМУНОКОМПЛЕКСНОГО ПРОЦЕСУ

Дослідження цього розділу передбачало вивчення показників прямих та опосередкованих показників фагоцитозу за умов фізіологічної норми та хронічного імунокомплексного процесу.

Хронічний імунокомплексний процес – це результат появи в судинному руслі циркулюючих імунних комплексів, котрі проявляють патогенний вплив на судинну стінку. Оскільки даний процес є фізіологічним механізмом захисту від дії антигенів, в сироватці крові інтактного організму обов′язково наявний певний рівень ЦІК. Патогенетичного значення ЦІК набувають лише за умов їх підвищеної продукції або зниженої елімінації і залежить від їх розмірів. У випадку сильної переваги концентрації АГ над концентрацією АТ утворюються малі ІК, які без перешкод видаляються із організму через нирки [32, 34, 44]. По мірі наростання концентрації АТ і наближення до рівня рівноваг з концентрацією АГ утворюються ІК середніх розмірів. Ці комплекси є найбільш небезпечні – вони погано фагоцитуються і виводяться з організму [32, 37, 44, 67]. Вони здатні активувати систему комплементу за класичним шляхом. При оптимальних співвідношеннях концентрацій АГ і АТ утворюються великі ІК, котрі менш патогенні, так як легко фагоцитуються [21, 32, 37, 44, 67].

3.1. Характеристика показників прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу інтактних тварин

Оцінку прямих механізмів фагоцитозу інтактних тварин проводили за даними загальної кількості лейкоцитів в крові, а також абсолютного та відносного вмісту в ній функціонально активних нейтрофільних лейкоцитів.

Функціональну активність фагоцитарної ланки оцінювали за захоплювальною здатністю мікрофагоцитів (ФЧ, ФІ, КФІ), стану окисно-залежних систем НФ (МПТ), здатності відновлювати нітросиній тетразолій та резрвну активність окисно-відновних систем (НСТ спонтанний, НСТ стимульований) та кисневонезалежних бактерицидних систем (ЛКТ). Отримані показники фагоцитарної активності інтактних тварин приведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Особливості показників фагоцитарної активності нейтрофілів у інтактних тварин (M ± m; n=24)

Тести дослідження	Одиниці вимірювання	Показники ФА
Заг. к-сть лейкоцитів	10^9/л	12,36±0,46
Нейтрофіли	% 10^9 /л	22,07±0,49 2,72±0,10
ФЧ $_{20хв}$ ФЧ $_{120хв}$	% %	75,80±1,71 80,30±1,68
ФІ $_{20хв}$ ФІ $_{120хв}$		3,71±0,06 4,30±0,11
КФІ		1,16±0,04
МПТ ЦХІ	% 10^9 /л	45,14±3,83 1,22±0,11 0,84±0,06
НСТ спонт.	% 10^9 /л	11,43±0,64 0,31±0,02
НСТ стим.	% 10^9 /л	16,36±0,50 0,44±0,02
ЛКТ ЦХІ	% 10^9 /л	63,29±3,36 1,73±0,13 0,72±0,04

Отримані дані показників фагоцитозу інтактних тварин показали, що загальна кількість лейкоцитів в крові тварин (12,36±0,46×10^9/л) відповідає межам норми з урахуванням виду, віку об'єкту дослідження та сезонних коливань показника [73]. Низький вміст нейтрофілів у крові (2,72±0,10×10^9/л)

є характерною рисою даного виду тварин і співпадає з літературними даними [73]. Отримані дані слугували нам вихідними контрольними показниками.

Оцінка опосередкованих механізмів фагоцитарної активності інтактних тварин полягала в визначенні в сироватці крові тварин показників рівня ЦІК великих, середніх і малих розмірів та гемолітичної активності комплементу. Отримані результати приведені в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Показники рівня різних видів ЦІК та гемолітичної активності комплементу інтактних тварин (M ± m; n= 24)

Види ЦІК	Одиниці вимірювання	Показники ЦІК
ЦІК великі	од.опт.густ.	70,50±3,69
ЦІК середні	од.опт.густ.	103,00±2,13
ЦІК малі	од.опт.густ.	161,50±5,00
Активність комплементу	гемол.од CH_{50}	70,96±3,14

Отримані показники опосередкованих механізмів фагоцитарної активності нейтрофілів інтактних тварин показали, що в даного виду ЦІК малих розмірів склали – 161,50±5,00 одиниць оптичної густини, середніх розмірів – 103,00±2,13 одиниць оптичної густини, великих розмірів – 70,50±3,69 одиниць оптичної густини. Гемолітична активність комплементу становила – 70,96 ±3,14 гемолітичних одиниць CH_{50}.

3.2. Характеристика прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу тварин за умов хронічного імунокомплексного процесу

У цьому підрозділі досліджувались показники прямих та опосередкованих механізмів фагоцитарної активності в тварин за умов ХІКП. Отримані дані приведені в таблицях 3.3 та 3.4.

Таблиця 3.3

Показники фагоцитозу за умов хронічного імунокомплексного процесу

(M ± m; n = 48)

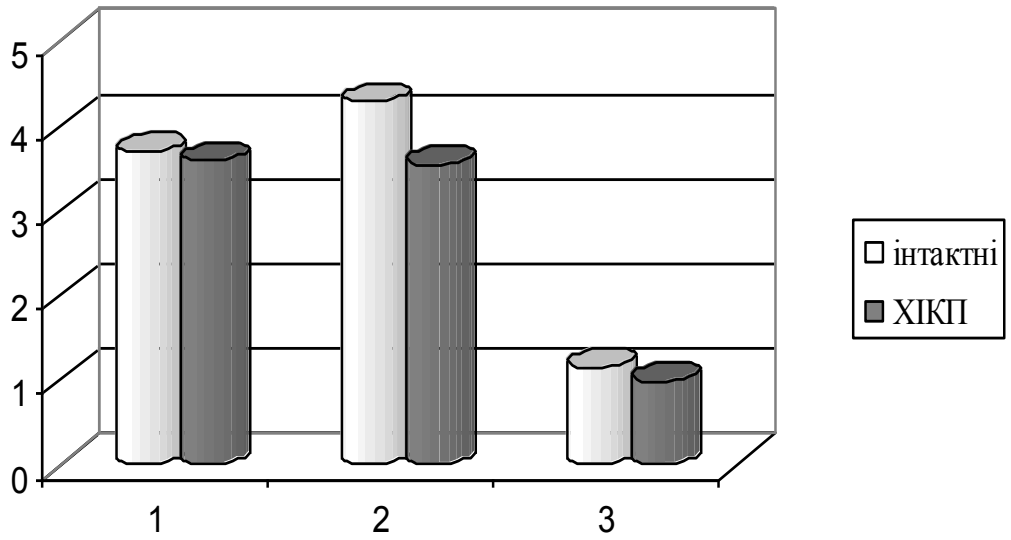
Тести дослідження	Одиниці виміру	Показники ФА		P
		Інтактних	Дослідних	
Заг. кількість лейкоцитів	10^9 /л	12,36±0,46	18,93±0,32	0,001
Нейтрофіли	% 10^9 /л	22,07±0,49 2,72±0,10	20,29±0,53 3,83±0,10	0,05 0,001
ФЧ $_{20хв.}$ ФЧ $_{120хв.}$	% %	75,80±1,71 80,30±1,68	74,00±2,48 85,10±1,63	– 0,05
ФІ $_{20хв.}$ ФІ $_{120хв.}$		3,71±0,06 4,30±0,11	3,60±0,09 3,55±0,13	– 0,001
КФІ		1,16±0,04	0,99±0,04	0,005
МПТ ЦХІ	% 10^9 /л	45,14±3,83 1,22±0,11 0,84±0,06	70,71±4,17 2,76±0,19 1,36±0,10	0,001 0,001 0,001
НСТ сп.	% 10^9 /л	11,43±0,64 0,31±0,02	16,50±0,80 0,64±0,04	0,001 0,001
НСТ ст.	% 10^9 /л	16,36±0,50 0,44±0,02	18,29±0,93 0,71±0,04	– 0,001
ЛКТ ЦХІ	% 10^9 /л	63,29±3,36 1,73±0,13 0,72±0,04	82,64±3,53 3,19±0,15 1,39±0,08	0,001 0,001 0,001

Примітка:

Р – вірогідність різниці показників у порівнянні з даними контрольної групи.

Як видно з табл. 3.3, за умов ХІКП зростає загальна кількість лейкоцитів (P<0,001) і серед них – нейтрофілів (P<0,001).

Число фагоцитних клітин через 20 хв. вірогідно не змінилось – 74,00±2,48% і достовірно збільшилося – 85,10±1,63% через 120 хв. (P<0,05), хоча кількість захоплених частинок латексу зменшилася порівняно з контролем – 3,55±0,13 через 120 хв. (P<0,001). Відповідно швидкість фагоцитозу зменшилась (P<0,005) (Рис. 3.1).



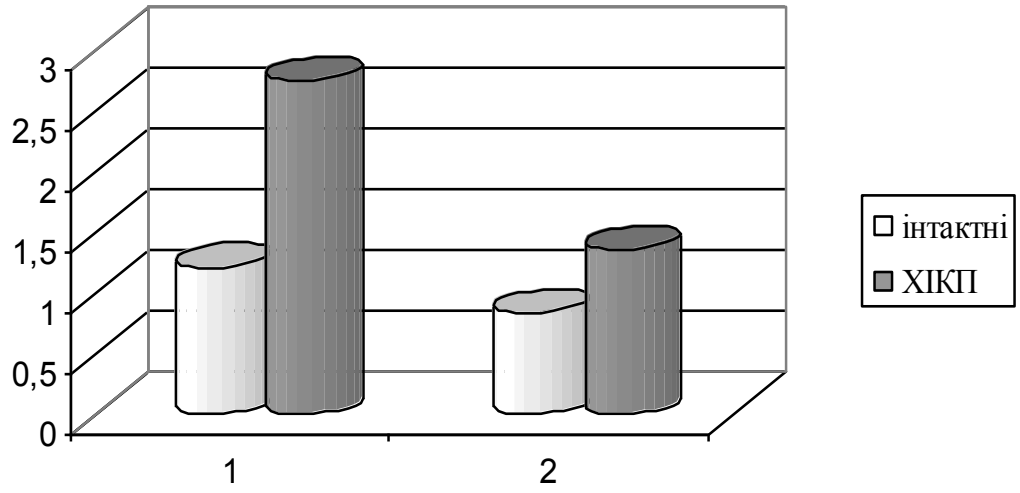
1 – фагоцитарний індекс через 20 хв. інкубації;

2 – фагоцитарний індекс через 120 хв. інкубації;

3 – коєфіцієнт фагоцитарного індексу.

Рис. 3.1 Динаміка показників захоплювальної здатності нейтрофілів за умов ХІКП.

Це свідчить про те, що нейтрофільні фагоцити перші відповідають на вторгнення чужерідних агентів, щоб знищити їх, що також сприяють переводу цих антигенів в імуногенну форму [139]. Знищення чужерідних частинок проходить шляхом дії кисневозалежного та кисневонезалежного механізмів бактерицидного захисту.

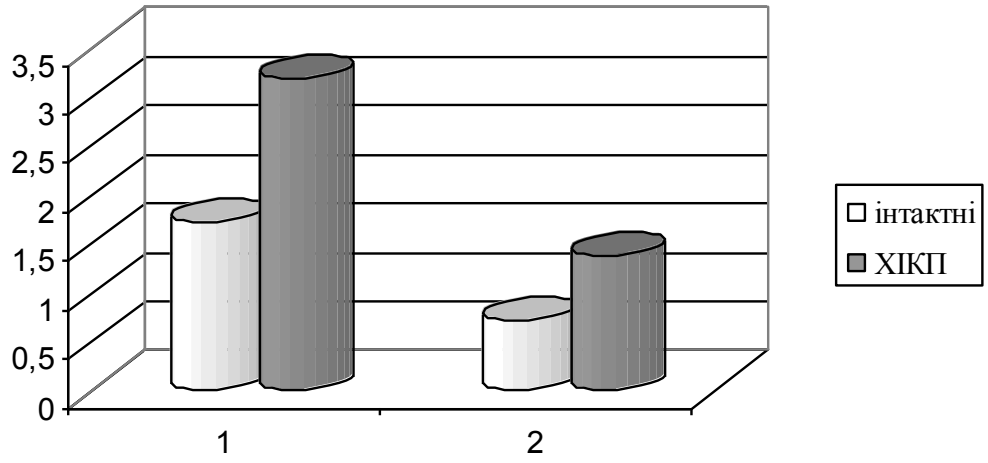


1 – абсолютні показники МП-тесту;

2 – цитохімічний індекс.

Рис. 3.2 Динаміка показників кисневозалежних ферментативних процесів за умов ХІКП

Як видно з рис. 3.2, дослідження ферментативних процесів у нейтрофільних гранулоцитах виявило збільшення показників міелопероксидазного тесту, котрий свідчить про активацію кисневозалежних ферментативних процесів. Показники кисневозалежних систем НФ достовірно зросли порівняно з контрольними тваринами [70,71±4,17%] у відсотках і [2,76±0,19×10^9/л] в абсолютних значеннях (P<0,001), також зросли показники цитохімічного індексу до 1,36±0,10. Метаболічна перебудова стимульованих НФ проходить миттєво – "респіраторний вибух". Основу такої перебудови складають кисневозалежні реакції, в результаті котрих утворюються активні форми кисню: супероксидний аніон, синглетний кисень, гідроксильний радикал, гіпохлорид. Ланцюг метаболічних перетворень здійснюється з допомогою міелопероксидази, ферменту азурофільних гранул. При патологічних станах, через неспецифічність фагоцитарних реакцій, дія активованих НФ направлена як на чужерідні об'єкти, так і на тканини власного організму [9].



1– абсолютні показники ЛК-тесту;

2 – цитохімічний індекс.

Рис. 3.3 Динаміка показників лізосомально-катіонного тесту за умов ХІКП.

Як видно з рис. 3.3, показники кисневонезалежних бактерицидних систем достовірно зросли [82,64±3,53% (P<0,001)], що в абсолютних значеннях відповідало – 3,19±0,15×10^9/л (P<0,001), середня кількість гранул в одному НФ збільшилась до 1,39±0,08 (P<0,001). В процесі фагоцитозу катіонні білки поступають в фаголізосому НФ і адсорбуються на вільній поверхні фагоцитованого об’єкту. Згідно гіпотези Zey і Spitznagel, при такому контакті проходить електростатична взаємодія катіонних білків з аніонними компонентами об’єкту і руйнує його. По ряду даних дослідників [62, 273] катіонні білки в малих концентраціях стимулюють, а у великих пригнічують основні біохімічні процеси в клітинах вогнища запалення, що дає основу відносити катіонні білки до медіаторів запалення. Існують дані [144] про участь катіонних білків в пускових механізмах активації поліморфноядерних лейкоцитів

Зросли також показники окисно-відновної здатності лізосом НФ (16.50±0,80) у відсотках та 0,64±0,04×10^9/л в абсолютних значеннях

(P<0,001), і резервна можливість в абсолютних значеннях – 0,71±0,04×10^9/л (P<0,001).

Таблиця 3.4

Показники опосередкованих механізмів фагоцитарної активності тварин за умов хронічного імунокомплексного процесу (M ± m; n = 48)

Види ЦІК	Одиниці вимірювання	Показники ЦІК		P
		Інтактних	Дослідних	
ЦІК великі	од.опт.густ.	70,50±3,69	161,50±25,02	0,005
ЦІК середні	од.опт.густ.	103,00±2,13	189,00±4,99	0,001
ЦІК малі	од.опт.густ.	161,50±5,00	200,00±6,06	0,001
Активність комплемент	гемол.од CH_{50}	70,96±3,14	60,46±2,65	0,05

Примітка:
P – вірогідність різниці показників у порівнянні з даними контрольної групи.

Як видно з таблиці 3.4, за умов хронічного імунокомплексного процесу всі показники ЦІК (великих, середніх та малих розмірів) достовірно зросли. Знизились показники гемолітичної активності комплементу, що свідчить про активацію системи комплементу (P<0,05), в порівнянні з контрольними показниками. В умовах довготривалої імунної відповіді в склад ІК включаються нові АТ, що створює умови для фіксації та пошкоджуючої активації всього каскаду системи комплементу. ІК приклеюються до циркулюючих клітин крові через рецептор C3b. З допомогою цього механізму комплекси модифікуються і елімінуються фагоцитарною системою [167]. Нові порції ЦІК, що поступають в переповнені мезанглії, займають спочатку субендотеліально-мезангіальну зону, а потім поширюючись по субендотеліальному простору формують субендотеліальні депозити ІК [226, 248].

Підвищений рівень ЦІК в сироватці крові є характерною ознакою для хронічного імунокомплексного процесу [21, 44]. Посилена продукція ЦІК виникає внаслідок постійної персистенції антигену в крові.

Біологічна дія ІК повязана з активацією ефекторних клітин, зокрема мікрофагоцитів крові. Останні можуть переходити в активний стан. Вважається, що за показниками функціональної активності НФ можна судити про глибину та динаміку патологічних порушень [2, 56, 62, 68, 78].

Підсумовуючи результати даного розділу можна зробити висновки:

1. За умов експериментального хронічного імунокомплексного процесу зростають показники циркулюючих імунних комплексів – великих розмірів від 70,50±3,69 до 161,50±25,00 (P<0,005); середніх – від 103,00±2,13 до 189,00±4,99 (P<0,001); малих – від 161,50±5,00 (P<0,001) та активність системи комплементу (P<0,05).
2. Нейтрофільний статус характеризується послабленням захоплювальної функції – швидкість фагоцитозу достовірно зменшується від 1,16±0,04 до 0,99±0,004 (P<0,005) та активацією всіх ферментативних процесів у лізосомах нейтрофілів, що сприяє розвитку запального процесу.

Основні наукові положення викладені в статтях:

1. Угрин О.М., Никитюк Г.П. Церулоплазміновий статус та фагоцитоз за умов впливу хронічної гіперімунокомплексемії // Актуальні проблеми клінічної імунології та алергології. – 1996. – № 1. – С.150 [135].
2. Участь нейтрофільних механізмів у патогенезі хронічної гіперімунокомплексемії /Бідюк М.М., Чоп’як В.В., Любінець Л.А., Павлович С.І., Никитюк Г.П., Пороховська З.С. // Фізіологічний журнал. – 1997. – Т. 43, № 3-4. – С. 11-18 [137]
3. Никитюк Г.П., Бідюк М.М., Угрин О.М. Фагоцитарна активність нейтрофілів при експериментальній хронічній гіперімунокомплексній патології // Фізіологічний журнал. – 2002. – Т. 48, № 4. – С. 100 [102].

РОЗДІЛ 4
ПОКАЗНИКИ НЕЙТРОФІЛОЗАЛЕЖНОГО ФАГОЦИТОЗУ ТВАРИН, ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ІМУНОКОМПЛЕКСНОГО ПРОЦЕСУ ПРИ ДІЇ ПЛАЦЕНТАРНОГО ПОЛІБІОЛІНУ ТА КОРВІТИНУ

З метою корекції виявлених порушень цих показників при ХІКП ми обрали ПП – препарат, в склад якого входять α_2-макроглобулін, α_2-глікопротеїн та трофобластний β_1-глікопротеїн [36, 71]. Виявлено, що ПП володіє імунодепресивною дією і має протизапальну дію [29, 30, 99, 109, 143, 144, 151], як інгібітор лізосомальних протеаз та активатор фагоцитозу [11, 12, 25, 29, 36, 143, 144, 151, 153].

Другий препарат – кверцетин (корвітин), натуральний екстракт із класу біофлавоноїдів. Він володіє: антигістамінною дією, блокуючи вироблення гістаміну, серотоніну та лейкотрієнів [50, 58, 95, 115]; протизапальною та протинабряковою дією, стабілізує клітинні мембрани [58, 66, 94], знижує проникність капілярів [50, 61, 66, 100, 103]; антиоксидантною дією – блокує вільні радикали як ендогенного так і екзогенного походження [100, 103, 121, 122].

Застосування цих препаратів для корекції порушень досліджуваних показників, в умовах ХІКП, вимагає попереднього вивчення впливу цих препаратів на інтактний організм. Таке дослідження дозволяє виявити вплив препаратів на прямі та опосередковані механізми фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів, а також виключити можливий дисрегуляторний ефект на механізм імунної відповіді.

У даному розділі приведені результати одержані в двох групах інтактних тварин та в двох групах тварин з хронічним імунокомплексним процесом, які отримували відповідно розчин плацентарного полібіоліну та розчин корвітину. Статистичне порівняння проводилося з показниками одержаними в контрольній групі, де тварини отримували розчин плацебо.

4.1. Характеристика показників прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу у інтактних тварин після введення їм ПП

Оцінка показників фагоцитозу інтактних тварин. З метою вивчення впливу ПП у інтактних тварин було проведено дослідження показників нейтрофільного статусу. Динаміка показників нейтрофілозалежних процесів фагоцитозу у інтактних тварин після введення плацентарного полібіоліну представлена в табл 4.1.

Таблиця 4.1

Вплив ПП на показники фагоцитарної активності нейтрофілів у інтактних тварин (M+m; n=20)

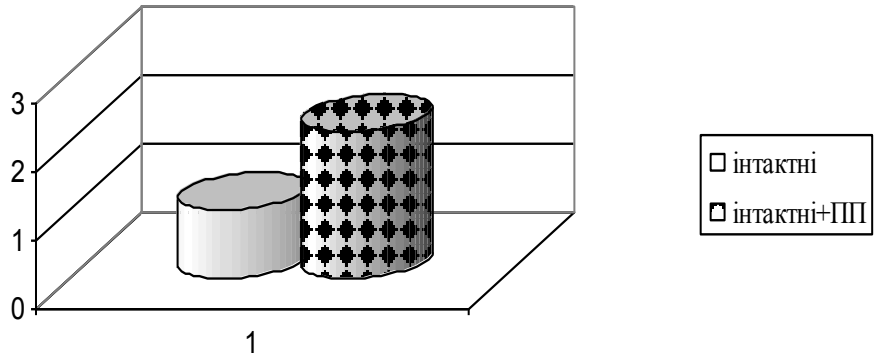
Тести дослідження	Одиниці виміру	Показники ФА		P
		Інтактні	Інтактні+ПП	
Заг. кількість лейкоцитів	10^9 /л	12,80±0,55	19,20±0,73	0,001
Нейтрофіли	% 10^9 /л	21,70±2,03 2,80±0,34	20,40±0,88 3,91±0,21	– 0,05
ФЧ	% 10^9 /л	38,30±2,81 1,02±0,08	56,20±2,81 2,17±0,11	0,001 0,001
МПТ	% 10^9 /л	71,70±1,85 2,01±0,23	85,60±1,63 3,34±0,18	0,001 0,001
НСТ спонт.	% 10^9 /л	11,80±0,73 0,34±0,05	13,50±0,67 0,53±0,05	– 0,02
НСТ стим.	% 10^9 /л	14,10±0,62 0,40±0,06	23,80±0,73 0,94±0,07	0,001 0,001
ЛКТ	% 10^9 /л	60,30±3,13 1,68±0,22	70,60±2,60 2,77±0,21	0,05 0,005

Примітка:

P – вірогідність різниці показників у порівнянні з даними контрольної групи.

Як видно з табл. 4.1, в результаті проведених досліджень встановлено, що введення ПП у цій групі тварин супроводжувалося зростанням загальної кількості лейкоцитів – 19,20±0,73×10^9/л і абсолютної кількості НФ – 3,91±0,21×10^9/л порівняно з інтактними тваринами.

В нейтрофілах після введення плацентарного полібіоліну активуються процеси захоплення чужерідних частинок. Кількість фагоцитних клітин достовірно збільшилося як у відсотках – 56,20±2,81% (P<0,001), так і в абсолютних значеннях (P<0,001).



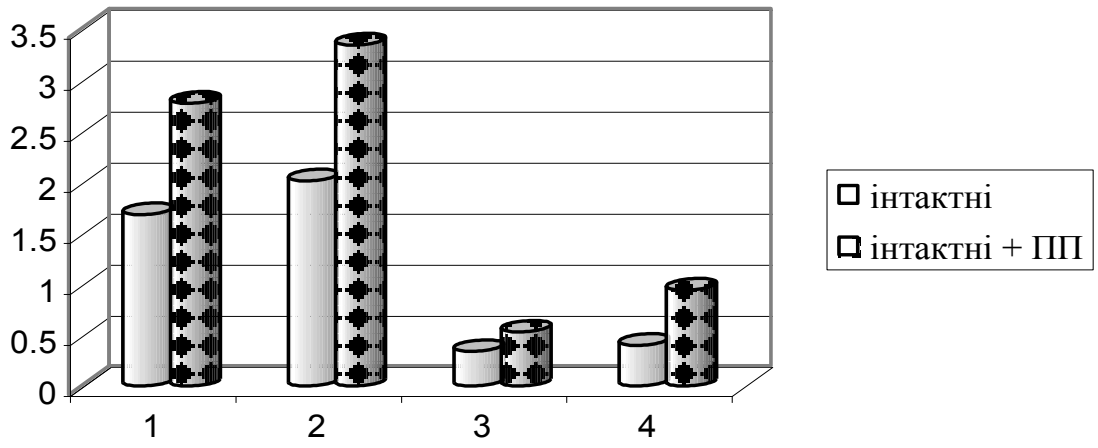
1 – абсолютні показники латексного тесту.

Рис. 4.1 Динаміка показників захоплювальної здатності нейтрофілів після введення ПП.

Дослідження ферментативних процесів у нейтрофільних гранулоцитах, як видно з рис. 4.2, виявило активацію кисневозалежних ферментативних процесів – показники міелопероксидазного тесту достовірно зросли порівняно з контрольними тваринами до введення ПП у відсотках 85,60±1,63% і 3,34±0,18×10^9/л і в абсолютних значеннях (P<0,001).

Одночасно з цим у тварин які отримували ПП збільшилися показники окисно-відновної здатності лізосом НФ (0,53±0,05×10^9/л) та їх резервна можливість (0,94±0,07×10^9/л) порівняно з показниками контрольної групи в абсолютних значеннях.

Показники лізосомально-катіонного тесту також свідчать про активацію кисневонезалежних ферментативних процесів у нейтрофільних гранулоцитах (P<0,005) порівняно з групою тварин до введення ПП.



1 – абсолютні показники лізосомально-катіонного тесту;

2 – абсолютні показники міелопероксидазного тесту;

3 – абсолютні показники спонтанного НСТ-тесту;

4 – абсолютні показники стимульованого НСТ-тесту.

Рис. 4.2 Динаміка показників ферментативної здатності нейтрофілів інтактних тварин після введення ПП.

Введення плацентарного полібіоліну інтактним тваринам позначилося активацією захоплювальної здатності нейтрофільних фагоцитів, а також кисневозалежних та кисневонезалежних ферментативних процесів у лізосомах НФ.

Оцінку показників опосередкованих механізмів фагоцитарної активності нейтрофілів проводили за визначенням показників ЦІК різних розмірів**.** Динаміка показників ЦІК у інтактних тварин після введення ПП подані у табл. 4.2.

Таблиця 4.2

Вплив ПП на показники різних видів ЦІК у інтактних тварин

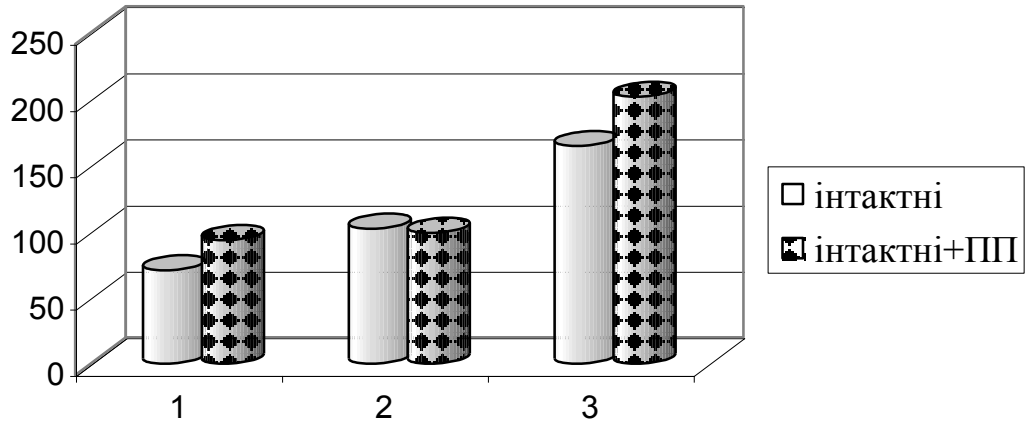
(M+m; n=20)

Види ЦІК	Одиниці вимірювання	Показники ЦІК		P
		Інтактні	Інтактні+ПП	
ЦІК великі	од.опт.густ.	70,50±3,69	93,33±9,37	0,05
ЦІК середні	од.опт.густ.	102,00±3,89	98,33±7,82	–
ЦІК малі	од.опт.густ.	164,50±6,17	201,67±13,33	0,05

Примітка:

P – вірогідність різниці показників порівняно з даними контрольної групи.

Як видно з табл. 4.2 і рис. 4.3, у тварин, які одержували ПП зросли показники ЦІК великих розмірів 93,33±9,37 од.опт. густини і малих – 201,67±13,33 од.опт. густини (P<0,05). Показники ЦІК середніх розмірів вірогідно не змінилися – 98,33±7,82 од.опт. густини (P>0,05)



1 – ЦІК великих розмірів;

2 – ЦІК середніх розмірів;

3 – ЦІК малих розмірів.

Рис. 4.3 Динаміка показників ЦІК різних розмірів в інтактних тварин після введення ПП.

Отже, можна зробити наступний висновок: при введенні інтактним тваринам плацентарного полібіоліну в НФ активуються процеси захоплення (зростають показники фагоцитарного числа), а також кисневозалежні (збільшуються показники міелопероксидазного і нітросинього тетразолієвого тестів) та кисневонезалежні ферментативні процеси (зростають показники лізосомальні-катіонного тесту). При впливі ПП на механізми опосередкованої фагоцитарної активності спостерігалося збільшення показників ЦІК великих і малих розмірів, показники ЦІК середніх розмірів вірогідно не змінилися. Це свідчить про активацію прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу, особливо враховуючи збільшення показників ЦІК великих розмірів, котрі елімінуються власне фагоцитарною системою.

4.2. Характеристика нейтрофілопосередкованих процесів фагоцитозу у інтактних тварин після введення їм корвітину

Оцінка показників прямих механізмів фагоцитозу інтактних тварин після десятиденного введення корвітину**.** Динаміка показників нейтрофілопосередкованих механізмів фагоцитозу подана у табл. 4.3.

Як видно з табл. 4.3, загальна кількість лейкоцитів у інтактних тварин після введення корвітину вірогідно не змінилась – $13,59\pm0,68\times10^9$/л ($P>0,05$), а кількість нейтрофільних гранулоцитів достовірно зменшилась в відсотках – $18,00\pm0,48$ % ($P<0,01$), але не змінилась в абсолютних числах – $2,44\pm0,13\times10^9$/л ($P>0,05$).

Таблиця 4.3

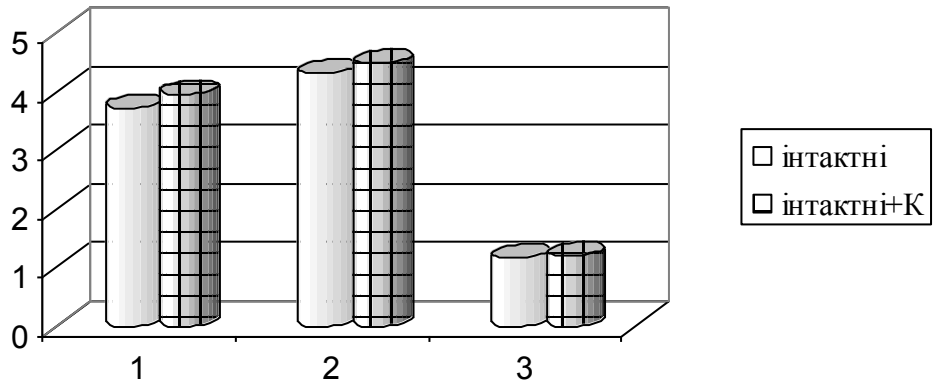
Вплив кверцитину на показники фагоцитарної активності нейтрофілів у інтактних тварин (M+m; n=28)

Показники дослідження	Одиниці виміру	Показники ФА		P
		Інтактні	Інтактні + К	
Заг. кількість лейкоцитів	10^9 /л	12,36±0,46	13,59±0,68	–
Нейтрофіли	% 10^9 /л	22,07±0,49 2,72±0,10	18,00±0,48 2,44±0,13	0,001 –
ФЧ 20 хв. 120 хв.	% %	75,80±1,71 80,30±1,68	76,00±4.43 86,50±1,93	– 0,03
ФІ 20 хв. 120 хв.		3,71±0,06 4,30±0,11	3,94±0,07 4,74±0,13	0,02 0,02
КФІ		1,16±0,04	1,20±0,02	–
МПТ ЦХІ	% 10^9 /л	45,14±3,83 1,22±0,11 0,84±0,06	58,43±3,60 1,43±0,11 0,95±0,05	0,02 – –
НСТ спонт.	% 10^9 /л	11,43±0,64 0,31±0,02	11,93±0,62 0,29±0,02	– –
НСТ стим.	% 10^9 /л	16,36±0,50 0,44±0,02	18,64±0,68 0,45±0,03	0,01 –
ЛКТ ЦХІ	% 10^9 /л	63,29±3,36 1,73±0,13 0,72±0,04	64,93±2,71 1,58±0,10 1,12±0,07	– – 0,001

Примітка:

P – вірогідність різниці показників у порівнянні з даними контрольної групи.

Вплив корвітину на захоплювальну функцію НФ проявився активацією – як зростанням кількості активних фагоцитів через 120 хв. [86,50±1,93%; (P<0,05)] так і кількістю поглинутих частинок латексу одним НФ [3,94±0,07 та 4,74±0,13; (P<0,05)]. Швидкість фагоцитозу вірогідно не змінилась (P>0,05) (рис. 4.4).



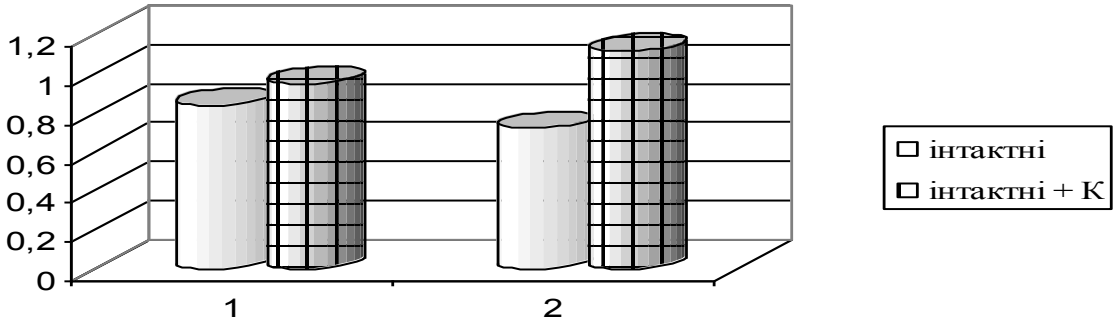
1 – фагоцитарний індекс після 20 хв. інкубації з латексом;

2 – фагоцитарний індекс після 120 хв. інкубації з латексом;

3 – коефіцієнт фагоцитарного індексу.

Рис. 4.4 Вплив корвітину на захоплювальну здатність НФ інтактних тварин.

Показники кисневозалежних ферментативних процесів лізосом НФ збільшились у відсотковому значенні [58,43±3,60% (P<0,05)], тоді як в абсолютних вірогідно не змінились (1,43±0,11×10^9/л), також не відмічено збільшення активності гранул в одному НФ – 0,95±0,05 (рис 4.5). Це свідчить про те, що корвітин не впливає на активність кисневозалежних ферментативних процесів у лізосомах НФ, але збільшує кількість активних фагоцитів.



1 – цитохімічний індекс міелопероксидазного тесту;

2 – цитохімічний індекс лізосомально-катіонного тесту.

Рис. 4.5 Вплив корвітину на ферментативні процеси в НФ.

Як видно з рис. 4.5, під впливом корвітину зросли показники цитохімічного індексу лізосомально-катіонного тесту, тоді як показники відсоткового та абсолютного вмісту НФ з позитивним ЛК-тестом не змінились, порівняно з інтактними тваринами. Тобто під впливом К кількість активних нейтрофілів не змінюється, хоча в одному НФ активність кисневонезалежних процесів збільшується.

Показники спонтанного НСТ-тесту залишились у тих самих цифрах як у відсотках – 11,93±0,62%, так і в абсолютних значеннях – 0,29±0,02×10^9/л (P>0,05). Показники стимульованого НСТ-тесту зросли у відсоткових значеннях – 18,64±0,68% (P<0,01), тоді як в абсолютних значеннях такої тенденції не відмічалося – 0,45±0,03×10^9/л (P>0,05). Це свідчить про те, що під впливом К окисно-відновні ферментативні процеси в лізосомах НФ не змінюються, однак під впливом додаткового подразника їх можливості збільшуються.

Оцінка показників опосередкованих механізмів фагоцитарної активності нейтрофілів. Динаміка показників ЦІК різних розмірів та гемолітичної активності комплементу наведена у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

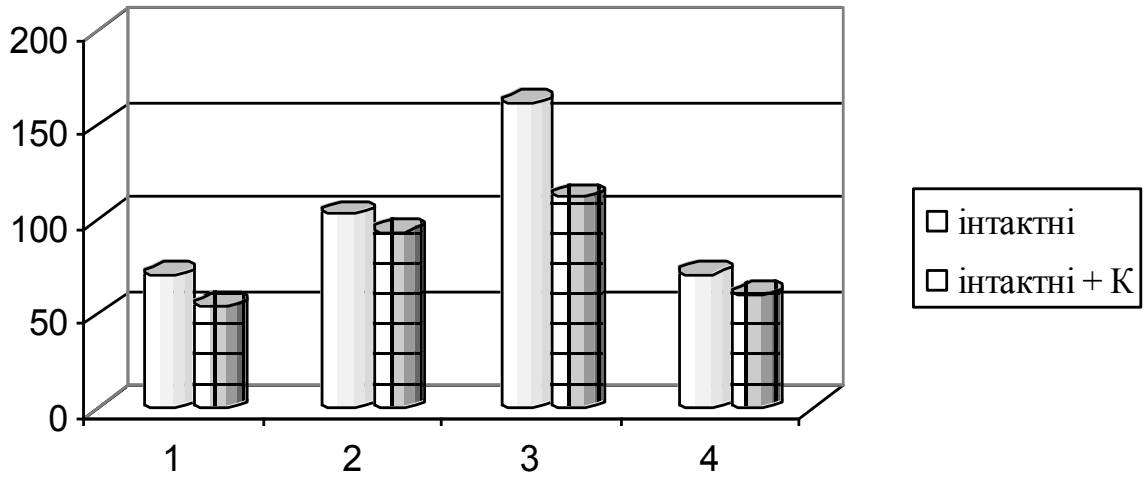
Вплив К на показники різних видів ЦІК і активність комплементу в інтактних тварин (M+m; n=28)

Види ЦІК	Одиниці вимірювання	Показники ЦІК		P
		Інтактні	Інтактні + К	
ЦІК великі	од. опт. густ.	70,50±3,69	54,00±2,45	0,001
ЦІК середні	од. опт. густ.	103,00±2,13	93,50±2,11	0,005
ЦІК малі	од. опт. густ.	161,50±5,00	111,90±3,88	0,001
Активність комплементу	гемол. од. CH_{50}	70,96±3,14	60,03±3,44	0,05

Примітка:

P – вірогідність різниці показників у порівнянні з даними контрольної групи.

Як видно із табл. 4.4 та рис. 4.6, рівень показників всіх ЦІК у сироватці крові інтактних тварин після введення корвітину достовірно знижується: ЦІК великих розмірів складають – 93,50±2,11 од. опт. густини (P<0,005), ЦІК середніх розмірів – 111,90±3,88 од. опт. густини (P<0,05), ЦІК малих розмірів – 44,53±1,25 од. опт. густини (P<0,001). Також знижуються показники гемолітичної активності комплементу – 60,03±3,44 гемолітичних од. CH_{50} (P<0,05), що свідчить про активне використання компонентів системи комплементу і відповідно процесів фагоцитозу.



1 – ЦІК великих розмірів;

2 – ЦІК середніх розмірів;

3 – ЦІК малих розмірів;

4 – активність комплементу.

Рис. 4.6 Динаміка показників ЦІК різних розмірів та гемолітичної активності комплементу інтактних тварин після введення корвітину.

Проведене дослідження дозволяє зробити висновок, що введення корвітину інтактним тваринам приводить до активації процесів захоплення НФ чужерідних частинок. На ферментативні процеси у лізосомах НФ корвітин впливає наступним чином: збільшується кількість активних НФ з позитивним міелопероксидазним тестом, активуються кисневонезалежні

процеси та зростає резервна можливість окисно-відновних процесів. Рівень всіх ЦІК у сироватці крові інтактних тварин після введення корвітину достовірно знижується, а система комплементу активується. Це свідчить про активацію процесів фагоцитарної активності НФ під впливом корвітину у інтактних тварин.

4.3. Особливості впливу плацентарного полібіоліну на перебіг хронічного імунокомплексного процесу

Попередньо було показано, що довготривале антигенне навантаження на організм тварин призводить до дисбалансу окремих ланок імунної системи, що проявляється розвитком картини, характерної для ХІКП (розділ 3). Даний патологічний процес супроводжувався змінами з боку показників прямих та опосередкованих механізмів фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів. Основні імунопатологічні прояви полягали в підвищеній продукції патогенних ЦІК, активації системи комплементу, кисневозалежних та кисневонезалежних ферментативних процесів і захоплення чужерідних частинок у НФ.

Проводячи даний фрагмент роботи, ми ставили собі за мету вивчити особливості розвитку та перебігу ХІКП у статевозрілих щурів-самців після введення їм плацентарного полібіоліну та кверцетину.

Оцінка показників прямих механізмів фагоцитозу. Динаміка показників нейтрофілозалежних механізмів фагоцитарної активності за умов ХІКП після введення тваринам ПП представлена у табл. 4.5.

Як видно з табл. 4.5, під впливом плацентарного полібіоліну зменшилася абсолютна кількість нейтрофільних фагоцитів – $3,56\pm0,18\times10^9$/л ($P<0,01$), тоді як відсотковий вміст зовсім не змінився – 20,00±1,17% при 20,40±1,11% у дослідних тварин.

Таблиця 4.5

Вплив ПП на показники фагоцитарної активності нейтрофілів за умов ХІКП (M ± m; n = 30)

Тести дослідження	Одиниці виміру	Показники ФА			P_{1-2}	P_{2-3}	P_{1-3}
		Інтактні	Дослідних	Дослідних+ПП			
Заг. кількість лейкоцитів	10^9 /л	12,80±0,55	23,90±0,72	18,00±0,63	0,001	0,001	0,001
Нейтрофіли	% 10^9 /л	21,70±2,03 2,80±0,34	20,40±1,11 4,90±0,35	20,00±1,17 3,56±0,18	– 0,001	– 0,005	– –
ФЧ	% 10^9 /л	38,30±2,81 1,02±0,08	52,30±2,87 2,52±0,17	62,8±2,11 2,23±0,11	– 0,001	0,01 –	0,001 0,001
МПТ	% 10^9 /л	71,70±1,85 2,01±0,23	88,90±1,83 4,40±0,37	72,30±2,39 2,56±0,12	0,01 0,001	0,001 0,001	– 0,05
НСТ сп.	% 10^9 /л	11,80±0,73 0,34±0,05	18,10±0,66 0,90±0,09	14,10±0,57 0,50±0,02	0,001 0,001	0,001 0,001	0,02 0,02
НСТ ст.	% 10^9 /л	14,10±0,62 0,40±0,06	21,70±0,68 1,08±0,10	17,10±0,66 0,61±0,03	0,001 0,001	0,001 0,001	0,005 0,01
ЛКТ	% 10^9 /л	60,30±3,13 1,68±0,22	76,40±3,61 3,72±0,30	67,40±2,45 2,29±0,09	0,005 0,001	0,05 0,001	– 0,02

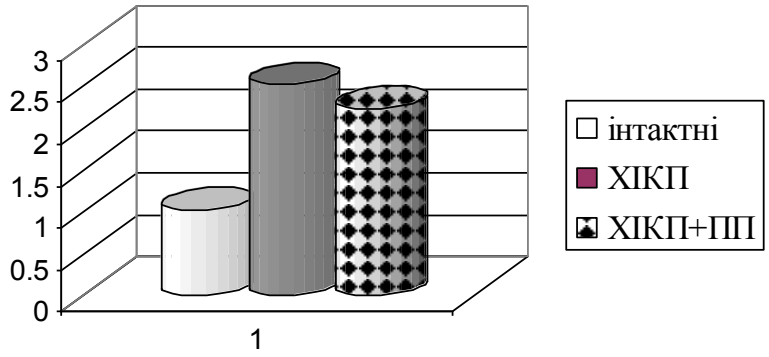
Примітка:

P_{1-2} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин;

P_{2-3} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні дослідних та дослідних тварин, що отримували ПП;

P_{1-3} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин, що отримували ПП.

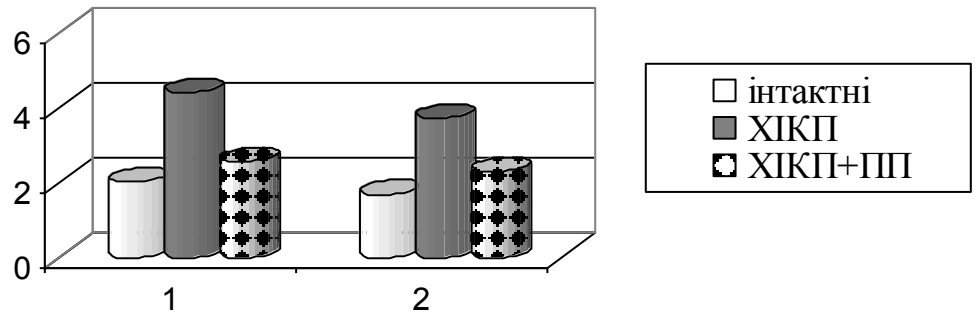
Як видно з рис. 4.6, ПП активує захоплювальну здатність НФ, про що свідчать відносні показники латексного тесту – 62,8±2,1% (P<0,01), тоді як абсолютні значення латексного тесту вірогідно не змінюються – 2,23±0,11×10^9/л .



1 – абсолютні показники латексного тесту;

Рис. 4.6 Динаміка показників захоплювальної здатності нейтрофілів дослідних тварин після введення ПП.

Ферментативні процеси в НФ під впливом ПП також зазнали певних змін, що проявилося у зменшенні активності як кисневозалежних ферментативних процесів – 72,30±2,39% (P<0,001), що в абсолютних значеннях відповідало – 2,56±0,12×10^9/л (P<0,001). Так і кисневонезалежних процесів, про що свідчить зниження показників ЛК-тесту у відносних – 67,40±2,45 %, та в абсолютних значеннях (P<0,05).

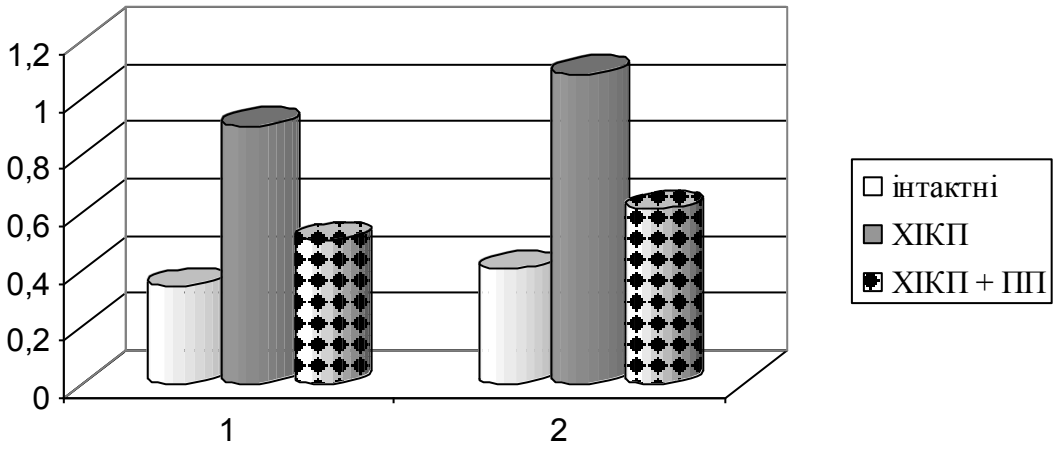


1 – абсолютні показники лізосомально-катіонного тесту;

2 – абсолютні показники міелопероксидазного тесту;

Рис. 4.7 Динаміка показників ферментативної здатності НФ дослідних тварин після введення ПП.

Окисно-відновні процеси у НФ сповільнюються, що проявляється зниженням показників спонтанного НСТ-тесту у відсотках – 14,86±0,83% (P<0,001), і в абсолютних значеннях – $0,52\pm0,03\times10^9$/л (P<0,001).



1 – абсолютні показники спонтанного НСТ-тесту

2 – абсолютні показники стимульованого НСТ-тесту

Рис. 4.8 Динаміка показників окисно-відновної ферментативної здатності НФ дослідних тварин після введення ПП.

Оцінка показників опосередкованих механізмів фагоцитарної активності нейтрофілів дослідних тварин**.** Динаміка впливу ПП на утворення різних видів ЦІК представлена у табл. 4.6.

Як видно з табл. 4.6, застосування ПП викликає зменшення рівня циркулюючих імунних комплексів в сироватці крові щурів із хронічним імунокомплексним процесом всіх розмірів. Відповідно великі ЦІК достовірно зменшуються [44,17±6,51 од. опт. густини, (P<0,05)] порівняно з тваринами з хронічним імунокомплексним процесом котрим не вводили ПП, що є менше від цих показників у інтактних тварин. Рівень середніх ЦІК достовірно зменшується – 109,17±10,76 од. опт. густини (P<0,001), рівень малих ЦІК має тенденцію до зменшення – 153,3±32,4 од. опт. густини і відповідає цим показникам у інтактних тварин (рис. 4.9).

Таблиця 4.6

Вплив ПП на показники ЦІК за умов хронічного імунокомплексного процесу (M ± m; n = 30).

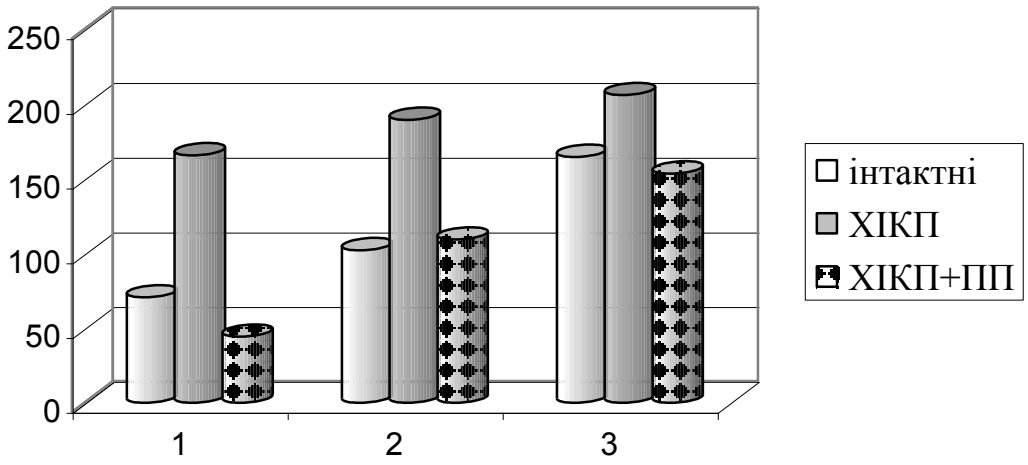
Види ЦІК	Одиниці вимірювання	Показники ЦІК			P_{1-2}	P_{2-3}	P_{1-3}
		Інтактних	Дослідних	Дослідних +ПП			
ЦІК великі	од.опт.густ.	70,50±3,69	165,50±41,69	44,17±6,23	0,05	0,05	0,001
ЦІК середні	од.опт.густ.	102,00±3,89	189,33±14,97	109,17±10,72	0,001	0,001	–
ЦІК малі	од.опт.густ.	164,50±6,17	205,83±34,45	153,33±32,33	–	–	–

Примітка:

P_{1-2} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин;

P_{2-3} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні дослідних та дослідних тварин, що отримували ПП;

P_{1-3} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин, що отримували ПП.



1 – ЦІК великих розмірів;

2 – ЦІК середніх розмірів;

3 – ЦІК малих розмірів.

Рис. 4.9 Динаміка показників ЦІК різних розмірів у дослідних тварин при дії ПП.

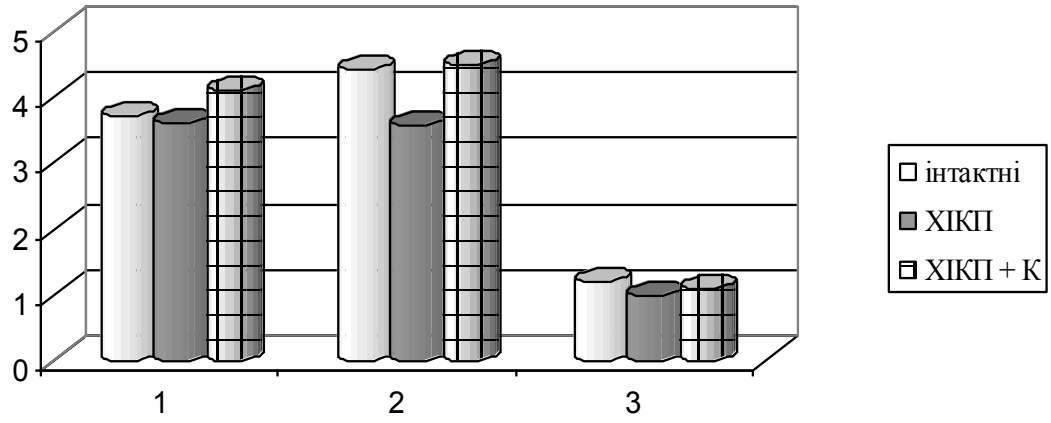
Проведене дослідження показало, що введення ПП у тварин з хронічним імунокомплексним процесом викликає нормалізацію рівня показників ЦІК всіх розмірів.

Одержані результати свідчать, що під впливом плацентарного полібіоліну у тварин з хронічним імунокомплексним процесом відновлюється захоплювальна здатність НФ та знижується активність кисневозалежних та кисневонезалежних ферментативних процесів НФ у порівнянні з ХІКП, що в свою чергу приводить до нормалізації інтеграційних процесів в умовах ХІКП.

4.4. Особливості впливу корвітину на перебіг хронічного імунокомплексного процесу

Оцінка показників прямих механізмів фагоцитозу. Проводячи аналіз динаміки нейтрофілозалежних показників фагоцитозу за умов ХІКП після введення корвітину, спостерігається достовірне зменшення загальної кількості лейкоцитів [16,07±0,35×10^9/л (P<0,001)], порівнянно з ХІКП – 18,93±0,32×10^9/л, а також зменшення абсолютних значень НФ – 3,44±0,06×10^9/л (P<0,05), при 3,83±0,10 ×10^9/л у дослідних тварин (табл. 4.7).

Як видно із табл. 4.7, корвітин відновлює захоплювальну здатність НФ, про це свідчить збільшення кількості НФ, котрі захопили частинки латексу через 120 хв. інкубації – 90,40±1,98% (P<0,05). Зростає також кількість захоплених частинок латексу одним НФ за той самий час – 4,08±0,08 та 4,46±0,16 (P<0,001). Відповідно достовірно зросла швидкість фагоцитозу – 1,09±0,03 (P<0,05) (Рис. 4.10).



1 – фагоцитарний індекс після 20 хв. інкубації з латексом;

2 – фагоцитарний індекс після 120 хв. інкубації з латексом;

3 – коєфіцієнт фагоцитарного індексу.

Рис. 4.10 Вплив К на захоплювальну здатність НФ за умов ХІКП.

Таблиця 4.7

Вплив корвітину на показники фагоцитарної активності нейтрофілів за умов ХІКП (M ± m; n = 28)

Тести дослідження	Одиниці виміру	Показники ФА			P_{1-2}	P_{2-3}	P_{1-3}
		Інтактні	Дослідних	Дослідних+ К			
Заг. кількість лейкоцитів	10^9 /л	12,36±0,46	18,93±0,32	16,07±0,35	0,001	0,001	0,001
Нейтрофіли	% 10^9 /л	22,07±0,49 2,72±0,10	20,29±0,53 3,83±0,10	21,50±0,47 3,44±0,06	– 0,001	– 0,005	– 0,002
ФЧ $_{20\ хв.}$ ФЧ $_{120\ хв.}$	% %	75,80±1,71 80,30±1,68	74,00±2,48 85,10±1,63	78,30±2,22 90,40±1,98	– 0,05	– 0,05	– 0,001
ФІ $_{20\ хв.}$ ФІ $_{120\ хв.}$		3,71±0,06 4,30±0,11	3,60±0,09 3,55±0,13	4,08±0,08 4,46±0,16	– 0,001	0,001 0,001	0,002 –
КФЧ		1,16±0,04	0,99±0,04	1,09±0,03	0,005	0,05	–
МПТ ЦХІ	% 10^9 /л	45,14±3,83 1,22±0,11 0,84±0,06	70,71±4,17 2,76±0,19 1,36±0,10	57,00±3,22 1,98±0,12 1,00±0,06	0,001 0,001 0,001	0,02 0,002 0,005	0,02 0,001 –
НСТ спонт.	% 10^9 /л	11,43±0,64 0,31±0,02	16,50±0,80 0,64±0,04	14,86±0,83 0,52±0,03	0,001 0,001	0,01 0,001	0,001 0,001
НСТ стим.	% 10^9 /л	16,36±0,50 0,44±0,02	18,29±0,93 0,71±0,04	24,36±1,23 0,85±0,05	– 0,001	0,001 0,005	0,001 0,001
ЛКТ ЦХІ	% 10^9 /л	63,29±3,36 1,73±0,13 0,72±0,04	82,64±3,53 3,19±0,15 1,39±0,08	64,43±2,54 2,24±0,09 0,98±0,05	0,001 0,001 0,001	0,001 0,001 0,001	– 0,001 0,001

Примітка:

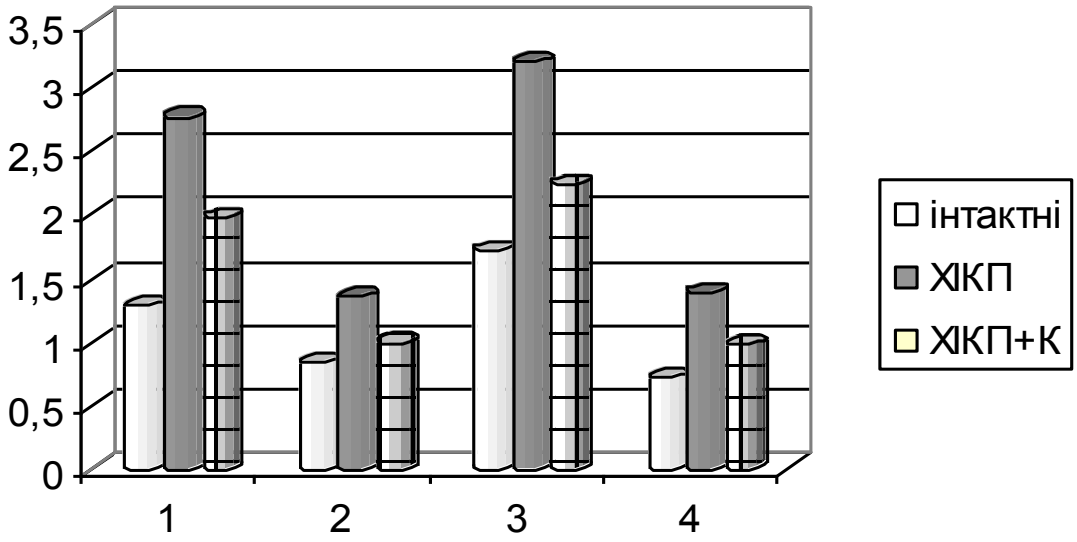
P_{1-2} - вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин;

P_{2-3} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні дослідних та дослідних тварин, що отримували К;

P_{1-3} - вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин, що отримували К.

Аналізуючи показники ферментативних процесів у НФ спостерігаємо зниження активності кисневозалежних процесів у лізосомах нейтрофільних гранулоцитів у відносних – 57,00±3,22% (P<0,05) та абсолютних – 1,98±0,12×10^9/л (P<0,005) значеннях, а також зниження активності всередині кожного НФ – цитохімічний індекс складає – 1,00±0,06 (P<0,001).

Корвітин стабілізує також кисневонезалежні механізми фагоцитозу, про що свідчать показники лізосомально-катіонного тесту – 64,43±2,54% та 2,24±0,09×10^9/л (P<0,001). Зменшується цитохімічний індекс – 0,98±0,05 (P<0,001).



1 – абсолютні показники міелопероксидазного тесту;

2 – цитохімічний індекс міелопероксидазного тесту;

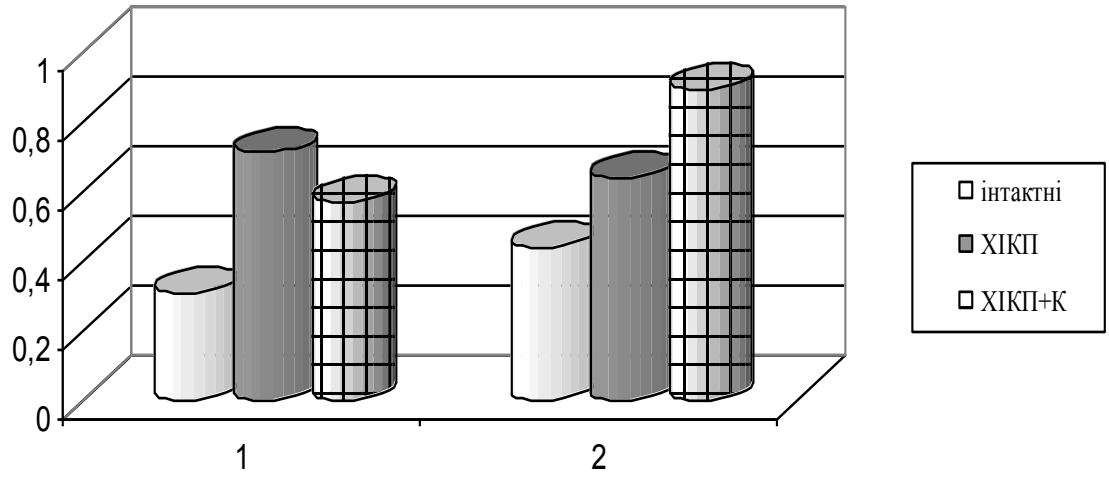
3 – абсолютні показники лізосомально-катіонного тесту;

4 – цитохімічний індекс лізосомально-катіонного тесту;

Рис. 4.11 Вплив корвітину на ферментативну активність НФ за умов ХІКП.

Після введення тваринам з викликаним хронічним імунокомплексним процесом К знижується активність окисно-відновних процесів у цих клітинах

– 14,86±0,83% (P<0,01) у відносних та абсолютних величинах – 0,52±0,03×10^9/л (P<0,001). Тоді як резервна здатність достовірно зростає – 24,36±1,23% та 0,85±0,05×10^9/л (P<0,001).



1 – абсолютні показники спонтанного НСТ-тесту;

2 – абсолютні показники стимульованого НСТ-тесту.

Рис. 4.12 Вплив корвітину на окисно-відновну ферментативну активність НФ за умов ХІКП.

Оцінка показників опосередкованої фагоцитарної активності нейтрофілів. З метою вивчення впливу корвітину на перебіг хронічного імунокомплексного процесу у тварин було проведено дослідження показників опосередкованих механізмів фагоцитарної активності нейтрофільних фагоцитів. Динаміка впливу корвітину на утворення ЦІК, а також активності системи комплементу представлена у табл. 4.8.

Таблиця 4.8

Вплив К на ЦІК та активність комплементу за умов ХІКП (M ± m; n = 28)

Види ЦІК	Одиниці виміру	Показники ЦІК			P_{1-2}	P_{2-3}	P_{1-3}
		Інтактні	Дослідних	Дослідних +К			
ЦІК великі	од.опт.густ.	70,50±3,69	161,50±25,02	92,30±4,06	0,005	0,02	0,01
ЦІК середні	од.опт.густ.	103,00±2,13	189,00±4,99	110,10±3,36	0,001	0,001	–
ЦІК малі	од.опт.густ.	161,50±5,00	200,00±6,06	137,40±7,60	0,001	0,001	0,02
Активність комплементу	гемол. од.CH_{50}	70,96±3,14	60,46±2,65	72,51±5,00	0,05	0,05	–

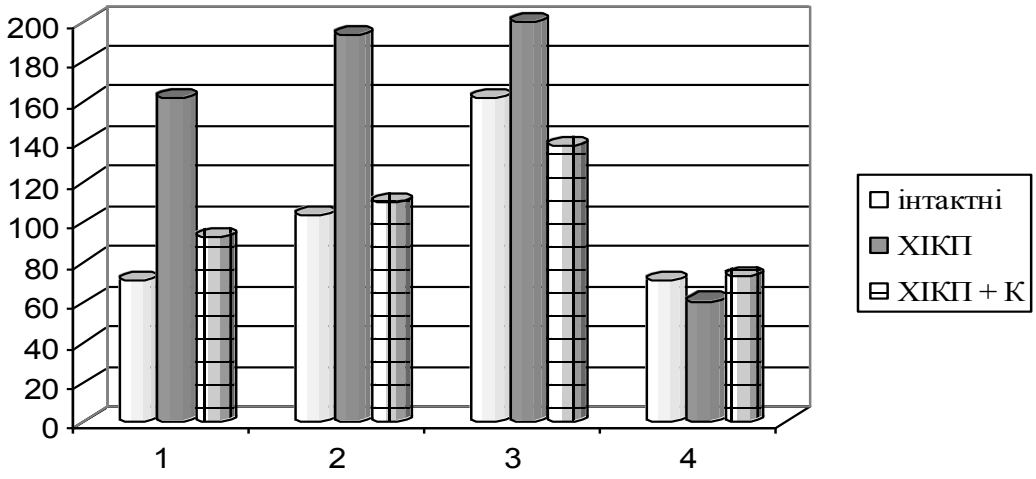
Примітка:

P_{1-2} - вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин;

P_{2-3} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні дослідних та дослідних тварин, що отримували К;

P_{1-3} - вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин, що отримували К.

Як видно з табл. 4.8, під впливом корвітину спостерігається зменшення продукції всіх видів циркулюючих імунних комплексів: так рівень великих ЦІК зменшився до 92,30±4,06 од. опт. густини (P<0,05), рівень середніх ЦІК – 110,10±3,36 од. опт. густини (P<0,001), і наближаються до контрольних цифр. Рівень ЦІК малих розмірів – 137,40±7,60 од. опт. густини (P<0,001) і є меншим від цих показників у контролі. Достовірно знизилась активність системи комплементу, про що свідчить збільшення показників гемолітичної активності комплементу – 72,51±5,00 гемолітичних одиниць CH_{50} (P<0,05) (рис. 4.13).



1 – ЦІК великих розмірів;

2 – ЦІК середніх розмірів;

3 – ЦІК малих розмірів;

4 – активність комплементу.

Рис. 4.13 Динаміка показників ЦІК різних розмірів та гемолітичної активності комплементу дослідних тварин до та після введення корвітину.

Отже, введення К в умовах ХІКП приводить до зменшення продукції патогенних ЦІК, активації процесів захоплення нейтрофілами чужерідних агентів, а також нормалізації кисневозалежних та кисневонезалежних ферментативних процесів всередині клітини, що запобігає руйнівним процесам, котрі виникають при перезбудженні НФ.

Підсумовуючи результати даного розділу можна зробити висновки:

1. ПП за умов ХІКП знижує рівень показників ЦІК великих від 165,50±41,69 до 44,17±6,23 та середніх розмірів від 189,33±14,97 до 109,17±10,72, посилює захоплювальну здатність НФ – від 52,30±2,87% до 62,80±2,11% і нормалізує всі ферментативні процеси в них.
2. Введення К призводить до достовірного зменшення рівня патогенних ЦІК (середніх та малих розмірів) ($P<0,001$), стабілізує нейтрофілозалежні процеси фагоцитозу – швидкість фагоцитозу достовірно зростає від 0,99±0,04 до 1,09±0,03, нормалізуються ферментативні процеси всередині НФ.

Основні наукові положення викладені в статтях:

1. Хронічна гіперімунокомплексемія. Вплив імунотропних препаратів / М.М. Бідюк, В.В. Чоп'як, Л.А.Любінець, О.М. Угрин, В.В. Вовк, Г.П. Никитюк, З.С.Пороховська, М.О.Любінець, С.О. Ямпольська // Фізіологічний журнал. – 1998. – Т. 44, № 4. – С. 57-58 [144].
2. Никитюк Г.П., Бідюк М.М. Вплив кверцетину на фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів при експериментальній імуно-комплексній патології // Клінічна та експериментальна патологія. – 2003. – Т. II, № 1. – С. 47-50 [101].

РОЗДІЛ 5
ХАРАКТЕРИСТИКА ФАГОЦИТАРНИХ ПРОЦЕСІВ IN VITRO В УМОВАХ ІНКУБАЦІЇ НЕЙТРОФІЛІВ З ЕНДОТЕЛІОЦИТАМИ У ІНТАКТНИХ ТВАРИН, ПРИ ХРОНІЧНОМУ ІМУНОКОМПЛЕКСНОМУ ПРОЦЕСІ ТА ВПЛИВ НА ЦІ ПОРУШЕННЯ КОРВІТИНУ

Роль НФ в патогенезі розвитку хронічного імунокомплексного процесу та пошкодженні судинної стінки не викликає сумніву [3, 4, 6, 18, 27, 33, 36, 43, 175, 178]. Під час ХІКП патологічний процес розгортається основним чином в судинах мікроциркуляторного русла: в загальному кровоплині при наявності великої кількості ІК або в судинах деяких органів (нирки, легені, шкіра) [3, 9], де ІК утворюються або накопичуються в результаті фіксації або виділення. ЦІК, які активують Fc- та C3b-рецептори на нейтрофілах, посилюють ферментативні процеси в цих клітинах [145, 160, 199]. Активація Fc- і особливо C3b-рецепторів нейтрофілів призводить до активації лізосомальних ферментів, котрі в свою чергу можуть розщеплювати компонент комплементу С3 [145, 202, 223, 271]. Це призводить до генерації C3b, що забезпечує зчеплення нейтрофілів з циркуюючими імунними комплексами, які фактично є містками між рецепторами та антитілами. Такі конгломерати активно взаємодіють з ендотеліоцитами. При цьому вивільняються лізосомальні ферменти, фібриноген, ендотилін, колаген, що веде до розвитку запального процесу у судинній стінці. Фіксація ІК на рецепторах ендотеліальних клітин викликає їх пошкодження і десквамацію [42,74], що полегшує проникнення ІК в стінки судин і тканини.

Проводячи даний фрагмент роботи, ми ставили собі за мету виявити взаємний вплив клітин ендотелію і нейтрофільних гранулоцитів у інтактних тварин.

5.1. Характеристика нейтрофілоопосередкованих фагоцитарних процесів в умовах інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію у інтактних тварин

Проводячи даний фрагмент роботи, ми ставили собі за мету виявити взаємний вплив клітин ендотелію та нейтрофільних гранулоцитів у інтактних тварин. Дослідження проведене на виділених з крові інтактних тварин НФ та виділених з аорти цих самих тварин клітин ендотелію. Нейтрофіли виділялись із крові за методом Петровой И.В, 1983 [105]. Клітини ендотелію виділялись з допомогою колагенази за методом Eric A. Jaffe, 1978 [217]. Інкубацію проводили при 37^0 С – 60 хвилин у вологій камері з підвищеним вмістом вуглекислого газу. Отримані результати представлені в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Показники фагоцитарної активності нейтрофілів у інтактних тварин після інкубації їх з клітинами ендотелію і без них (M ± m; n = 28)

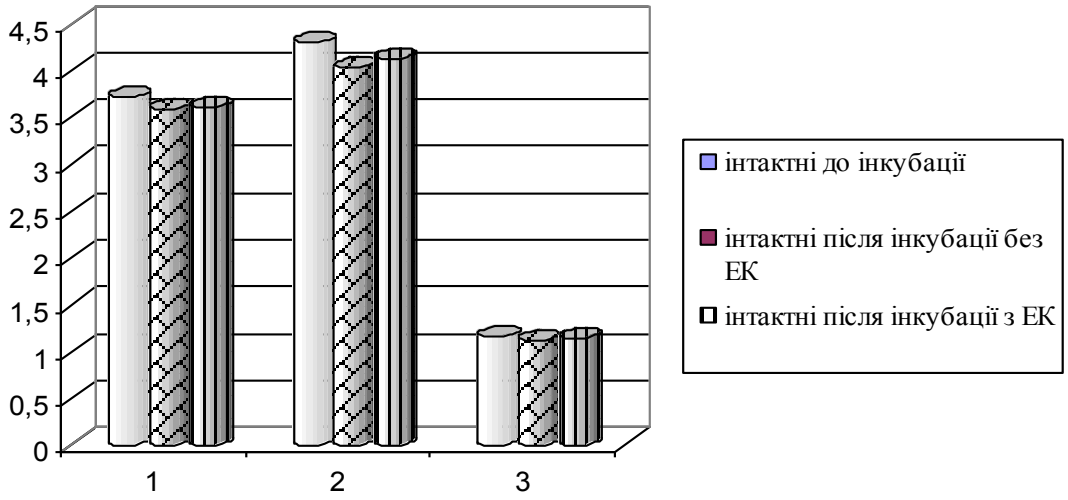
Тести дослідженя	Одиниці виміру	Показники ФА		P
		Інтактні після інкубації	Інтактні після інкубації з ЕК	
ФЧ 20 хв 120 хв	% %	76,20±2,30 79,70±2,26	87,20±2,42 89,30±2,83	0,005 0,02
ФІ 20 хв 120 хв		3,59±0,12 4,03±0,18	3,61±0,12 4,13±0,20	– –
КФІ		1,12±0,05	1,15±0,05	–
МПТ ЦХІ	%	48,21±3,97 0,81±0,07	57,14±3,71 1,03±0,05	0,05 0,05
НСТ сп.	%	11,14±0,63	12,50±0,84	–
НСТ ст.	%	14,86±1,07	18,57±0,82	0,01
ЛКТ ЦХІ	%	57,36±2,65 0,73±0,06	56,29±2,45 0,92±0,04	– 0,01

Примітка:

P – вірогідність різниці показників у порівнянні з даними контрольної групи.

В результаті проведених досліджень встановлені певні закономірності впливу клітин ендотелію на функціональний стан поліморфноядерних лейкоцитів у інтактних тварин.

Після інкубації НФ з ЕК активуються процеси захоплення – 87,20±2,42% через 20 хв. (P<0,005), і 89,30±2,83% через 120 хв. (P<0,05) порівняно з показниками захоплювальної здатності НФ після інкубації без ЕК. Кількість захоплених частинок латексу одним НФ, та швидкість фагоцитозу достовірно не змінюється. Очевидно при контакті з ендотеліальними клітинами на НФ активуються Fc- та C3b-рецептори [145, 160, 199], тому зростає кількість активних клітин.



1 – показники ФІ через 20 хв. інкубації з латексом;

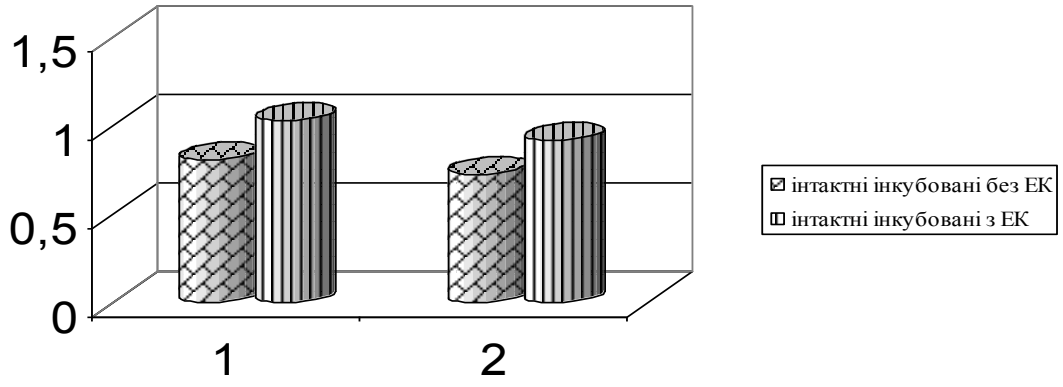
2 – показники ФІ через 120 хв. інкубації з латексом;

3 – коєфіцієнт фагоцитарного індексу.

Рис. 5.1 Динаміка показників захоплювальної здатності НФ інтактних тварин в умовах інкубації їх з клітинами ендотелію.

Кисневозалежні ферментативні процеси активуються порівняно з контролем: так показники МПТ складають – 57,14±3,41% (P<0,05), збільшується цитохімічний індекс – 1,03±0,05 (P<0,05), це свідчить про те,

що під час контакту НФ з ЕК активуються Fc- та C3b-рецептори на НФ, а це в свою чергу приводить до активації лізосомальних ферментів (рис. 5.2).

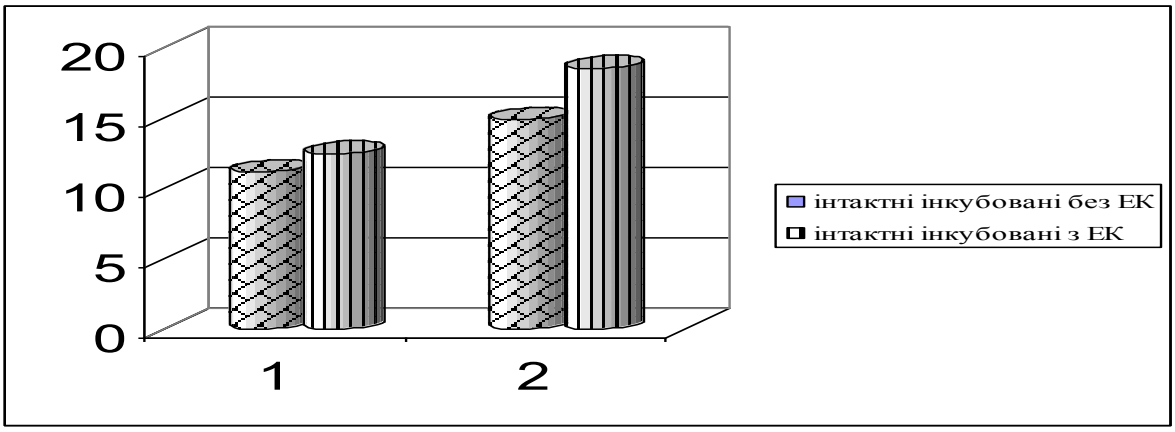


1 – показники МП-тесту;

2 – показники ЛК-тесту.

Рис. 5.2 Динаміка показників ферментативної активності НФ в умовах інкубації з клітинами ендотелію.

Показники спонтанного НСТ-тесту не змінюються – 12,50±0,84% при контролі – 11,14±0,63%, та резервна можливість окисно-відновних процесів зростає – 18,57±0,82% ($P<0,01$), тобто при додатковому стимулі окисно-відновні процеси в лізосомах НФ активуються (рис. 5.3).



1 – показники спонтанного НСТ-тесту;

2 – показники стимульованого НСТ-тесту;

Рис. 5.3 Динаміка показників окисно-відновної ферментативної активності НФ в умовах інкубації з клітинами ендотелію.

Показники лізосомально – катіонного тесту достовірно не змінюються, хоча активність всередині однієї клітини зростає – 0,92±0,04 (P<0,01). Це свідчить про те, що після контакту нейтрофілів з клітинами ендотелію, кисневонезалежні процеси в лізосомах НФ активуються, хоча кількість активних клітин не змінюється.

Після проведеного аналізу результатів даного дослідження можна зробити висновок, що клітини ендотелію при безпосередньому впливі на НФ, мають активуючий вплив на останні.

5.2. Характеристика впливу корвітину на нейтрофілопосередковані процеси фагоцитозу в умовах інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію інтактних тварин

Проводячи даний фрагмент роботи, ми ставили перед собою мету дослідити показники активності нейтрофілів виділених з крові інтактних тварин після введення корвітину та інкубованих з клітинами ендотелію цих самих щурів. Клітини були виділені аналогічним способом як у попередньому розділі.

У результаті проведених досліджень встановлені певні закономірності впливу ендотеліоцитів на нейтрофільні гранулоцити в інтактних тварин після введення корвітину (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

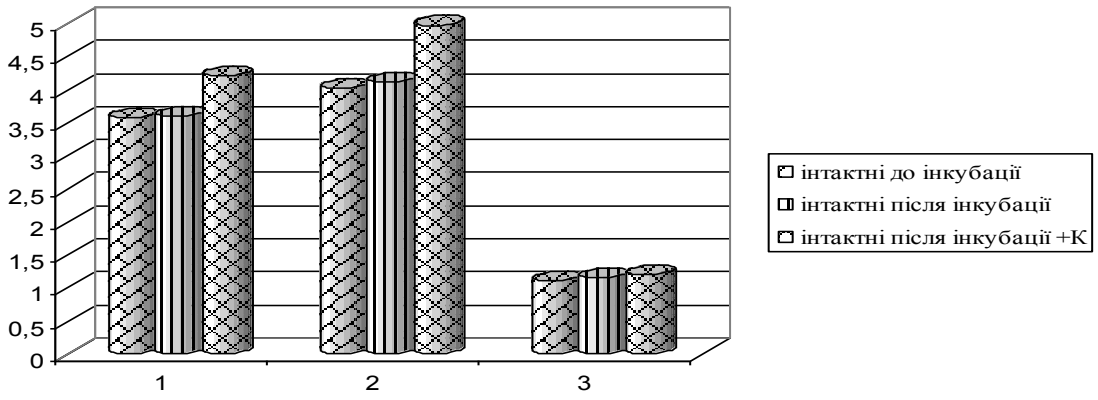
Показники фагоцитарної активності нейтрофілів у інтактних тварин після інкубації їх з клітинами ендотелію та під впливом К (M ± m; n = 28)

Тести дослідження	Одиниці виміру	Показники ФА		P
		Інтактні після інкубації	Інтактні після інкубації + К	
ФЧ 20 хв 120 хв	% %	87,20±2,42 89,30±2,83	91,90±2,62 94,00±2,01	– –
ФІ 20 хв 120 хв		3,61±0,12 4,13±0,20	4,21±0,18 4,98±0,13	0,01 0,005
КФЧ		1,15±0,05	1,20±0,05	–
МПТ ЦХІ	%	57,14±3,03 1,03±0,05	57,57±3,13 1,04±0,06	– –
НСТ спонт.	%	12,50±0,84	11,14±0,56	–
НСТ стим.	%	18,57±0,82	19,79±0,53	–
ЛКТ ЦХІ	%	56,29±2,45 0,92±0,06	46,50±2,20 0,80±0,05	0,01 –

Примітка:

Р – вірогідність різниці показників у порівнянні з даними контрольної групи після інкубації з клітинами ендотелію.

Як видно з табл. 5.2, у тварин після введення корвітину число фагоцитних нейтрофілів не змінюється. Хоча збільшується кількість захоплених частинок латексу одним НФ після 20 хв. інкубації з частинками латексу – 4,21±0,18 (P<0,01), та через 120 хв. – 4,98±0,13 (P<0,005), але швидкість фагоцитозу не змінюється – 1,20±0,05. Це свідчить про те, що під впливом корвітину активуються рецептори на НФ, що спричинює збільшенню кількості захоплених частинок.



1 – ФІ після 20 хв. інкубації з частинками латексу;

2 – ФІ після 120 хв. інкубації з частинками латексу;

3 – коєфіцієнт фагоцитарного індексу.

Рис. 5.4 Вплив корвітину на захоплювальну здатність нейтрофільних гранулоцитів інтактних тварин.

Як видно з рисунку 5.4, кількість захоплених частинок під впливом корвітину зростає не тільки порівняно з нейтрофілами інтактних тварин в умовах інкубації їх з клітинами ендотелію, але і у порівнянні з НФ інтактних тварин в умовах інкубації без клітин ендотелію.

Стабілізуюче впливає корвітин на кисневонезалежні ферментативні процеси. Так показники лізосомально-катіонного тесту достовірно знижуються – 46,50±2,20% порівняно з НФ інтактних тварин після інкубації їх з клітинами ендотелію – 56,29±2,45%, а також у порівнянні з НФ інтактних тварин після інкубації без клітин ендотелію – 57,36±2,65% ($P<0,01$).

Кисневозалежні ферментативні процеси в умовах інкубації після введення К не відрізняються від показників міелопероксидазного тесту до введення корвітину – 1,04±0,06 ($P>0,05$).

На окисно-відновні властивості лізосом НФ введення корвітину не позначилося ($P>0,05$).

Отже проведені дослідження дозволяють зробити висновок, що введення корвітину в умовах інкубації НФ з ЕК підвищує захоплювальну здатність НФ, а також коригує ферментативні процеси у лізосомах цих клітин.

5.3. Характеристика нейтрофілопосередкованих фагоцитарних процесів в умовах інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію у тварин з хронічним імунокомплексним процесом

Проводячи даний фрагмент роботи, ми ставили перед собою мету дослідити показники фагоцитарної активності нейтрофілів виділених з крові тварин з хронічним імунокомплексним процесом та інкубованих з клітинами ендотелію цих самих тварин.

Таблиця 5.3

Показники фагоцитарної активності нейтрофілів за умов ХІКП після інкубації НФ з ЕК (M ± m; n = 28)

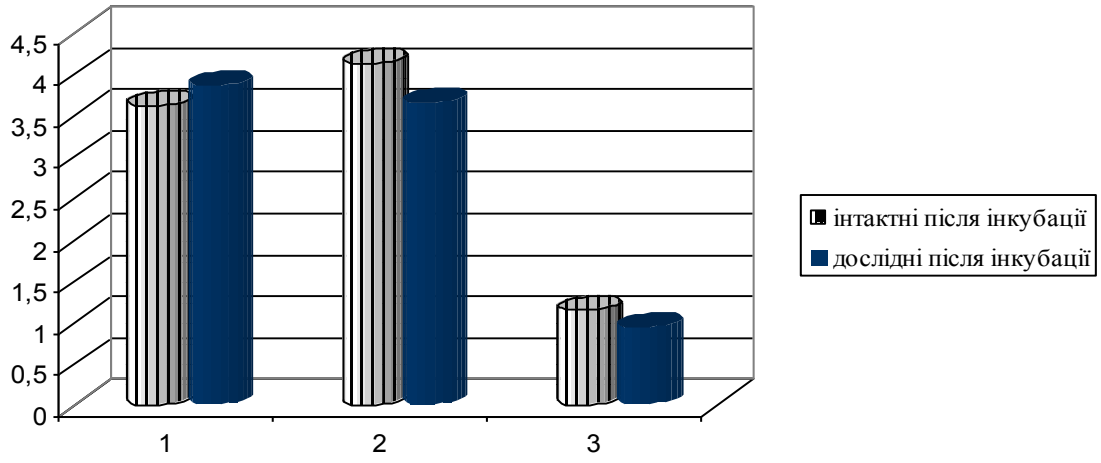
Тести дослідження	Одиниці виміру	Показники ФА		P
		Інтактних	Дослідних	
ФЧ 20 хв 120 хв	% %	87,20±2,42 89,30±2,83	79,70±3,32 80,00±3,47	– 0,05
ФІ 20 хв 120 хв		3,61±0,12 4,13±0,20	3,85±0,15 3,63±0,17	– –
КФЧ		1,15±0,05	0,94±0,03	0,005
МПТ ЦХІ	%	57,14±3,71 1,02±0,06	76,43±3,80 1,41±0,04	0,001 0,001
НСТ сп.	%	12,50±0,84	19,93±1,02	0,001
НСТ ст.	%	18,57±0,82	20,50±1,77	–
ЛКТ ЦХІ	%	56,29±2,45 0,92±0,06	85,14±3,08 1,57±0,07	0,001 0,001

Примітка:

P – вірогідність різниці показників у порівнянні з даними контрольної групи.

При вивченні нейтрофілозалежних механізмів фагоцитозу під час інкубації НФ з ЕК в процесі хронічної імунокомплексної патології встановлено, що захоплювальна здатність НФ знижується (табл. 5.3).

Як видно з таблиці 5.3, зменшується процентний вміст НФ здатних до фагоцитозу – 80,00±3,47% через 120 хв. інкубації з частинками латексу порівняно з контрольними – 89,30±2,83% (P<0,05). Знижується швидкість фагоцитозу – 0,98±0,05 (P<0,001). Це свідчить про порушення міжклітинних взаємодій у відношенні притягання НФ у вогнище запалення [75].



1 – фагоцитарний індекс після 20 хв. інкубації з латексом;

2 – фагоцитарний індекс після 120 хв. інкубації з латексом;

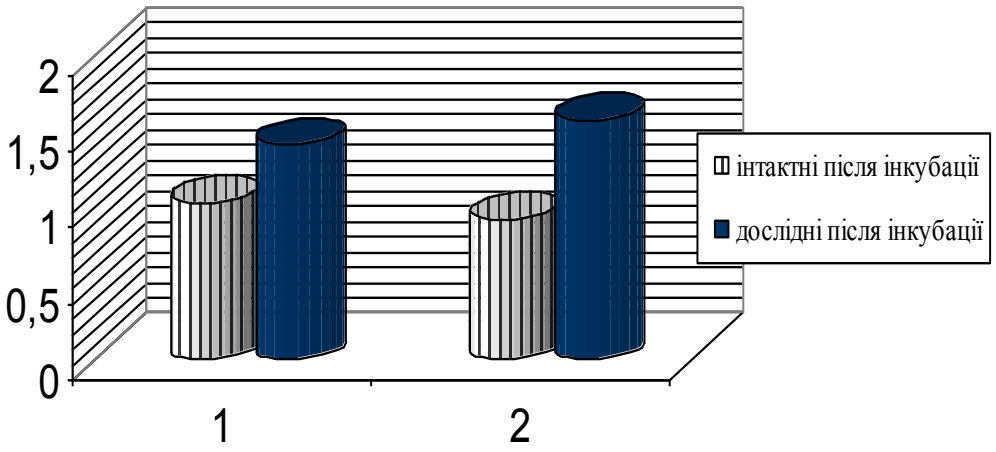
3 – коєфіцієнт фагоцитарного індексу.

Рис. 5.5 Динаміка показників захоплювальної здатності нейтрофільних гранулоцитів в умовах хронічного імунокомплексного процесу.

Як видно з таблиці 5.3, під час хронічного імунокомплексного процесу в умовах інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію ферментативні процеси в лізосомах НФ активуються. Зокрема показники кисневозалежних ферментативних процесів зросли як у відносних значеннях – 76,43±3,80 % так і всередині одного НФ (рис. 5.5) – 1,41±0,04 порівняно з контрольними показниками (відповідно 57,14±3,71 % та 1,02±0,06). При стимуляції НФ активуються оксидази плазматичної мембрани, котрі

запускають серію метаболічних реакцій, що характеризуються як “респіраторний вибух”. Цей термін відображує швидку зміну метаболізму НФ з активацією внутрішньоклітинної міелопероксидази і генерацією активних форм кисню. Володіючи вираженою бактерицидною дією активні форми кисню виконують захисну функцію, але вони дуже токсичні також для мітохондрій ЕК і колагенових волокон [251].

Зростають також показники кисневонезалежних ферментативних процесів – 85,14±3,08 % при контролі 56,29±2,45 % (P<0,001), та активність гранул в одному НФ – 1,57±0,07 при контролі – 0,92±0,06 (P<0,001) (рис. 5.6).

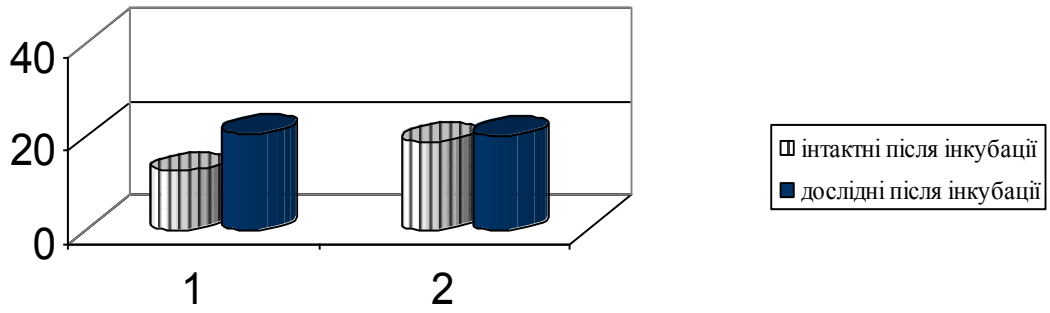


1 – показники ЦХІ міелопероксидазного тесту;

2 – показники ЦХІ лізосомально-катіонного тесту.

Рис. 5.6 Динаміка активності ферментативних процесів всередині одного нейтрофіла за умов хронічного імунокомплексного процесу.

При дослідженні здатності НФ відновлювати нітросиній тетразолій спостерігаємо збільшення показників окисно-відновної здатності лізосом НФ – 19.93±1,02 % порівняно з контрольними показниками – 12,50±0,84 %. В цей же час резервна можливість окисно-відновних процесів вірогідно не змінюється – 20.50±1,77 % при контролі 18,57±0,82 % (рис. 5.7).



1 – показники спонтанного НСТ-тесту;

2 – показники стимульованого НСТ-тесту.

Рис. 5.7 Динаміка показників окисно-відновної здатності лізосом нейтрофілів за умов хронічного імунокомплексного процесу.

Проводячи аналіз показників фагоцитарної активності нейтрофілів за умов інкубації НФ з ЕК при хронічному імунокомплексному процесі можна зробити наступний висновок. В цих умовах зменшується процентний вміст НФ здатних до фагоцитозу, а також кількість захоплених частинок одним НФ, відповідно знижується швидкість фагоцитозу. Активуються кисневозалежні та кисневонезалежні ферментативні процеси в лізосомах нейтрофілів.

5.4. Особливості впливу корвітину на нейтрофілопосередковані процеси фагоцитозу в умовах інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію при хронічному імунокомплексному процесі

Проводячи даний фрагмент роботи, ми ставили перед собою мету дослідити показники фагоцитарної активності нейтрофілів виділених з крові тварин з хронічним імунокомплексним процесом після десятиденного введення корвітину та інкубованих з клітинами ендотелію цих самих тварин. Клітини були виділені аналогічним способом як у попередньому розділі.

Таблиця 5.4

Вплив корвітину на показники фагоцитарної активності нейтрофілів за умов ХІКП (M ± m; n = 28)

Тести дослідження	Одиниці виміру	Показники ФА			P_{1-2}	P_{2-3}	P_{1-3}
		Інтактні	Дослідні	Дослідні + К			
ФЧ 20 хв	%	87,20±2,42	79,70±3,32	87,20±2,93	–	–	–
120 хв	%	89,30±2,83	80,00±3,47	91,40±2,28	0,05	0,01	–
ФІ 20 хв		3,61±0,12	3,85±0,15	4,32±0,11	–	0,02	0,001
120 хв		4,13±0,20	3,63±0,17	5,07±0,27	–	0,001	0,01
КФЧ		1,15±0,05	0,94±0,03	1,18±0,07	0,005	0,01	–
МПТ	%	57,14±3,71	76,43±3,80	66,14±2,36	0,001	0,05	0,001
ЦХІ		1,03±0,05	1,41±0,04	1,21±0,07	0,001	0,05	0,01
НСТ сп.	%	12,50±0,84	19,93±1,02	11,79±0,64	0,001	0,001	–
НСТ ст.	%	18,57±0,82	20,50±1,77	25,21±2,40	–	0,05	0,01
ЛКТ	%	56,29±2,45	85,14±3,08	73,14±2,33	0,001	0,005	0,001
ЦХІ		0,92±0,04	1,57±0,07	1,06±0,05	0,001	0,001	–

Примітка:

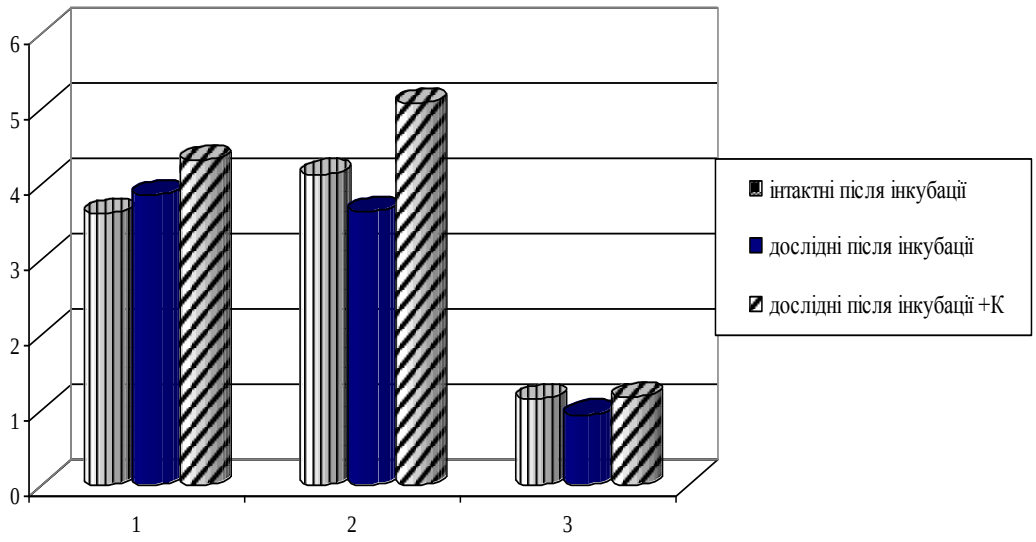
P_{1-2} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин;

P_{2-3} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні дослідних та дослідних тварин, що отримували К;

P_{1-3} – вірогідність різниці досліджуваних показників у порівнянні інтактних та дослідних тварин, що отримували К.

У результаті проведених досліджень встановлені певні закономірності впливу ендотеліоцитів на нейтрофільні гранулоцити в тварин з ХІКП після введення корвітину (табл. 5.4 і рис. 5.8)

У тварин після введення К достовірно зростає кількість фагоцитних нейтрофілів, особливо «пізнього» ФЧ – 91,40±2,28 % (P<0,01). Збільшується також кількість захоплених частинок латексу одним НФ через 120 хв – 5,07±0,27 (P<0,001). Швидкість фагоцитозу достовірно зростає – 1,18±0,07 при дослідних – 0,94±0,03 (рис. 5.8).



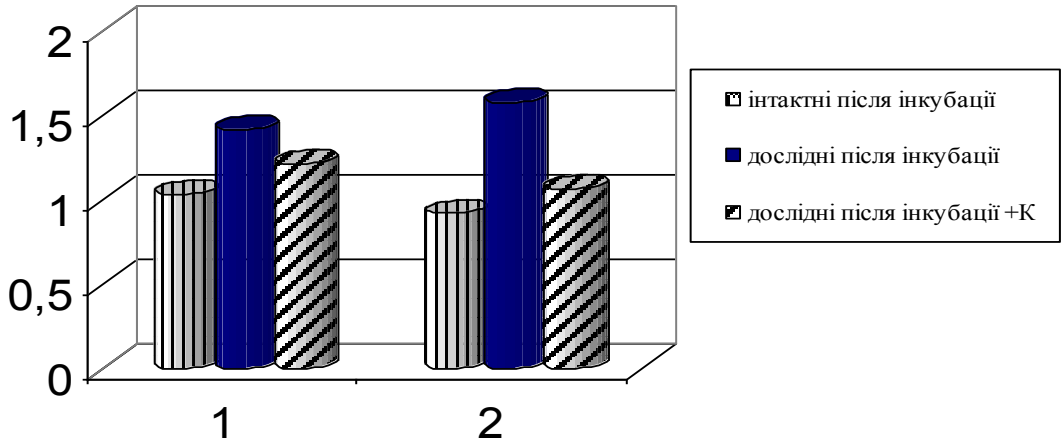
1 – фагоцитарний індекс після 20 хв. інкубації з латексом;

2 – фагоцитарний індекс після 120 хв. інкубації з латексом;

3 – коєфіцієнт фагоцитарного індексу.

Рис. 5.8 Динаміка показників захоплювальної здатності НФ в умовах ХІКП після введення корвітину.

Стабілізуюче впливає К на кисневонезалежні ферментативні процеси, так показники ЛК-тесту достовірно знижуються – 73,14±2,33 % порівняно з НФ дослідних тварин після інкубації їх з ЕК – 85,14±3,08 % (P<0,001). Також знижується активність всередині кожного НФ, про що свідчить цитохімічний індекс – 1,06±0,05 (P<0,001) у НФ після введення К, порівняно з НФ дослідних тварин в умовах інкубації з ЕК (рис. 5.9).



1 – показники ЦХІ міелопероксидазного тесту;

2 – показники ЦХІ лізосомально-катіонного тесту.

Рис. 5.9 Динаміка активності ферментативних процесів всередині одного нейтрофіла в умовах ХІКП після введення К.

Кисневозалежні ферментативні процеси після введення корвітину – 66,14±2,36 % достовірно нижчі за показники дослідних тварин (рис. 5.9). Знижується також цитохімічний індекс – 1,21±0,07 (P< 0,05).

На окисно-відновні властивості лізосом НФ введення К позначилося зниженням – 11,79±0,64 % і наближенням до показників НСТ-тесту у інтактних тварин після інкубації без ЕК, збільшуючи одночасно їх резервну можливість до 25,21±2,40 %.

Підсумовуючи результати даного розділу можна зробити висновки:

1. Під час інкубації НФ з ЕК за умов ХІКП зменшується процентний вміст нейтрофілів, здатних до фагоцитозу від 89,30±2,83% до 80,00±3,47% (P<0,05), і кількість захоплених частинок одним НФ, відповідно знижується швидкість фагоцитозу від 1,15±0,05 до 0,94±0,03 (P<0,005). Одночасно активуються всі ферментативні процеси в лізосомах НФ.

2. Застосування корвітину достовірно підвищує фагоцитарну активність НФ – зростає процентний вміст нейтрофілів, здатних до фагоцитозу від 80,00±3,47 до 91,40±2,28, кількість захоплених частинок одним НФ ($P<0,001$), відповідно швидкість фагоцитозу зростає від 0,94±0,03 до 1,18±0,07, а також нормалізує всі ферментативні процеси в них.

Основні наукові положення викладені в статті:

1. Никитюк Г.П., Бідюк М.М., Угрин О.М. Характеристика фагоцитарних процесів в умовах інкубації нейтрофілів з ендотеліоцитами у тварин з хронічним імунокомплексним процесом // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. III, № 2. – С.357-358 [103].

РОЗДІЛ 6
МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙТРОФІЛІВ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО ІМУНОКОМПЛЕКСНОГО ПРОЦЕСУ ТА ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ КОРВІТИНУ

Електронно-мікроскопічне дослідження проводилося з метою виявлення характеру активації чи ушкодження нейтрофільних гранулоцитів викликаного активацією каскаду імунопатологічних механізмів у відповідь на довготривале антигенне навантаження, та проведення оцінки ступеню морфологічних змін цих клітин після введення корвітину. Хронічна сироваткова хвороба характеризується активацією НФ під впливом ЦІК та системи комплементу. Це свідчить про те, що НФ перші відповідають на вторгнення чужерідних агентів, щоб знешкодити їх, а також сприяє переводу цих АГ в імуногенну форму [139]. Знищення чужерідних частинок проходить шляхом дії кисневозалежного та кисневонезалежного механізмів бактерицидного захисту.

Електронно-мікроскопічне дослідження проводилося одномоментно з вивченням нейтрофілозалежних механізмів фагоцитозу, що дозволило провести паралель між ступенем змін та активацією клітин.

Як видно на рис. 6.1, у інтактних тварин сегментоядерний нейтрофіл у неактивованому стані. Ядро – типової мультилобарної конфігурації з гетерохроматином, розташованим по периферії нуклеоплазми, та еухроматином, локалізованим в центральних зонах. В цитоплазмі визначаються кілька специфічних гранул та більш електронно-щільних азурофільних гранул (лізосом). В ділянці, що прилягає до ядерної мембрани – фаголізосома з наявними фагоцитованими фрагментами в порожнині. Про неактивний стан свідчить практично повна відсутність лізосом в цитоплазматичному матриксі.

Рис. 6.1 Сегментоядерний нейтрофіл інтактних тварин.

Циркулюючі в крові НФ містять в своїй цитоплазмі від кількох сотень до тисяч різноманітних за своїми морфофункціональними властивостями гранул [62, 63]. Азурофільні гранули, або первинні лізосоми НФ містять ті ж гідролітичні ферменти, що і інші клітини. Однак для них характерний і ряд особливостей, що визначають антимікробні та антитоксичні можливості нейтрофільних лейкоцитів. В них міститься мієлопероксидаза, і тому ці гранули ще називають пероксидазо - вміщуючими. Мієлопероксидаза визначає наявність в НФ кілька мієлопероксидазозалежних антимікробних систем. З азурофільними гранулами пов’язують функціонування таких антимікробних систем, як НАД-Н2 та НАДФ-Н2 - оксидазні, аскорбатна, катіонні білки. Специфічні (вторинні) гранули містять лужну фосфатазу, лактоферин, лізоцим, ряд неферментних катіонних білків, колагеназу, протеїни, що зв'язують вітамін

B_{12}. Ці біологічно активні речовини також беруть безпосередню участь в основних біологічних функціях НФ [62].

Рис. 6.2 Вплив корвітину на стан сегментоядерного нейтрофіла інтактних тварин.

На електронограмі клітин виділених із групи тварин, що отримували внутрішньоочеревинно розчин корвітину ми бачимо НФ в активованому стані (рис. 6.2). Ядро – типової мультилобарної конфігурації з гетерохроматином, розташованим по периферії нуклеоплазми, та еухроматином, локалізованим в центральних зонах. Ділянки еухроматину більші за об'ємом у порівнянні із клітинами, виділеними із контрольної групи. В нейтрофілі інвагінати ядерної мембрани. В цитоплазмі визначається велика кількість електронно-щільних азурофільних гранул (лізосом), виявляються поодинокі специфічні гранули, мітохондрії.

Про активний стан клітини свідчить наявність великої кількості лізосом (азурофільних гранул) в цитоплазматичному матриксі.

Рис. 6.3 Сегментоядерний нейтрофіл в умовах хронічного імунокомплексного процесу.

На електронограмі клітин виділених із групи тварин із змодельованим хронічним імунокомплексним процесом НФ в активованому стані (рис. 6.3). Ядро – типової мультилобарної конфігурації з гетерохроматином, розташованим по периферії нуклеоплазми, та еухроматином, локалізованим в центральних зонах. Ділянки еухроматину значно більші за об’ємом порівняно із клітинами виділеними із контрольної групи тварин, та інтактних тварин, котрим вводили К. В цитоплазмі визначається велика кількість електронно-щільних азурофільних гранул (лізосом), поодинокі специфічні гранули, а також множинні фаголізосоми з наявністю фагоцитованих фрагментів в порожнині, чого не спостерігається у клітинах тварин, котрим вводили корвітин.

Нейтрофільні гранулоцити оточені тромбоцитами та тяжами фібрину (рис. 6.4).

Рис. 6.4 Сегментоядерний нейтрофіл в умовах хронічного імуно-комплексного процесу.

У нормі нейтрофіли швидко покидають судинне русло не використавши своїх потенційних можливостей. Але коли вони зустрічаються з агентами, що змушують клітину змінювати свій фізіологічний стереотип, то відразу активуються. Піддаючись активації, нейтрофіл перетворюється не тільки в могутній інструмент знешкодження шкідливих агентів, але стає небезпечним і для нормальних тканин, особливо в тих випадках, коли пусковий фактор не може бути елімінований малими силами, вимагаючи підключення значного числа клітин-ефекторів [86, 88, 89].

При стимуляції НФ активуються оксидази плазматичної мембрани, котрі запускають серію метаболічних реакцій, що характеризуються як “респіраторний вибух”. Цей термін відображує швидку зміну метаболізму

НФ з активацією внутрішньоклітинної міелопероксидази і генерацією активних форм кисню. Володіючи вираженою бактерицидною дією активні форми кисню виконують захисну функцію, але вони дуже токсичні також для мітохондрій ЕК і колагенових волокон [251].

Рис. 6.5 Вплив корвітину на сегметоядерний нейтрофіл у тварин з ХІКП.

На електронограмі клітин виділених із групи тварин із змодельованим хронічним імунокомплексним процесом, що отримували розчин корвітину, НФ в активованому стані (рис 6.5). Ядро – типової мультилобарної конфігурації з гетерохроматином, розташованим по периферії нуклеоплазми, та еухроматином, локалізованим в центральних зонах. Ділянки еухроматину менші за об’ємом порівняно із клітинами виділеними із дослідної групи, та інтактних тварин, що отримували К. В цитоплазмі визначається менша кількість електронно-щільних азурофільних гранул (лізосом), виявляються поодинокі специфічні гранули, а також поодинокі фаголізосоми із наявністю

фагоцитованих фрагментів у порожнині. Нейтрофільні гранулоцити з менш вираженими проявами активності.

Основні зміни свідчать про активацію НФ в умовах ХІКП, що підтверджує наші дослідження кисневозалежної та кисневонезалежної ферментативної активності фагоцитів, і коригуючого впливу корвітину на ферментативні процеси в нейтрофілах у тварин з ХІКП, що запобігає руйнівним процесам, котрі виникають при перезбуджені НФ.

Підсумовуючи результати даного розділу можна зробити висновок:

1. За умов хронічного імунокомплексного процесу методом електронної мікроскопії виявлені структурні зміни в ядрі та кількісні гранул нейтрофільних гранулоцитів, які корелюють з показниками ферментативної активності фагоцитів і свідчать про їх активацію.

РОЗДІЛ 7
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У останній час відмічається підвищений інтерес до вивчення загальних закономірностей і неспецифічних механізмів захисту при виникненні імунокомплексних процесів. При імунокомплексному захворюванні патологічний процес розгортається основним чином в судинах мікроциркуляторного русла: в загальному кровоплині при наявності великої кількості ІК або в судинах деяких органів (нирки, легені, шкіра і т.) [3, 6, 21, 28, 32, 211, 219], де ІК утворюються або накопичуються в результаті фіксації або виділення. Фіксація ІК на рецепторах ендотеліальних клітин викликає їх пошкодження і десквамацію [38, 89, 189, 219, 220]. Це полегшує проникнення ІК в стінки судин і тканини.

Аналіз літературного матеріалу дозволяє виділити декілька взаємопов'язаних причин, котрі можуть спричинити розвиток імунокомплексного процесу: якісні особливості ІК, пов'язані з властивостями антигенів і гентично детермінованими особливостями імунної відповіді, і зниженням функціональної активності фагоцитів [6, 39, 69, 127, 262, 274].

Властивостями антитіл визначається і інша особливість ІК – здатність активувати систему комплементу і взаємодіяти з клітинними рецепторами [20, 70, 126, 133, 167]. В роботах C. Nielsen було показано, що комплемент відіграє важливу роль в імунокомплексній генерації респіраторного вибуху і вивільнені специфічних гранул ПМЯЛ [263]. Роботи Коваль С.Б. та співавт. показують, що Fc-рецептори і комплементарні рецептори нейтрофілів задіяні у зв'язуванні розчинних ІК і специфічної дегрануляції [62, 63]. Frohlich D. визначив, що Fc-опосередкований респіраторний вибух нейтрофілів спрямований до ендотеліоцитів [199].

Нейтрофільні гранулоцити у відповідь на дію ІК виділяють ферменти лізосом і бактерицидні білки в довколишнє середовище [2, 21, 62, 70, 127,

274]. В роботах Gamberale R. показано, що ІК здатні модулювати апоптоз нейтрофілів [233]. З дією біологічно активних речовин пов'язано порушення тонусу судин мікроциркуляторного русла, а потім дистрофічними і некротичними процесами в судинній стінці [63, 192, 219, 233, 251, 264].

Характер нейтрофільних реакцій пояснюється ефекторним зарядом нейтрофілів. Важливо, що вони займають одну з самих активних позицій в системі гуморально-клітинної кооперації і є високореактивною мішенню для похідних комплементу і інших ферментних систем плазми, цитокінів, фосфоліпідних метаболітів, імуноглобулінів, білків гострої фази і ін. [3, 6, 82, 90]. Це є гарантом підключення важливого гомеостатичного механізму, котрий, гіпертрофуючись, приймає патогенетичний характер [82, 87, 108, 112, 121, 126, 129].

В роботах І.І.Долгушина і А.В.Зурочки показано, що нейтрофіл виступає в ролі регулюючої клітини, при взаємодії в системі нейтрофіл-імуноцит [42, 43]. Так, наприклад, при штучній нейтропенії знижується активність природних кілерів, супроводжується розвитком імунодефіцитних станів [42]. Важливе значення для поняття регулятивної ролі нейтрорфілів мають небагаточисленні, але переконливі дані про їх здатність представляти антиген лімфоцитам. І.І.Долгушин і співавт., а також А.В.Зурочкою [42, 43] із супернатантів нейтрофілів людини виділені пептидні фактори, що мають імунотропну активність. Вони впливають на локомоторну, лізосомальну і фагоцитарну активність, кисневозалежний метаболізм нейтрофілів, моноцитів і макрофагів in vitro і in vivo [2, 42]. Крім того імуностимулюючі фракції мали нейротропну та атопротективну активність [4, 174], стимулювали процеси тканинної репарації, кістковомозкове кровотворення і впливали на агрегацію тромбоцитів [63, 174, 176].

Не буде перебільшенням сказати, що ключовою подією в реалізації патогенетичних ресурсів нейтрофіла служить взаємодія з ендотелієм [9, 22, 77, 131, 166, 176, 181]. Вона починається з адгезії на ендотеліоцитах і

закінчується виходом клітин з циркуляторного русла. Цей процес, котрий здійснюється головним чином через посткапілярні венули, є фізіологічним; міграція лейкоцитів з мікроциркуляторного русла, що підтримується припливом клітин із кроветворних центрів, постійно проходить в нормальних умовах [43] При пошкодженні нейтрофіли перші концентруються в зоні дестабілізації гомеостазу (феномен крайового стояння) і проникаючи через стінку судин, виходять в екстравазальний простір [62, 77, 80, 89]. Реакція відрізняється від фізіологічного діапедезу: вона носить масовий характер (в зоні виходу скопичується значна кількість нейтрофілів); мігруючі клітини піддаються активації, секретуючи комплекс ефекторних молекул, про котрий ми згадували вище. Саме збіг цих факторів визначає деструктивний відтінок аварійної еміграції нейтрофілів у вогнище запалення [87, 91, 164]. Її з самого початку супроводжує пошкодження ендотеліоцитів і базальної мембрани.

Розміщення ендотелію між кров'ю і підлежачими структурами судинної стінки визначає його унікальність та стратегічну важливість позиції, що він займає [35, 210, 267]. На дію подразників Е відповідає вивільненням біологічно активних речовин, зміною структури, функції і метаболізму, що відображається не тільки на життєдіяльності судинної стінки, але і стані багатьох функціональних систем організму [17, 35, 117, 123, 267].В ендотеліальних клітинах знаходиться стандартний для клітин набір органел і специфічні гранули – тільця Вейбеля-Палладе [35, 210]. В тільцях виявлено гістамін [210, 267], мультимери фактору Вілебранда і в мембрані тілець Р – селектин (з класу адгезивних молекул) [166, 193].

В ряді робіт підтверджена активна участь Е в запаленні, імунній відповіді, гемостазі, контролі клітинної проліферації [17, 35, 98, 108, 117].

У відповідь на дію пошкоджуючого агента ендотеліальні клітини реагують принципово подібним чином [98, 108]. Ця реакція носить універсальний адаптивний характер – стрес реакція, її проявами є скорочення і підвищення адгезивності ЕК для клітин крові внаслідок

експресії ряду адгезивних молекул [31, 110]. Останнє супроводжується адгезією і локальною концентрацією лімфоцитів, моноцитів і нейтрофілів [117, 123, 199]. Часто при цьому лейкоцити активуються і можуть пошкоджувати ЕК і (або) стимулювати їх функціональну активність [35, 98, 200].

В роботах Kawana S. [219, 220] наголошується на ушкодженні ендотелію при імунокомплексному васкуліті. Вказується про вплив комплементу на цілісність мембран ендотеліальних клітин. Це підтверджується і роботами Шебеко В.И., що вказують на постійний вплив комплементу на ендотелій. Продукти активації системи комплементу призводять до множинних змін функцій ендотеліальних клітин [156].

Незадовільні результати терапії імунокомплексних процесів пояснюються складністю і недостатнім вивченням імунопатологічних механізмів, які лежать в основі їх розвитку. Незважаючи на інтенсивні наукові розробки, які ведуться в цьому напрямку в різних країнах світу, проблема імунокорекції та профілактики розвитку імунокомплексних захворювань, залишається і надалі актуальною.

Літературний аналіз дозволяє виділити декілька причин, що взаємопов'язані між собою, чому терапевтичні можливості при імунокомплексних захворюваннях є обмеженими. Цьому сприяє недостатнє розуміння патогенезу імунокомплексних захворювань, тому є неможливим виділення однорідних груп хворих [24, 169, 225]. А тому застосування лікарських препаратів може давати ефект лікування або ж ефекту не буде [10, 136, 225, 228]. Є великий процент побічної дії лікарських препаратів [39, 44, 225, 239]. Тобто, треба проводити індивідуальний підхід до лікування кожного хворого і нозологічної форми хвороби.

Сьогоднішній етап вивчення ефективних імунотропних засобів характеризується пошуком сполук з відносно селективною дією на популяції і субпопуляції імунокомпетентних клітин. У роботах [38, 45, 78] вказується,

що індивідуалізація імуномодулюючої терапії базується на селективності дії імуноактивних препаратів, структурній та часовій організації імунної системи, типах імунних прушень при різних захворюваннях.

На основі цього можна зробити висновок про недосконаліть імунотропних засобів, які застосовуються для корекції імунологічних порушень при імунокомплексій патології та про актуальність проблеми пошуку середника з селективними імуномодулюючими властивостями, який викликав мінімальний дисбаланс регуляторних механізмів імунної відповіді.

Враховуючи усі вище наведені факти, метою нашої роботи було вивчити і розкрити нові механізми залучення імунних, нейтрофільних і ендотеліальних клітин в розвитку хронічного імунокомплексного процесу. Дослідити механізми взаємного впливу ЦІК та ендотеліоцитів на нейтрофільні гранулоцити, морфологічні зміни в клітинах нейтрофілів при хронічному імунокомплексному процесі та можливості їх корекції плацентарним полібіоліном та корвітином.

Досягнення поставленої мети оцінювали за показниками прямих та опосередкованих механізмів фагоцитозу: а саме за вмістом циркулюючих імунних комплексів різних розмірів, так як розмір відіграє важливе значення для патогенної дії на організм; показників гемолітичної активності комплементу; загальної кількості лейкоцитів, відсоткового та абсолютного вмісту нейтрофільних гранулоцитів, фагоцитарного числа, фагоцитарного індексу та коєфіцієнту фагоцитозу, спонтанного нітросинього тетразолієвого тесту; стимульованого нітросиного тетразолієвого тесту; міелопероксидазного тесту та лізосомально-катіонного тесту.

Досліди проводились на білих щурах-самцях лінії Вістар, масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію, осінню.

Для відтворення моделі хронічної сироваткової хвороби ми обрали модель запропоновану Cochrane C.G. [188] у модифікації Wilson C.B. et al [275], яка викликається введенням кожних 7 днів протягом 12 тижнів в

хвостову вену бичачого сироваткового альбуміну (БСА) в розрахунку 100 мг/кг маси. Оскільки в картині хронічної сироваткової хвороби провідним є збільшення рівня ЦІК у крові, за їх рівнем судили про ступінь розвитку хвороби. Плацентарний полібіолін вводився в разовій дозі 5 мг/100г, корвітин – 4 мг/100г доочеревинно 1 раз на добу, курсом 10 днів. Нейтрофіли виділялись із крові методом центрифугування на градієнті щільності фіколверографіну за методом Петровой И.В, 1983 [104]. Гранулоцити в суспензії складали – 98%. Клітини ендотелію виділялись з допомогою колагенази за методом Jaffe E.A, 1978 [217]. Життєздатність клітин складала не менше ніж 95%, її оцінювали за забарвленням трипановим синім. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації.

Вивчення особливостей розвитку ХІКП показало, що в цих умовах зростала загальна кількість лейкоцитів ($P<0,001$) і серед них нейтрофілів ($P<0,001$). Число фагоцитних клітин достовірно збільшилося через 120 хв., хоча кількість захоплених частинок латексу зменшилася порівняно з контролем через 120 хв. Відповідно швидкість фагоцитозу зменшилась. Це свідчить про те, що НФ перші реагують на вторгнення чужерідних агентів, щоб знищити їх, а також сприяють переводу цих антигенів в імуногенну форму [139]. Послаблення захоплювальної здатності, що супроводжується значним збільшенням всіх показників ЦІК, вказують на зниження першої ланки імунологічного нагляду, що сприяє хронізації процесу, формуванню вторинного клітинного імунодефіцитного синдрому.

Дослідження ферментативних процесів у нейтрофільних гранулоцитах виявило збільшення показників міелопероксидазного тесту у відсотках і в абсолютних значеннях, що свідчить про активацію кисневозалежних ферментативних процесів. Метаболічна перебудова стимульованих НФ проходить миттєво – “респіраторний вибух”. Основу такої перебудови складають кисневозалежні реакції, в результаті котрих утворюються активні форми кисню: супероксидний аніон, синглетний кисень, гідроксильний

радикал, гіпохлорид. Ланцюг метаболічних перетворень здійснюється з допомогою міелопероксидази, ферменту азурофільних гранул. При патологічних станах, через неспецифічність фагоцитарних реакцій, дія активованих НФ направлена як на чужерідні об'єкти, так і на тканини власного організму [9].

Показники лізосомально-катіонного тесту вірогідно зросли як у відносних так і у абсолютних значеннях. Також збільшилася активність всередині одного нейтрофіла. В процесі фагоцитозу катіонні білки поступають в фаголізосому НФ і адсорбуються на вільній поверхні фагоцитованого об'єкту. За гіпотезою Zey і Spitznagel, при такому контакті проходить електростатична взаємодія катіонних білків з аніонними компонентами об'єкту і руйнує його. Згідно даних дослідників [62, 273] катіонні білки в малих концентраціях стимулюють, а у великих пригнічують основні біохімічні процеси в клітинах вогнища запалення, що дає основу відносити катіонні білки до медіаторів запалення. Існують дані [144] участь катіонних білків в пускових механізмах активації поліморфноядерних лейкоцитів, утворенні лейкоцитарного пірогену, антикоагулянтну та антикомплементарну дію.

Під час хронічної імунокомплексемії показники окисно-відновної здатності лізосом НФ зросли у відсотках та абсолютних значеннях, а резервна можливість в абсолютних значеннях.

При вивченні опосередкованих механізмів фагоцитозу за умов ХІКП всі показники ЦІК зросли порівняно з контрольною групою тварин. Зросла також активність системи комплементу ($P<0,05$), порівняно з контрольними показниками. В умовах довготривалої імунної відповіді склад ІК поповнюється новими АТ, що створює умови для фіксації та пошкоджуючої активації всього каскаду системи комплементу. ІК приклеюються до циркулюючих клітин крові через рецептор С3b. З допомогою цього механізму комплекси модифікуються і елімінуються фагоцитарною

системою [167]. Нові порції ЦІК, що поступають в переповнені мезанглії, займають спочатку субендотеліально-мезангіальну зону, а потім поширюються по субендотеліальному простору формують субендотеліальні депозити ІК [226, 248].

Підвищений рівень ЦІК в сироватці крові є характерною ознакою для хронічного імунокомплексного процесу [21, 44], внаслідок постійної персистенції антигену в крові. Біологічна дія ІК пов'язана з активацією ефекторних клітин, зокрема мікрофагоцитів крові. Останні можуть переходити в активний стан. Вважається, що за показниками функціональної активності НФ можна судити про глибину та динаміку патологічних порушень [2, 56, 62, 68, 78].

Проведений нами експеримент показав, що в умовах досліду зріс рівень ЦІК, які активують Fc- та C3b-рецептори на НФ, посилюючи ферментативні процеси в цих клітинах [145, 159, 199]. Активація Fc- і особливо C3b-рецепторів НФ призводить до активації лізосомальних ферментів [145, 161, 202, 223, 271] котрі в свою чергу можуть розщеплювати компонент комплементу C3. Це призводить до генерації C3b, що забезпечує зчеплення НФ з ЦІК, які фактично є містками між рецепторами та АТ. При цьому вивільняються лізосомальні ферменти, фібриноген, ендотилін, колаген, що веде до розвитку запального процесу в судинній стінці [32, 44, 166, 171, 201]. Ці моменти підтверджують наші морфологічні дослідження (в цитоплазмі спостерігається велика кількість електронно-щільних азурофільних гранул, поодинокі специфічні гранули, множинні фаголізосоми з фагоцитованими фрагментами в порожнині, ділянки еухроматину в ядрі значно більші за об'ємом ніж у інтактних тварин).

Наступним етапом було вивчення змін прямих та опосередкованих процесів фагоцитозу в інтактних тварин після введення їм ПП та К. Аналізуючи динаміку показників активності фагоцитарної ланки інтактного організму під дією ПП спостерігали, що у цій групі тварин супроводжувалося

зростанням загальної кількості лейкоцитів, абсолютної кількості НФ порівняно з інтактними тваринами. Після введення К загальна кількість лейкоцитів вірогідно не змінилась, а кількість нейтрофільних гранулоцитів достовірно зменшилась у відсотках, та не змінилась в абсолютних числах.

У НФ під впливом ПП активувалися процеси захоплення, зокрема кількість фагоцитних клітин достовірно збільшилася. Вплив КВ на захоплювальну функцію НФ проявився також активацією – зростанням кількості активних фагоцитів через 120 хв., і кількості поглинутих частинок латексу одним НФ.

Дослідження ферментативних процесів у нейтрофільних гранулоцитах, при введенні ПП виявило активацію кисневозалежних ферментативних процесів: показники мієлопероксидазного тесту НФ достовірно зросли порівняно з контрольними тваринами і у відсотках, і в абсолютних значеннях. Одночасно з цим у тварин, які отримували ПП також збільшилися показники окисно-відновної здатності лізосом НФ та їх резервна можливість порівняно з показниками контрольної групи в абсолютних значеннях .

Після введення К показники кисневозалежних ферментативних процесів лізосом НФ вірогідно збільшились у відсотковому значенні, тоді як в абсолютних значеннях не змінились, також не зауважено збільшення активності гранул в одному НФ. Під впливом корвітину стали активніші кисневонезалежні ферментативні процеси у лізосомах кожного НФ, тоді як показники відсоткового та абсолютного вмісту НФ з позитивним ЛК-тестом не збільшилась. Показники окисно-відновних ферментативних процесів в НФ залишились у тих самих цифрах як у відсотках так і в абсолютних значеннях, а резервна можливість їх збільшилась.

Проведене порівняння імуномодулюючого впливу ПП і К показало, що по своїй здатності впливати на опосередковані механізми фагоцитозу ПП збільшує показники ЦІК великих і малих розмірів, показники ЦІК середніх розмірів достовірно не змінилися. Це можна розцінювати як активізацію

гуморальної ланки імунної відповіді. Оскільки система імунітету знаходиться в умовах постійного контакту з АГ, такий ріст ЦІК можна розглядати як фізіологічний процес, спрямований на елімінацію чужерідних частинок.

Рівень всіх ЦІК у сироватці крові інтактних тварин після введення корвітину достовірно знижується, знижуються показники гемолітичної активності комплементу, що свідчить про активне використання компонентів системи комплементу, тобто активацію опосередкованих механізмів фагоцитозу.

З одержаних результатів випливає, що до тривалого застосування ПП в умовах здорового організму слід підходити обережно, оскільки він може викликати небажану імунокомплексемію.

Зіставляючи результати дослідження дії ПП і К на інтактний організм, ми виявили відмінності в їх імуномодулюючих ефектах. Основною особливістю природного препарату К був помірний стимулюючий вплив на всі ланки системи захисту організму, що не порушувало загальної рівноваги, необхідної для адекватного функціонування імунної системи, тоді як ПП інтенсивно стимулював фактори неспецифічної реактивності.

Вивчення особливостей розвитку ХІКП після введення ПП та К показало, що під впливом ПП зменшилася абсолютна кількість НФ, тоді як відсотковий вміст зовсім не змінився. Аналізуючи динаміку нейтрофілозалежних показників фагоцитозу за умов ХІКП після введення КВ, спостерігали достовірне зменшення загальної кількості лейкоцитів, порівняно з ХІКП, а також зменшення абсолютних значень НФ.

ПП та К відновлювали захоплювальну здатність НФ, про що свідчать показники латексного тесту. Однак при введенні ПП зросла кількість активних НФ, а при введенні К зросла також кількість захоплених частинок латексу одним НФ, відповідно збільшилась швидкість фагоцитозу.

Ферментативні процеси в НФ під впливом ПП та К також зазнали певних змін, що проявилося у зменшенні активності як кисневозалежних

ферментативних процесів так і окисно-відновних процесів у НФ. Введення цих препаратів стабілізувало також кисневонезалежні механізми фагоцитозу, про що свідчать показники лізосомально-катіонного тесту.

Аналізуючи проведені дослідження можна зробити висновок, що обидва препарати – і плацентарний полібіолін, і корвітин – мали стабілізуючий вплив на продукцію ЦІК. Хоча корвітин зменшував продукцію власне патогенних імунних комплексів (середніх та малих розмірів), і ефективніше впливав на ферментативні процеси у НФ та процеси захоплення чужерідних частинок.

Для вивчення взаємного впливу нейтрофільних гранулоцитів та клітини ендотелію ми провели інкубацію цих клітин в умовах наближених до природніх.

Після інкубації НФ з ЕК процеси захоплення активувалися через 20 хв і через 120 хв, порівняно з показниками захоплювальної здатності НФ інкубації без ЕК. Однак швидкість фагоцитозу вірогідно не змінилася. Очевидно при контакті з ендотеліальними клітинами на НФ активуються Fc- та C3b-рецептори [32, 171, 201], тому зросла кількість активних клітин.

Кисневозалежні ферментативні процеси в умовах інкубації активувалися порівняно з контролем, збільшувався цитохімічний індекс.

Показники спонтанного НСТ-тесту вірогідно не змінилися, а резервна можливість окисно-відновних процесів зрола. Показники киснево-незалежних ферментативних процесів не змінилися, та активність всередині однієї клітини зросла.

Після проведеного аналізу результатів даного дослідження можна зробити висновок, що клітини ендотелію при безпосередньому впливі на НФ, мають активуючий вплив на останні.

У інтактних тварин, в умовах інкубації НФ з ЕК, після введення К достовірно зросла кількість захоплених частинок латексу одним НФ після 20

хв. інкубації з частинками латексу, та через 120 хв. Та швидкість фагоцитозу не змінилася, як і кількість активних НФ.

Стабілізуюче впливає корвітин на кисневонезалежні ферментативні процеси, так показники ЛК-тесту достовірно знизилися порівняно з НФ інтактних тварин після інкубації їх з клітинами ендотелію, а також порівняно з НФ інтактних тварин після інкубації без клітин ендотелію.

На окисно-відновні властивості лізосом НФ та кисневозалежні ферментативні процеси введення корвітину не впливало.

Проведені дослідження дозволяють зробити висновок, що введення корвітину інтактним тваринам в умовах інкубації НФ з ЕК підвищувало захоплювальну здатність НФ, а також стабілізувало ферментативні процеси у лізосомах цих клітин.

При вивченні нейтрофілозалежних механізмів фагоцитозу за умов інкубації НФ з ЕК під час ХІКП встановлено, що захоплювальна здатність НФ знизилася. Зменшувався процентний вміст НФ здатних до фагоцитозу через 120 хв інкубації з частинками латексу порівняно з контрольними. Відповідно знизилася швидкість фагоцитозу. Це свідчить про порушення міжклітинних взаємодій у відношенні притягання НФ і моноцитів у вогнище запалення [75].

Під час ХІКП в умовах інкубації НФ з ЕК ферментативні процеси в лізосомах НФ активувалися. Зокрема показники кисневозалежних ферментативних процесів зросли, як у відносних значеннях так і всередині одного НФ порівняно з контрольними показниками. При стимуляції НФ активуються оксидази плазматичної мембрани, котрі запускають серію метаболічних реакцій, що характеризуються як “респіраторний вибух”. Цей термін відображує швидку зміну метаболізму НФ з активацією внутрішньоклітинної міелопероксидази і генерацією активних форм кисню. Володіючи вираженою бактерицидною дією активні форми кисню

виконують захисну функцію, але вони дуже токсичні також для мітохондрій ЕК і колагенових волокон [251].

Зростали також показники кисневонезалежних ферментативних процесів, та активність гранул в одному НФ. При дослідженні здатності НФ відновлювати нітросиній тетразолій спостерігали збільшення показників окисно-відновної здатності лізосом НФ.

Проводячи аналіз показників фагоцитарної активності нейтрофілів за умов інкубації НФ з ЕК при ХІКП можна зробити наступний висновок. В цих умовах зменшившся процентний вміст НФ здатних до фагоцитозу, а також кількість захоплених частинок одним НФ, відповідно знизилася швидкість фагоцитозу. Активувалися кисневозалежні та кисневонезалежні ферментативні процеси в лізосомах нейтрофілів.

У дослідних тварин після введення К достовірно зросла кількість фагоцитних НФ, особливо «пізнього» фагоцитарного числа. Збільшилася також кількість захоплених частинок латексу одним НФ після 120 хв. інкубації з частинками латексу. Швидкість фагоцитозу достовірно зросла.

Стабілізуюче впливає К на кисневонезалежні ферментативні процеси, так показники ЛК-тесту достовірно знизилися порівняно з НФ дослідних тварин після інкубації їх з ЕК. Також знизилася активність всередині кожного НФ, про що свідчить цитохімічний індекс НФ. Кисневозалежні ферментативні процеси після введення К достовірно нижчі за показники дослідних тварин. Значно знижувався також цитохімічний індекс. На окисно-відновні властивості лізосом НФ введення корвітину позначилося тенденцією до зниження і наближенням до показників НСТ-тесту у інтактних тварин до інкубації з ЕК, збільшуючи одночасно їх резервну можливість.

Отже проведені дослідження дозволяють зробити висновок, що введення корвітину в умовах інкубації НФ з ЕК знижує ферментативні процеси у лізосомах НФ, а також підвищує захоплювальну здатність цих клітин.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично узагальнено і по новому вирішено наукове завдання, що віддзеркалено у встановленні імуно-нейтрофільно-ендотеліальних механізмів у розвитку хронічного імунокомплексного процесу. Механізми впливу ЦІК, ендотеліоциів на нейтрофільні гранулоцити, морфологічні зміни в нейтрофілах за умов ХІКП.

Запропоновані нові підходи до корекції порушень, викликаних ХІКП, за допомогою плацентарного полібіоліну та корвітину.

В результаті вирішення наукового завдання встановлено такі наукові і прикладні висновки:

1. За умов експериментального хронічного імунокомплексного процесу зростають показники циркулюючих імунних комплексів – великих розмірів від 70,50±3,69 до 161,50±25,00; середніх – від 103,00±2,13 до 189,00±4,99; малих – від 161,50±5,00 до 200,00±6,06 та активність системи комплементу ($P<0,05$). Нейтрофільний статус характеризується послабленням захоплювальної функції та активацією всіх ферментативних процесів у лізосомах нейтрофілів, що сприяє розвитку запального процесу.
2. Під час інкубації нейтрофілів з клітинами ендотелію за умов хронічного імунокомплексного процесу зменшується процентний вміст нейтрофілів, здатних до фагоцитозу від 89,30±2,83% до 80,00±3,47% ($P<0,05$), і кількість захоплених частинок одним нейтрофілом, відповідно знижується швидкість фагоцитозу від 1,15±0,05 до 0,94±0,03 ($P<0,005$). Одночасно активуються всі ферментативні процеси в лізосомах нейтрофільних гранулоцитах.
3. За умов хронічного імунокомплексного процесу методом електронної мікроскопії виявлені структурні зміни в ядрі та кількості гранул

нейтрофільних гранулоцитів, які корелюють з показниками ферментативної активності фагоцитів і свідчать про їх активацію.

4. Плацентарний полібіолін за умов хронічного імунокомплексного процесу знижує рівень показників циркулюючих імунних комплексів великих від 165,50±41,69 до 44,17±6,23 і середніх розмірів від 189,33± 14,97 до 109,17±10,72 та посилює захоплювальну здатність нейтрофільних фагоцитів від 52,30±2,87% до 62,80±2,11% і стабілізує ферментативні процеси в них.
5. Застосування корвітину призводить до достовірного зменшення рівня патогенних циркулюючих імунних комплексів (середніх та малих розмірів ($P<0,001$)), стабілізує нейтрофілозалежні процеси фагоцитозу – швидкість фагоцитозу достовірно зростає від 0,99±0,04 до 1,09±0,03, нормалізує ферментативні процеси всередині нейтрофіла і робить менш вираженішими структурні зміни в нейтрофільних гранулоцитах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аверладзе Н.Р. Оценка функционального состояния эндотелиоцитов сосудов микроциркуляторного русла у белых крыс // Морфология. – 2001. – Т. 120, № 6. – С. 27-29.
2. Антигениндуцированные изменения функционирования системы нейтрофильных гранулоцитов в эксперименте in vivo / И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова и др. // Гематология и трансфузиология. – 1997. – Т.42. – № 6. – С. 18-21.
3. Антинейтрофильные антитела при сосудистых васкулитах / Е.В. Насонова, Т.В. Бекетова, А.А. Баранов и др. // Тер. архив. – 1992. – № 6. – С. 21-27.
4. Асадов Ч.Д., Нумерова Л.С., Мирзоева М.Э. Связь между фагоцитарной функцией и цитохимическими показателями нейтрофилов крови // Лабораторное дело. – 1990. – № 11. – С. 19-21.
5. Ашмарин И.П., Данилова Р.А., Обухова К.В. Инверсная иммунорегуляция // Клин. медицина – 1997. – Т. 75. – №4. – С. 59.
6. Бажора Ю.І., Петрашевич Ю.В. Механізми макромолекулярних взаємодій у системному гомеостазі при формуванні імунної відповіді в експерименті // Буковинський мед. вісник. – 2001. – Т.5, №3. – С. 162-167.
7. Балаховский И.С. Статистический метод оценки измерительной точности результатов клинико-лабораторных исследований. // Клин. лабор. диагностика – 1998. – №5. – С. 33-35.
8. Балаховський І.С. Комплексна оцінка правильності результатів медичних лабораторних досліджень // Лаб.діагностика. – 2002. – № 4. – С. 49-59.
9. Белова Л.А. Биохимия процесов воспаления и поражения сосудов. Роль нейтрофилов // Биохимия. – 1997. – Т. 62, №6. – С. 659-668.

10. Бережная Н.М. Стратегія імунореабілітації системи імунітету: загальні підходи та складність вибору // Актуальні проблеми клінічної імунології та алергології. – 1996. – № 1. – С. 7-15.
11. Беседин В.Н., Надашкевич О.Н., Чоп’як В.В. Влияние белковых препаратов ретроплацентарной крови на иммунорегуляторные механизмы // Иммуномодуляторы природного происхождения. – Владивосток, 1990. – С. 75-76.
12. Беседін О.В., Чоп'як В.В. Вплив плацентарного полібіоліну на фагоцитарну активність нейтрофілів у сироватці крові хворих на генітальний ендометріоз // Ліки. – 1999. – №4. – С. 12-13.
13. Бутаков А.А., Щельцына Т.Л., Патютко М.Ю. Сравнительная оценка иммуномодулирующей активности отечественных рекомбинантных цитокиновых препаратов // Иммунология. – 1996. – №5. – С. 41-44.
14. Бутенко Г.М. Современные фармакологические подходы к иммунокорекции // Журн. практического врача. – 1997. – №4. – С. 8-10.
15. Бхардварж Л.А. Роль иммуномодулирующей терапии в обще-клинической практике // Иммунология. – 2000. – №5. – С. 34-39.
16. Вавилова М.М., Козлов Л.В., Голосова Т.В. Определение функциональной активности системы комплемента // Лаб. дело. – 1984. – № 12. – С. 743-746.
17. Вавілова Г.Л., Акопова О.В., Сагач В.Ф. Ендотеліальні фактори в регуляції активності Na+-, K+-АТФази // Фізіологічний журнал. – 2000. – Т. 46, №1. – С. 101-105.
18. Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов опосредованное моно- и нейтрофилокинами // Иммунология. – 2000. – № 5. – С. 11-17.

19. Визир В.А., Берозин А.Е. Применение коверекса (периндоприла) в целях восстановления функции эндотелия у больных сердечной недостаточностью // Укр. кардіол. журнал. – 1999. – №4. – С. 53-56.
20. Влияние А5-пептида, выделенного из нейтрофилов, на иммунную и воспалительно-репаративную реактивность обожженных мышей / Э.М. Ахмяков, И.И.Долгушин, А.В. Зурочка, А.В. Чукичев // Иммунология. – 1999. – №3. – С. 27-29.
21. Влияние иммунных комплексов, выделенных из плазмы больных ревматоидным артритом на секрецию провоспалительных цитокинов клетками крови здоровых доноров / С.А. Кузнецов, Л.А. Косицкая, И.С. Фрейдлин, И.И. Тихомиров // Иммунология. – 2000. – № 4. – С. 48-53.
22. Влияние миелопептида-3 на экспрессию молекул CD118, CD16 и CD95 нейтрофильными гранулоцитами у детей с гнойно-септическими заболеваниями / Н.В. Колесникова, И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, В.А.Тараканов // Иммунология. – 1999. – № 6. – С. 41-43.
23. Влияние некоторых аутоантител на метаболизм нейтрофилов и активность сывороточных ферментов у больных системной красной волчанкой / В.А. Романов, Н.П. Шилкина, Н.В. Романова и др. // Иммунология. – 2001. – №4. – С. 44-47.
24. Влияние некоторых иммуномодуляторов на функциональную активность фагоцитарных клеток периферической крови / С.В. Дамбаева, Д.В. Мазуров, Н.М. Голубева, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2000. – №6. – С. 15-20.
25. Влияние плацентарного полибиолина на миелопероксидаз-опосредованные процессы при хронической гипериммунокомп-лексемии / М.Бідюк, В.Чоп'як, М.Качмарська и др. // Международный конгресс "Современные методы диагностики и

лечения аллергии, астмы и иммунодефицитов". Тбилиси, Грузия. – 1999. – С. 41-42.

26. Влияние применения кверцетина в комплексном лечении генерализованного пародонтита на показатели перекисного окисления липидов /А.В. Борисенко, А.Л. Чеснокова, Л.Ф. Осинская и др. // Проблемы медицины. – 1999. – № 7-8. – С. 54-56.
27. Вознесенский Н.К., Манеркиж Н.С. Хемилюминисценция нейтрофилов в алергодиагностике // Клин. лабор. диагностика. – 1999. – №8. – С. 18-20.
28. Воспаление. Руководство для врачей / Под ред. В.В Серова, В.С. Паукова. – Москва: Медицина, 1995. – 640 с.
29. Вплив тималіну та плацентарного полібіоліну на морфологічні особливості кліренсно-мішеневих тканин за умов гіперімуноком-плексемії / М.Бідюк, С.Павлович, В.Вовк, В.Чоп'як // Актуальні проблеми клінічної імунології та алергології. – 1996. – Вип. 1, №1. – С. 96-97.
30. Выговский В.П., Новосад А.В., Невзгода А.А. Влияние полибиолина на морфофункциональные свойства нейтрофильных гранулоцитов периферической крови у больных хроническим бронхитом // Гематология и переливание крови. – Киев, 1990. – Вып. 25. – С. 14-17.
31. Гавриш А.С., Ящук Н.А. Региональные структурно-метаболические особенности сосудистого эндотелия // Лік. справа: Врачебное дело. – 1995. – № 3-4. – С. 118-121.
32. Гаєвська М.Ю. Циркулюючі імунні комплекси за умов норми та патології // Вісник наук. досліджень. – 2000. – №4. – С. 37-40.
33. Галкин А.А., Тимин Е.Н., Карелин А.А. Методы исследования подвижности нейтрофилов (обзор литературы) // Клин. лабор. диагностика. – 2003. – № 1. – С. 22-33.

34. Гарська Н.О. Вплив нейтрофілів на формування адаптаційних реакцій системи крові за умов змін імунного статусу оранізму: Автореферат дис. к.б.н., 03.00.13 / Київський нац. університет ім. Т. Г. Шевченка. – Київ, 2000. – 16 с.
35. Гомазков О.А. Эндотелий – эндокринное дерево // Природа. – 2000. – № 5. – С. 21-39.
36. Гудима О.О., Ляхов В., Терехов О.П. Трофобластический β-гликопротеин человека // Иммунология. – 1993. – №1. – С. 11-14.
37. Гущин И.С. Взаимодействие клеток иммунного и эффекторного звеньев аллергического ответа и возможные пути его фармакологического контроля // Иммунология. – 1994. – № 4. – С. 8-9.
38. Гюллінг Е.В. Принципи і засоби імуномодулюючої і фармакотерапії при імунозалежних хворобах // Ліки. – 1996. – № 1. – С. 17-23.
39. Данилова А.Б., Окулов В.Б., Данилов А.О. Реакция эндотелия на воздействие химиотерапевтических препаратов и иммуномодуляторов // Гематология и трансфузиология. – 1998. – Т. 43, № 5. – С. 19-23.
40. Дзяк Г.В., Коваль Е.В. Сравнительное изучение имуномодулирующего действия и терапевтической эффективности препаратов у больных стенокардией // Укр. кардіологічний журнал. – 1996. – №2. – С. 13-16.
41. Динамика показателей кислородзависимых механизмов бактерицидности циркулирующего пула фагоцитирующих клеток в тесте с нитросиним тетразолием при экспериментальном проникающем ранении глаза / М.В. Черешнева, Ю.И. Шилов, О.Н.Баданина, С.В.Осотов // Иммунология. – 2000. – №1. – С. 26-29.

42. Долгушин И.И., Зурочка А.В., Власов А.В. Секреторные продукты нейтрофилов и иммунный ответ // Иммунология. – 1990. – № 3. – С. 35-37.
43. Долгушин И.И., Зурочка А.В., Чукичев А.В. Регуляторные пептиды нейтрофилов (нейтрофилокины) // Иммунология. – 1995. – № 4. – С. 40-45.
44. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и алергология. – Одесса. Астро Принт, 1999. – 604 с.
45. Дриянская В.Е. Клинико-иммунологические эффекты иммунотерапии у больных острым пиелонефритом // Лік. справа: Врачебное дело. – 1997. – № 4. – С. 89-92.
46. Ендотеліальні клітини за умов їх культивування / Т.М. Коваленко, І.О. Осадченко, І.Р. Ніконенко, Г.Г. Скібо // Фізіологічний журнал. – 1999. – Т.45, №4. – С. 120-124.
47. Земсков В.М., Земсков А.М. Принципы диференциальной иммунокорекции // Иммунология. – 1996. – № 3. – С.4-6.
48. Земсков В.М., Земсков А.М., Золоедов В.И Сдвиги в иммунной системе человека при различной патологии в результате применения иммуномодуляторов // Физиология человека. – 1994. – №5. – С.91-98.
49. Земсков В.М., Земсков А.М., Новикова Л.А. Избранные проблемы иммунологии. Воронеж: Изд. ВГУ, 1997. – 208 с.
50. Иванов Д., Назаренко В. Застосування епоетину-α та кверцетину у хворих із вираженим анемічним синдромом на ранніх стадіях хронічної ниркової недостатності // Ліки України. – 2002. – Т.11, № 64. – С. 12-14.
51. Игнатьева Г.А. Современные представления об иммунитете (контуры общей теории) // Пат. физиология и экспериментальная терапия. – 2003. – №2. – С. 2-8.

52. Изучение физиологического состояния нейтрофилов стимуляцией латексом / И.М. Погонцева // Вісник Сумського держ. ун-ту. Сер. Медицина. – 2001. – № 12. – С. 43-47.
53. Иммунная реактивность как фактор регуляции гомеостаза организма / А.М. Земсков, В.М. Земсков, В.И. Золоедов, Е. Бжозовский // Успехи современной биологии. – 1999. – №2. – С. 99-114.
54. Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений / В.Г. Передрий, А.М. Земсков, Н.Г. Бычкова, В.М. Земсков. – Киев. : Здоров’я. – 1995. – 211с.
55. Иммунокорригирующие нуклеиновые препараты и их клиническое применение / А.М.Земсков., В.Г.Передрий., В.М.Земсков., Н.Г. Бычкова. – Київ: Здоров'я, 1994. – 232 с.
56. Казимирко В.К. Нарушение функционального состояния нейтрофилоцитов крови и их коррекция у больных бронхо-эктатической болезнью и абсцесом легких // Лік. справа: Врачебное дело. – 1994. – № 9. – С. 100-102.
57. Калиман П.Л., Самохин А.А., Самохина Л.М. Влияние кверцетина на некоторые показатели системы протеиназа-ингибитор протеиназ у крыс при введении им хлорида кобальта // Укр. біохімічний журнал. – 2001. – № 6. – С. 127-130.
58. Караванская И.Л., Коваль Е.А. Влияние корвитина (парентеральной формы кверцетина) на функциональное состояние основных популяций лейкоцитов у больных с острым Q-инфарктом миокарда // Анестезиология и реаниматология. – 1995. – № 5. – С. 21-23.
59. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции воспаления и иммунитета // Иммунология. – 1995. – №3. – С. 30-44.

60. Клиническое значение антител к сосудистому эндотелию /Пьер Юну, К.В.Саложин, Е.В.Насонов, В.А.Насонова // Клин. медицина. – 1995. – №5. – С. 5-7.
61. Ковалев В.Б., Ковзан В.В., Кончина Е.Ю. Механизм лечебного действия биофлавоноида кверцетина (обзор литературы) // Укр. мед. альманах. – 1999. – Т. 2, № 4. – С. 56-59.
62. Коваль С.Б., Луніна Н.В., Середенко М.М. Синдром дегрануляції нейтрофільних лейкоцитів // Буковинський мед. вісник. – 1998. – Т.2, №4. – С. 204-213.
63. Коваль С.Б., Середенко М.М., Луніна Н.В. Механізми впливу циркулюючих нейтрофільних гранулоцитів на реакцію вивільнення із тромбоцитів крові людини // Фізіологічний журнал. – 2001. – Т. 47, №3. – С. 26-34.
64. Кокряков В.Н. Катионные белки лизосом нейтрофилов при фагоцитозе и воспалении // Вопр. мед. химии. – 1990. – Т. 36, вып. 6. – С. 13-16.
65. Количественная оценка фагоцитарной активности клеток эндотелия в культуре / В.Р. Бабаев, В.М. Попкова, А.С. Антонов, В.С. Репин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1996. – Т. 101, № 6. – С. 728-730.
66. Колчин Ю.Н. Протекторное действие кверцетина при экспериментальной ишемии – реперфузии миокарда // Фамаколо-гическая корекция гипоксических состояний. Мат. 2-ой всесоюзной конференции. Часть III. – 1991. – С. 424-425.
67. Константинова Н.А. Иммунные комплексы и повреждение тканей // Москва.: Медицина, 1995. – 256 с.
68. Константинова Н.А., Хомякова Н.Ф. Влияние иммунных комплексов различной молекулярной массы на функциональную активность и внутриклеточный pH нейтрофилов в условиях УФ-

облучения и без него // Бюлетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т. 132, № 9. – С. 297-300.

69. Корж А.Н. Современные представления о структуре, функции и биологической роли сосудистого эндотелия //Международный мед. журнал. – 2003. – Т. 9, № 1. – С. 130-134.

70. Кресюн В.И., Бажора Ю.И., Рыбалова С.С. Клинические аспекты иммунофармакологии – Одесса, 1993. – 432с.

71. Криворучко Г.Л., Миндюк М.В., Логинский В.Г. Получение и клиническое применение полибиолина: метод. рекомендации. – Львов, 1976. – 15 с.

72. Кулаков В.В., Пинегин Б.В. Влияние некоторых иммуно-модуляторов на функциональную активность нейтрофилов здоровых доноров // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 44-47.

73. Лабораторные животные / И.П. Западнюк, В.И.Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк // Киев.: Вища школа, 1983, 382 с.

74. Лапич С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико биологических исследованиях с использованием Excel. – Киев: Морион, 2000. – 320 с.

75. Лобанок Л.М., Луксия Л.С. Функциональная роль эндотелия сосудов: патофизиологические и клинические аспекты // Мед. новости. – 1999. – №4. – С.21-29.

76. Луніна Н.В., Добровольська. Реакція лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів периферичної крові та імунологічна реактивність організму за умов іммобілізації // Фізіологічний журнал. – 1994. – Т.40, №2. – С. 68-73.

77. Луцик Б. Проблеми імунокорекції і сучасні препарати // Мед. газ. України. – 1995. – № 22. – С. 9

78. Мазепа М.А. Дифузні захворювання сполучної тканини: роль циркулюючих імунних комплексів та їх властивостей в патогенезі,

клінічній гетерогенності, прогнозуванні перебігу та лікуванні. Автореф. дис. доктор. мед. наук: 14.00.39. / Укр. держ. мед. інститут – Київ. – 1994. – 36 с.

79. Малая Л.Т., Серик С.А. Факторы гуморального иммунитета, медиаторы клеточных реакций и эндотеальная дисфункция при ишемической болезни сердца // Журн. АМН Укр. – 1998. – Т. 4, № 31. – С. 64-77.

80. Манько В.М., Петров Р.В., Хаитов Р.М. Иммуномодуляция: история, тенденции развития, современное состояние и перспективы // Иммунология. – 2002. – Т.23, № 3. – С. 132-138.

81. Марков А.Г., Козачук И.Л. Влияние кверцетина на показатели специфической и неспецифической реактивности бронхов у больных аспириновой бронхиальной астмой // Укр. кардіологічний журнал. – 1998. – № 4. – С. 62-64.

82. Марченко С.М. Катіонний канал низької провідності в інтактному ендотелії аорти щура // Фізіологічний журнал. – 2002. – Т. 48, № 6. – С. 37-40.

83. Матюха М.Т. Діагностичне значення показників функціонального стану нейтрофілів периферичної крові у ревматоїдних хворих: Автореф. дис. к.мед.н.: 14.01.12./ Інститут кардіології ім. акад. Стражеска. – Київ, 2001. – 22 с.

84. Маянский А.Н. Современная эволюция идеи И.И. Мечникова о внутрисосудистом воспалении // Иммунология. – 1995. – № 4. – С. 8-14.

85. Маянский А.Н. Хроническое воспаление. – АМН СССР, Москва: Медицина, 1991. – 270с.

86. Маянский А.Н., Невмятуллин А.А. Функциональное зондирование нейтрофила: проблемы и перспективы // Клин. лаб. диагностика. – 1997. – № 5. – С. 24.

87. Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза. – Казань, 1993. – 25 с.
88. Маянский А.Н., Челышев И.В., Чеботарь И.В. Кондиционирование Ig G и C3b-зависимых реакций нейтрофилов в условиях специфической и неспецифической адгезии // Иммунология. – 1993. – № 1. – С. 23-25.
89. Маянский Н.А., Заславская М.И., Маянский А.Н. Апоптоз эксудативных нейтрофилов человека // Иммунология. – 2000. – № 2. – С. 11-13.
90. Медведев А.Н., Чаленко В.В. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза // Лабораторное дело. – 1991. – № 3. – С. 19-20 .
91. Мельник А.И., Мельник В.А. Фармакологическая коррекция нарушений функций нейтрофильных гранулоцитов у детей с дермато-респираторными проявлениями аллергии. // Иммунология и аллергия. Республиканский межведомственный сборник. Вып. 25. – Киев, 1991. – С. 82-84.
92. Мельник В.А., Слюсарь Л.И., Беседина Е.И. Состояние функций полиморфноядерных нейтрофилов при атопических дерматозах у детей // Аллергические заболевания у детей: современные проблемы диагностики, терапии и реабилитации. Мат. научно-практической конференции. Новосибирск, 1998. – С. 23-30.
93. Метаболический статус нейтрофилов у больных системными васкулитами / В.А. Романов, Н.П. Шилкина, Н.В. Романова и др. // Иммунология. – 2001. – №1. – С. 49-51.
94. Механизмы протекторного действия кверцетина при острой ишемии и реперфузии миокарда / В.И. Азаров, Л.А. Грабовский, А.А. Мойбенко и др. // Тез. 1-го нац.сьезда фармакологов Украины. – Киев, 1995. – С. 4.

95. Миргородський Д.С., Чабан В.Ю., Бобров М.Л. Використання гранул квеерцетину в клінічній практиці гнійної хірургії хворих дитячого віку // Тез. научн. мед. конф. НМУ. – 1998. – С.12.

96. Мойбенко А.А., Сагач В.Ф. Иммуногенные нарушения деятельности сердечно сосудистой системы. Київ: Наук. думка, 1992. – 203с.

97. Молекулярно-генетические аспекты неспецифического аортоартереита /О.О. Фаворова, Д.Е. Гусев, Н.М. Чихладзе, И.Е. Чазова // Тер. архив. – 2002. – Т. 74, № 9. – С. 81-85.

98. Морфофункциональная характеристика специфических гранул сосудистого эндотелия в норме и в аспекте ишемического и реперфузионного синдрома повреждения миокарда /А.М. Волков, Г.М. Казанская, Т.М. Дьяконица и др. // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2002. – № 3. – С. 51.

99. Надашкевич О.Н. Плацентарный полибиолин в терапии ревматоидного артрита: Автореф. дис. к. мед. н: /Нац. мед. у-нт ім О.О.Богомольця – Київ, 1999. – 23с.

100. Некоторые стороны механизма терапевтического действия кверцетина при сочетанном воздействии гипоксии и гипертермии /В.Д. Лукьянчук, А.В. Савченкова, А.П. Гудзенко и др. //Фамакологическая корекция гипоксических состояний. Мат. 2-ой всесоюзной конференции. Часть III. – 1991. – С. 439-440.

101. Никитюк Г.П., Бідюк М.М., Угрин О.М. Вплив кверцетину на фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів при експериментальній імунокомплексній патології // Клінічна та експериментальна патологія. – 2003. – Т. II, № 1. – С.47-50.

102. Никитюк Г.П., Бідюк М.М., Угрин О.М. Фагоцитарна активність нейтрофілів при експериментальній хронічній гіперімуно-

комплексній патології // Фізіологічний журнал. – 2002. – Т. 48, № 4. – С. 100.

103. Никитюк Г.П., Бідюк М.М., Угрин О.М. Характеристика фагоцитарних процесів в умовах інкубації нейтрофілів з ендотеліоцитами у тварин з хронічним імунокомплексним процесом // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. III, № 2. – С.357-358.

104. Новые природные иммуномодуляторы / А.М. Егоров, Л.П. Иваницкая, А.В. Носик и др. // International Jornal on Immunolorehabilitation. – 2000. – Vol. 2, № 1. – P. 138-146.

105. Осипов С.Г., Еремеев В.В., Руднев В.И. Методы определения иммунных комплексов // Лаб.дело. – 1983. – № 11. – С. 3-7.

106. Первый опыт применения внутривенной формы ингибитора 5-липоксигеназы у больных с острым инфарктом миокарда: клинико-гемодинамические паралели и влияние препарата на размеры некроза / А.Н. Пархоменко, А.А. Мойбенко, С.Н. Кожухов и др. // Укр. кардіол. журн. – 2000. – № 1-2. – С. 5 – 9.

107. Петрова И.В., Васильева Л.Л. Метод выделения из периферической крови человека чистой популяции нейтрофилов для изучения их розеткообразующих свойств // Лаб. дело – 1983. – № 11. – С. 26-28.

108. Печковский Д.В., Потапнев М.П. Механизм фагоцитоза и бактериоцидности нейтрофилов человека // Здравохранение Белоруси. – 1994. – № 6. – С. 39-44.

109. Плескова С.Н., Маянский А.Н. Принцип стандартизации оценки функциональной активности альтернативного каскада комплемента // Иммунология. – 2000. – №4. – С. 61-64.

110. Полева Н.Р., Одинокова В.А., Мравян С.Р. Эндотелий: механизмы действия и перспективы изучения. // Тер. архив. – 1993. – № 3. – С. 65 – 68.

111. Полибиолин и показания к его клиническому применению: метод. рекомендации / Под ред. М.В. Миндюк, В.Е. Логинский и др. – Львов, 1988. – 16с.

112. Попкова О.Я., Косицкая Л.С., Суровцева А.П. Нарушение системы элиминации циркулирующих иммунных комплексов при легочных заболеваниях у детей // Вопросы охраны материнства и детства. – 1991. – Т. 36, № 5. – С. 36-38.

113. Потапнев М.П. Цитокиновая сеть нейтрофилов при воспалении // Иммунология. – 1995. – № 4 . – С. 34-40.

114. Потапнев М.П., Печковский Д.В. Иммунорегуляция антимикробной активности нейтрофилов человека // Иммунология. – 1994. – № 5. – С. 4-5.

115. Принципы назначения иммунокорригирующих средств / А.М. Золоедов, В.И. Земсков, С.Д. Полякова, Л.А.Новикова // Рос. мед. журн. – 1996. – № 6. – С. 44-47.

116. Редчиц Е.Г., Гузева В.О. Адгезия нейтрофилов: патогенетические и методические аспекты // Лаб. дело. – 1992. – № 5. – С. 4-8.

117. Роль ендотелію та біологічно активних речовин ендотеліального походження в регуляції кровообігу і діяльності серця / О.О. Мойбенко, В.Ф. Сагач, Л.М. Шаповал та ін. // Фізіологічний журнал. – 1997. – Т. 43, № 1-2. – С. 3-18.

118. Роль иммунокорекции в общеклинической практике / Л.В.Лусс, А.А.Бхардвардж, А.Бхардвардж и др. // International Jornal on Immunolorehabilitation. – 2000. – Vol. 2, № 1. – P. 138-146.

119. Роль иммуномодулирующей терапии в общеклинической практике / Л.В. Лусс, А.В. Некрасов, Н.Г. Пучкова и др. // Иммунология. – 2000. – № 5. – С. 34-39.

120. Роль полиморфноядерных лейкоцитов при аллергическом воспалении кожи у детей / Н.А. Рычкова, Л.Ф. Казначеева, Л.Ф. Маянская, Л.В. Вохминцева // Иммунология. – 1999. – № 5. – С. 14-16.

121. Розсаханова Л.М., Левицький А.П., Макаренко О.А. Порівняльна антиоксидантна активність препаратів, що містять біофлавоноїди // Одеський мед.журнал. – 2004. – № 1 (81). – С. 21-24.

122. Росул М.М. Ефективність застосування антиоксиданту кверцетину в комплексній терапії на ішемічну хворобу серця та супутнім цукровим діабетом 2 типу // Галицький лікарняний вісник. – 2004. – № 1. – С. 96-99.

123. Сагач В.Ф., Ткаченко М.Н., Коваленко Т.Н. Участие гуморальных факторов выделяемых эндотелием в развитии реактивной гиперемии // Физиол. журн. СССР им. И.Сеченова. – 1991. – Т. 77, № 6. – С. 20-27.

124. Сапрыкин В.П. Морфологические варианты нейтрофильных гранулоцитов крови практически здоровых людей // Морфология. – 2001. – Т. 120, № 6. – С. 37-41.

125. Славинский А.А. Цитоплазматическая зернистость нейтрофилов: Обзор // Клиническая лаб диагностика. – 2002. – № 3. – С. 39-43.

126. Солошенко Э.Н. I национальный конгресс Украины по иммунологии, аллергологии и иммунореабилитации // Международный медицинский журнал. – 1998. – Т. 4, № 2. – С. 136-137.

127. Состояние функций полиморфноядерных нейтрофилов при атопических дерматозах у детей / В.А. Мельник, Л.И. Слюсарь, Г.И. Беседина, И.В. Третьяков // Актуальні питання педагогіки експериментальної та клінічної медицини. Республіканська збірка наукових праць. – Донецьк. – 1995. – С. 243-247.

128. Теплова С.Н., Звеняцковская Е.К., Никушкина К.В. Система комплемента и циркулирующие иммунные комплексы у больных с ожогами // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1999. – № 3. – С. 61-65.

129. Ткаченко М.Н., Сагач В.Ф. Эндотелийзависимый механизм развития реактивной гиперемии // Докл. АН Украины. – 1992. – № 5. – С. 147-149.

130. Тодоров И. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София: Медицина и физкультура, 1978. – 164 с.

131. Труфакин В.А. Проблемы гистофизиологии иммунной системы // Иммунология. – 2002. – № 12. – С. 12-20.

132. Тумасова М.П. Морфофункціональна характеристика оксидантної активності нейтрофільних гранулоцитів крові: Автореф. дис. к. б. н: 14.03.09 / Нац. мед. у-нт ім О.О.Богомольця – Київ, 1999. – 15 с.

133. Тутельян А.В., Клебанов Г.И. Прайминг фагоцитов и его применение в системе оценки специфической активности иммуномодуляторных соединений // Иммунология. – 2004. – № 1. – С. 14-16.

134. Угрин О.М., Никитюк Г.П. Церулоплазміновий статус та фагоцитоз за умов впливу хронічної гіперімунокомплексемії // Актуальні проблеми клінічної імунології та алергології. – 1996. – № 1. – С.150.

135. Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапах лечения / Е.Ф. Чернушенко, В.Г. Бардонос, Е.В. Гюлинг и др. // Метод. рекомендации. – Киев, 1988. – 20 с.

136. Участь нейтрофільних механізмів у патогенезі хронічної гіперімунокомплексемії / М. Бідюк, В. Чоп'як, Л. Любінець, С. Павлович // Фізіологічний журнал. – 1997. – Т. 43, № 3-4. – С. 11-18.

137. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цито-киновой иммунорегуляции // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 4-7.

138. Фролов Б.А. Система комплемента и антитела в патогенезе болезней иммунных комплексов. – Оренбург, 1997. – 158 с.

139. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения // Иммунология. – 2000. – №5. – С. 4-8.

140. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные подходы к оценке основных этапов фагоцитарного процесса // Иммунология. – 1995. – № 4. – С. 3 – 8.

141. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные представления о защите организма от инфекций // Иммунология. – 2000. – №1. – С. 61-64.

142. Хомерики С.Г., Морозов И.А. Количественный анализ ультраструктур полиморфноядерных нейтрофилов крови у больных ишемической болезнью сердца после сеанса внутривенной лазертерапии //Архив патологии. – 1998. – № 6. – С. 5-8.

143. Хронічна гіперімунокомплексемія. Вплив імунопропних препаратів. / М.Бідюк, В.Чоп'як, Л.Любінець і ін. // Фізіологічний журнал. – 1998. – Т. 44, № 4. – С. 57-58.

144. Хронічний гіперімунокомплексний процес за умов імуномодуляції: імунофлюоресцентний аналіз клітин печінки та ендотелію аорти / В.В. Чоп’як, С.І. Павлович, В.І. Вовк, В.В. Вовк // Галицький мед. вісник. – 1996. – Т. 3, № 2. – С. 48-53.

145. Хронічний гіперімунокомплексний процес та його взаємозв'язок з системами, що генерують вільні радикали / А.Коцюруба, М. Бідюк, О. Буханевіч і ін. // Фізіологічний журнал. – 2000. – Т. 46, № 1. – С. 17-25.

146. Цитохимическое определение лизосомальных катионных белков в нейтрофилах крови при гипертрофической кардиомиопатии / К.Н. Маянская, Ю.А. Николаев, А.М. Шургая, З.М. Гефарова // Лаб. дело. – 1991. – № 5. – С. 15-17.

147. Чердеев А.Н. Fc – рецепторы на фагоцитирующих клетках // Иммунология. – 1995. – № 3. – С. 21- 26.

148. Чернушенко В.Ф. Актуальні питання діагностики порушень імунної системи // Лаб.діагностика. – 1997. – № 1. – С. 44-50.

149. Чернушенко В.Ф. Иммунологические исследования в клинике. Київ.: Здоров'я, 1973. – 160 с.

150. Чернушенко К.А., Демидов С.В. Порівняльна дія препаратів тимусу: тималіну, тимогену та вілозену на функціональний стан лімфоцитів при сенсибілізації // Ліки. – 1996. – № 1. – С. 42-49.

151. Чоп'як В.В. Застосування імунотропної терапії в хворих на системні васкуліти // Фізіологічний журнал. – 1997. – № 5-6. – С. 31-41.

152. Чоп'як В.В. Імуномдулююча терапія та нейтрофільні механізми гіперімунокомплексемії // Експрес новини: наука, техніка, виробнтицтво – Київ – 1997. – № 7-8. – С.11 – Деп. в Укр ІНТЕІ 05.02.97 р., №120-Уі97

153. Чоп'як В.В. Оцінка дії плацентарного полібіолоіну та тималіну на нейтрофілзалежні процеси за умов хронічного імунокомплексного процесу // Ліки. – 1997. – № 2. – С. 18-23.

154. Чоп'як В.В. Роль адгезивних молекул у розвитку та лікуванні системних васкулітів // Експериментальна клін. фізіол. і біохімія. – 1997. – Т. 2. – С. 121-125.

155. Шатунова Е.П. Исследование кислородного метаболизма нейтрофилов в оценке фагоцитарного звена иммунитета у больных воспалительными образованиями придатков матки // Рос. вестник акушера-гинеколога. – 2002. – Т. 2, № 1. – С. 41-42.

156. Шебеко В.И. Дисфункция эндотелия при активации системы комплемента // Иммунопатология. – 2000. – № 1. – С. 21-23.

157. Шестакова М.В. Дисфункция эндотелия – причины или следствие метаболического синдрома? // Русский мед. журн. – 2001 – Т. 9, № 2. – С. 17-23.

158. Шубич // Цитология. – 1975. – № 10. – С. 1321-1322

159. Щепкин И.А., Чердынцева Н.В., Васильев Н.В. Регуляция функциональной активности нейтрофилов цитокинами // Иммунология. – 1996. – № 1 – С. 4-6.

160. Щербінська А.М. Імунобіологічні препарати – необхідна складова у системі охорони здоров'я населення // Ліки. – 1996. – № 1. – С. 13-17.

161. Югай М.М., Каральчик Б.В. Fc-рецепторы – новые данные о структуре и функции // Иммунология. – 1992. – № 5. – С. 7-10.

162. Юшкова Т.А. Факторы клеточного и гуморального иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях // Тез. докл. XIII рос. науч. конф. – Челябинск, 1997. – 186 с.

163. Ярылин А. Межклеточная кооперация при иммунном ответе // Вестн. Рос. АМН. – 1999. – № 4. – С. 25-29.

164. Ярылин А. Симбиотические взаимоотношения клеток иммунной системы // Иммунология. – 2001. – № 4. – С. 16-17.

165. Abramoson S.B., Belmont H.M. SLE: mechanisms of vaskular injury // Hospital Practice (Office Edition). – 1998. – Vol. 33, №4. – P. 107-110.

166. Activation of endothelial cell phospholipase D by migrating neutrophils / Y. Cui, R.A. English, M. Siddiqui et al. // J. Invest. Med. – 1997. – Vol.45. – P.388-393.

167. Activation of human neutrophils by soluble immune complex: role of Fc-gamma RII and Fc-gamma RIIIb in stimulation of the respiratory burst and elevation of intracellular Ca 2+ / S. Edwards, F. Watson, L. Gasmi et al. // Annals of the New York Academy of Sciences. – 1997. – Vol. 832. – P. 341-357.

168. Adherent neutrophils activate endothelial myosin light chain kinase: role in transendothelial migration / J.G. Garcia, A.D. Verin, M. Heerenyova, D. English // J. Appl. Physiol. – 1998. – Vol.84. – P.1817-1821.

169. Adjuvant therapy in systemic vasculitis treament / V. Chopjak, M. Bidiuk, S. Pavlovich et al // 4 th Intern. workshop. on dentitis cells. – Lido, Venecia, 1996. – P. 193.

170. Animal models of systemic vasculitis / P.W. Mathieson, F.J. Qasim, V.L. Esnault, D.B.Oliveira // J. Autoimmun. – 1993. – Vol.6, № 2. – P. 251-264.

171. A novel role for E- and P-selectins: shape control of endothelial cell monolayers / G. Kaplanski, C. Farnavier, A.M. Benoliel, et al. // J. Cell Sci. – 1994. – Vol.107. – P.2449-57.

172. Antigen presentation comments on its regulation and mechanism / E.R. Unanue, D.I. Beller, C.Y. Lu, P.M. Allen // J. Immunol. – 1991. – Vol. 132. – P.1-5.

173. Anti- neutrophil cytoplasm antibodies in patients with ACR criteria for polyarteritis nodosa : help for systemic vasculitis classification? / T.A. Baranger, M.A. Audrain, A. Testa et al. // Autoimmunity. – 1995. – Vol.20, №3. – P. 33-37.

174. Bahremand M., Schumacher H.R.Jr. Effect of medication on synovial fluid leukocyte differentials in patients with reumatoid arthritis // Arthritis Rheumatism. – 1991. – Vol. 34, № 9. – P. 1173-1176.

175. Becker C., Ziijistra JA. Новые аспекты патогенеза хронической венозной недостаточности и направленности действия оксирутинов // Consilium medicum. – 2001. – Т. 3, № 11. – С.21-25.

176. Bodmen J.G., Marsh S.G., Albert E.D // Tissue Antigens. – 1997. – Vol.49, № 3. – P. 297-321.

177. Bodzena – Lukaszyk. Rola srodblonka naczyniowego i plytek krwi w procesie zapalenia alergicznego // Alergia Astma Immunologia – 2000. – № 5. – P. 49-50.

178. Boggiolini M., Dewald B., Moer B. // Adv. Immunol. – 1994. – Vol. 55. – P. 97-119.

179. Bresnahan P. A., Barber L.D., Brodsky F.M. // Hum. Immunol. – 1997. – Vol.53, № 2. – P. 129-139.

180. Butcher E.C. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity // Cell. – 1991. – Vol. 91. – P.301-314.

181. Capron M. // Progr. Allergy Clin. Immunol. – 1995. – Vol.3. – P. 26-29.

182. Carlos T.M. Harlan J.M. Leukocyte-endothelial adhesion molecules // Blood. – 1994. – Vol.84. – P.2068-2101.

183. Caux Ch., Vandervliet B., Massacrier C., Durand J. // Blood – 1996. – Vol.87, № 6. – P. 2376-2385.

184. CD59 expressed by humman endothelial cells functions asa protective molecule against complement-mediated lisis / R.A.

Brooimans, A.A.J. von der Ark, M. Tomina et al. //J.Eur. Immunol. – 1993. – №3. – P. 791-797.

185. Changes in the biomechanical properties of neutrophils and endothelial cells during adhesion / Q. Wang, E.T.Chiang, M. Lim et all //Blood. – 2001. – Vol. 97, №3. – P.660-668.

186. Charlton J., Sennello J., Smith D. In vivo imaging ofinflammation using an aptamer inhbitor of human neutrophil elastase // Chemstry & Biology. – 1997. – Vol.4, № 11. – P. 809-816.

187. Chopjac V. Placentar polibiolin influence upon immunoregulative processes of patients ill with immunocompexmediocrtized systemic vasculities // Abst. XV Inter. Cong. of Allergology and Clinical Immunology – Stocholm, 1994. – P.230.

188. Cochrane C.G., Gimbrone M.A. Cellular and molecular mechanisms of inflamation: Vascular adhesion molecules. Orlando: Acad. Press. – 1992. – 279 p.

189. Coronary artery aneurysms develop in weanling rabbits with serum sickness but not in mature rabbits. Anexperimental models for Kawasaki disease in humans / Z. Onouchi, K. Ikuta, K. Nagamatsu et al. // Angiology. – 1995. – Vol. 46, № 8. – P. 679-687.

190. CpG motif in DNA from immune complexes of SLE patients augments expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells / M. Miyata, T. Kanno, H. Ishida et al. // Rinsho Byori – Japanese Journal of Clinical Pathology. – 1996. – Vol.44, № 12. – P.11125-11131.

191. Dinarello C.A. // Blood – 1996. – Vol. 87, №6. – P. 2095-2148.

192. Endothelial [Ca 2+]i signaling during transmigration of polimorphonuclear leukocytes /W.H. Su, H.Chen, J.Huang, Ch.J. Jen // Blood. – 2000. – Vol.96, № 12. – P. 3816-3821.

193. Endothelial cell cytosolic free calcium regylates neutrophil migration across monolayers of endothelial cells / A.J. Huang, J.E. Manning, T.M. Bandak et al // J. Cell Biol. – 1993. – №120. – P.1371-1380

194. Endothelial cell E- and P-selectin and vascular cell adgesion molecule-1 function as signaling receptors / P. Lorenzon, E. Vecile, E. Nardon et al. // J. Cell Biol. – 1998. – Vol.142. – P.1381-1391.

195. Endothelial leucocite adgesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins / M.P. Bevilaegua, S. Stengelin, M.A. Gimbrone, B. Seed // Science. – 1993. – Vol. 243. – P. 1160-1165.

196. Endothelial myosin light chain kinase regulates neutrophil migration across human umbilical vein endothelial cell monolayer / H.Saito, Y.Minamiya, M Kitamura et al. // J. Immunol. – 1998. – Vol.161. – P.1533-1540.

197. Endothelin-1 mRNA expression by peripheral blood monocytes in IgA nephropathy / T. Nakamura, I. Ebihara, I. Shirato et al. // Lancet. – 1993. – Vol. 342, № 38880. – P. 1147-1148.

198. Endothelin-1 release from cultured endothelial cells induced by sera from patients with systemic lupus erythematosus / T. Yoshio, J. Masuyama, A. Mimori et al. //Annals of the Rheumatic Diseases. – 1995. – Vol. 54, № 5. – P. 361-365.

199. Frohlich D., Spertini O., Moser R. The Fc-γ receptor-mediated respiratory of rolling neutrophils to cytokine-activated, immune complex-bearing endothelial cells depends on L-selectin but not on E-selectin // Blood. – 1998. – Vol. 91, № 7. – P. 2558-2564.

200. Garcia Y.G., Davis H.W., Patterson C.E. Regulation of endothelial cell gap formation and barrier dysfunction: role of myosin light chain phosphorylation // J. Cell Physiol. – 1995. – Vol. 163. – P. 510-522.

201. Generation of signals activating neutrophil functions by leukocyte integrins: LFA-1 and gp 150/95, but not CR3, are able to stimulate the respiratory burst of human neutrophils / G. Berton, C. Laudanna, C. Sorio, F. Rossi // J. Cell Biol. – 1992. – Vol.116. – P. 1007-1017.

202. Gewirtz A.T., Simons E.R. Phospholipase D mediates Fcγ-receptor activation of neutrophils and provides specificity between -valency immune complexes and fMLP signaling pathways // Journal of Leukocyte Biology. – 1997. – Vol.61, № 4. – P. 522-528.

203. Gille J., Swerlick R., Lawley T., Caughman S. // Blood. – 1996. – Vol. 87, № 1. – P. 211-217.

204. Gordon J., Galli S. // FASEBJ. – 1996. – Vol. 10, № 6. – P. 1258-1259.

205. Haynes W.G., Davenport A. P., Well D. J. Endotehlin: progress in pharmacology and physiology // T.I.P.S. – 1993. – Vol. 14. – P. 225-228.

206. Human Thy-1 is cytokine inducible on vascular endothelial cells and is a signaling molecule regulated by protein kinase / J.C. Mason, H. Yarwood, A. Tarnok et al. // C. J. Immunol. Metods. – 1996. – Vol. 257. – P. 874-883.

207. Human umbical vein and dermal microvascular endothelial cells show heterogeneity in response to PKC aktivation / J.C. Mason, G.Yarwood, K. Sugars, D.O. Haskard // American Physiological Sjciety. – 1997. – Vol. 43 – P. 1233-1240.

208. ICAM-1 mediates leukocyte-endothelium adhesive interactions in the reversed passive Arthus reaction / R.J. Smith, J.G. Chosay, C.J. Dunn et al. // Journal of Leukocyte Biology. – 1996. – Vol. 59, №3. – P. 333-340.

209. Impaired inflammatory responses in the reverse arthus reaction through genetic deletion of the C5a receptor / U. Hopken, B. Lu, N.

Gerard, C. Gerard // Journal of Experimental Medicine. – 1997. – Vol. 186, № 5. – P. 749-756.

210. Inagami T., Naruse M., Hoover R. Endothelium as an Endocrine Organ // Annu Rev. Phisiol. – 1995. – Vol. 57. – P. 171-189.

211. Infektionen und Vaskulitis / T. Gluck, R. Straub, J. Scholmerich, B. Lang // Zeitschrift fur Rheumatologie. – 1997. – Vol.56, № 3. – P. 105-113.

212. Initial contact and subsequent adhesion of human neutrophils or monocytes to human aortic endothelial cells releases an endothelial intracellular calcium store / R.C. Ziegelstein, S. Corda, R. Pili et al. // Circulation. – 1994. – №90. – P. 1899-1907.

213. Integrins as a primary signal transduction molecule regulating monocyte immediate-early gene induction / A.D. Iurochko, D.Y. Liu, D. Eierman, S. Haskill // Proc. Natl. Acad. Sci., USA – 1992. – Vol. 89. – P. 9034-9038.

214. Interleukin 8 and mast cell-generated tumor necrosis factor-alpha in neutrophil recruitment / Y. Zhang, B.F. Ramos, B Jakschik et al. // Inflammation. – 1995. – Vol. 19, № 1. – P.119-132.

215. Interleukin-1-inducible expression of gro-β via NF-kβ Activation is Dependent upon Tirosine kinase signaling / S. Joshi-Barve, V. Rangnekar, S Sells, V. Rangnekar // The J. of Biological Chemistry. – 1993. – Vol. 268, № 24. – P. 18018-18029

216. Is there any pathogenic role for anti-endothelial cell antibodies (AECA) in autoimmune vasculitis? / P.L. Meroni, N. Del Papa, E. Raschi, et al. // Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents. – 1997. – Vol.11, № 4. – P. 127-132.

217. Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G. Culture of Human Endothelial Cells Derived from Umbilical Veins // The Journal of Clinical Incestigation. – 1978. – Vol. 52. – P. 2745-2756.

218. Kang Y.H., Harlan D.M., White L. // F.A.S.E.B.J. – 1996 – Vol. 10, № 3. – P. 4423.

219. Kawana S. The membrane attack complex of complement alters the membrane integrity of cultured endothelial cells: a possible patophysiology for immune complex vasculitis // Acta Dermato-Venerologica – 1996. – Vol. 76, № 1. – P. 13-16.

220. Kawana S. Vascular endothelial cell injury in allergic vasculitis // Journal of the Nippon Medical School – 1998. – Vol. 65, № 3. – P. 195-200.

221. Kimata H., Lindley J., Furusho K. // Blood. –1995. – Vol. 85, № 11. – P. 3191-3198.

222. Knitson D.N., Kijlstra A., Van Es L.A. Association and dissociation of aggregated Ig G from rat peritoneal macrophages // Journal of Experimental Medicine. – 1997. – Vol. 145, № 5. – P. 1368-1381.

223. Kobayashi K., Takahashi K., Nagasawa S. The role of tyrosine phosphorylation and Ca2+ accumulation in Fc-γ-receptor-mediated phagocytosis of human neutrophils // Journal of Biochemistry. – 1995. – Vol. 117, № 6. – P. 1156-1161.

224. Lampugnani M.G., Dejana E. Interendothelial junctions: structure, signaling and functional roles // Curr. Opin Cell Bbiol. – 1997. – №9. – 674-682.

225. Lefer A.M., Lefer D.J. Pharrmacology of the endotelium in ishemia-reperfusion and circulatory shoch // Annu Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1993. – Vol. 33. – P.71-90.

226. Lefkowith J.B. Leucocyte migration in immune complex glomerulonephritis: role of adhesion receptors // Kidney International. – 1997. – Vol. 51, № 5. – P. 1469-1475.

227. Lerman A., Burnet J. Intact and altered endotelium in regulation of vasomotion // Circulation. – 1992. – Vol. 86, Suppl. III. – P. 11112-11119.

228. Lichtenstein L.M., Fauci A.S. Current therapy in allergy, immunology and reumatology – 5tf ed. st. Louis etc: Mosby, 1996. – 444 p. Ref. after art. – Ind.: P. 429-444.

229. Magro C.M., Crowson A.N. Sterile neutrophilic foliculitis with perifollicular vasculopathy: a distinctive cutaneous reaction pattern reflecting systemic disease // Journal of Cutaneous Pathology. – 1998. – Vol.25, № 4. – P.215-221.

230. McCombe P.A., Pender M.P. Lack of neurological abnormalities in lewis rats with experimental cronic serum sickness // Clin. Exp. Neurol. – 1991. – № 28. – P.139-145.

231. Mechanisms of ionomycin-induced endothelial cell barrier dysfunction / T.M. Garcia, N.K. Schaphorst, S. Shu et al. // Am J. Physiol. – 1997. – Vol.273. – P. L172-L184.

232. Model M.A., Ganelina L.S., Todd R.F. A microscopic study of Fc-γ RIII-mediated respiratory burst in neutrophils // Immunology. – 1998. – Vol. 199, № 1. – P. 39-50.

233. Modulation of human neutrophil apoptosis by immune complexes / R. Gamberale, M. Giordano, A. Trevani et al. // Journal of Immunology. – 1998. – Vol.161, № 7. – P. 3666-3674.

234. Monocyte-induced downgranulation of nitric oxide synthase in cultured aortic endothelial cells / N. Marczin, A. Antonov, A. Papapetropoulus et al // Arteriosclerosis, Thrombosis and Vase. Biol. – 1996. – Vol.16, № 9. – P.1095-1103.

235. Moore P.M. Neurological manifestation of vasculitis: update on immunopathogenic mechanisms and clinical feeaatures // Annals of Neurology. – 1995. – Vol. 37, Suppl. 1. – P. S131-S141.

236. Munro J.M. Endothelial – leukocyte adhesive interactions in inflammatory disease // Eur. Heart J. – 1993. – Vol.14. – P.72-77.

237. Myeloperoxidase autoantibodiesdistinguish vasculitis mediated by anti-neutrophil cytoplasm antibodies from immune complex disease in MRL/Mp-lpr/lpr mice: a spontaneous model for human microscopic angiitis / J. Harper, S. Thiru, C. Lockwood, A. Cooke // European Journal of Immunology. – 1998. – Vol. 28, № 7. – P. 2217-2226.

238. Nabel E.G. Biology of impaired endothelium // Am. J. Cardiol. – 1991. – Vol. 68. – P.6C-8C.

239. Nakagawa T., Gershwin M. Immunotherapy of allergic diseases // Arch. Allergy Immunol. – 1993. – Vol. 102. – P. 117-120.

240. Neurogenic amplification of immune complex inflammation / C.R. Bozic, B. Lu, U.E. Hopken et al. // Science. – 1996. – Vol.273, № 5282. – P. 1722-1725.

241. Neutrophil chemotaxis induced by immune complexes / A.S. Trevani, P.A. Fontan, G.A. Andonegui et al. // Clinical Immunology & Immunopathology. – 1995. – Vol. 74, № 1. – P. 107-111.

242. Neutrophil functional responses depend on immune complex valency / G.R. Strohmeier, B.A. Brunkhorst, K.F. Seetoo et al. // Journal of Leukocyte Biology. – 1995. – Vol. 58, № 4. – P.403-414.

243. Neutrophil transendothelial migration is independent of tight junctions and occurs prefentially at tricellular corners / A.R. Burns, D.C. Walker, E.S. Brown et al. // J. Immunol. – 1997. – Vol.159. – P.2893-2903.

244. Neutrophilic status condition in chronic hyperimmunocompexemia / M. Bidiuk, W. Besedin, V. Chopjak et al. // 25 th Annu. al Meeting. Intern. Society for experimental Hematology. New York, USA. – 1996. – Vol.1075. – P.275.

245. Neutrophils in rheumatoid inflammation / D. Biasi, A. Carletto, P. Caramaschi, F. Bonella et all. //Recenti Prog. Med. – 2003. – Vol.94. – P. 25-30.

246. Nitric oxide mediates immune disfunction in the spontaneously hypertensive rat / D.W. Pascual, V.H. Pascual, K.L. Bost et al. // Hypertension. – 1993. – Vol. 21. – P.185-194.

247. Norman K.E., Williams T.J., Rossi A.G. Comparison of the reversed passive Arrthus and local Shwartzman reactions of rabbit skin: effects of the long-acting PAF antagonist UK-74, 505. // British Journal of Pharmacology. – 1997. – Vol. 120, № 7. – P. 286-293.

248. Parra Borges G., Mosguera J., Rodriguez-Iturbe B. Role of complement in experimental glomerulonephritis // Invest. Clin. – 1991. – Vol. 32, № 2. – P.91-105.

249. Pober J.S., Cotran R.S. Cytokines and endotelial cell biology // Physiol. Rev. – 1990. – Vol.32. – P. 427-451

250. Precipitated immune complexes of IgM induce the generation of reactive oxygen species by rabbit polymorphonuclear leucoccytes / Y. Lucisano, A. de-Mello, E. Vasgues, B. Mantovani // Brazilian Journal of Medical & Biological Research. – 1998. – Vol. 31, № 6. – P.793-797.

251. Protective effects of an aptamer inhibitor of neutrophil elastase in lung inflammatory injury / N.M. Blees, D.Smith, J. Charlton et al. // Current Biology. – 1997. – Vol. 7, № 11. – P. 877-880.

252. P-selectin reguirement for neutrophil accumulation and injury in the direct passive Arthus reaction / L.L. Santos, X.R. Huang, M.C. Berndt, S.R. Holdsworth. // Clinical & Experimental Immunology. – 1998. – Vol. 112, № 2. – P. 281-286.

253. Quantitation of neutrophil migration in acute bacterrial pneumonia in rabbits / C.M.Doerschuk, J Markos, H.O.Coxson et al // J. Appl. Physiol. – 1994. – Vol.77. – P.2593-2599.

254. Role of endothelium in ishemic coronary syndromes / I.T. Meredith, T.J. Anderson, A. Uehata et al // Amer. J. Cardiol. – 1993. – № 72. – P. 27C – 32C.

255. Rubanyi G.M. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1993. – Vol.22, Suppl.4. – P.51-54.

256. Rumsaeng V., Cruikshank W.W., Foster B. // F.A.S.E.B.J. – 1996. – Vol. 10. – P.1776.

257. Schieppati A., Mosconi L., Perna A. Prognosis ofuntreated patients with idiopathic membranous nephropathi // The New England J. of Medicine. – 1993. – Vol. 329, № 2. – P. 85-90.

258. Staszewski H. Diffuse pulm;nary infiltrates in immunocompromised patients // Postgraduate Medicine. – 1993. – P. 21-23

259. Stimulated neutrophils induce miosin light chain phosphorylation and isometric tension in endothelial cell // Am J. Physiol. – 1997. – Vol.273. – P. H981-H988.

260. Stromblad S., Cheresh D.A. Cell adhesion and angiogenesis // Trends Cell Biol. – 1996. – Vol. 6. – P. 462-468.

261. Sukurai T., Yanagisawa M., Masaki T. Molecular characterization of endothelin receptors // T.I.P.S. – 1992. – Vol.13. – P.103-108.

262. The participation of neutrophilic mechanisms in the pathogenesis of chronic elevated blood immune complexes / M. Bidiuk, V. Chopjak, L. Liubinets et al. // Fiziolohichnyi Zhurnal. – 1997. – Vol. 43, № 3-4. – P. 11-18.

263. The roles of complement receptors type 1 (CR1, CD35) and type 3 (CR3, CD11b/CD18) in the regulation of the immune complex-elicited respiratory burst of polymorphonuclear leukocytes in whole blood / C.H. Nielsen, S. Antonsen, S.H. Matthiesen, R.G. Leslie // European Journal of Immunology. – 1997. – Vol. 27, № 11. – P. 2914-2919.

264. The roles of cytoskeletal proteins in neutrophil emigration during pneumonia in rabbits / G.A. Mueller, W.M. Quinlan, N.A. Doyle, C.M. Doerschuk // Am J. Respir. Crit. Care Med. – 1994. – Vol.150. – P. 455-461.

265. The time course and characterization of mercuric chloride-induced immunopathology in the brown Norway rat / F.J. Qasim, S. Thiru, P.W. Mathieson, D.B. Oliveira // Journal of Autoimmunity. – 1995. – Vol. 8, № 2. – P. 193-208.

266. Through and beuond the wall: late steps in leukocyte transendothelial migration /E. Biachi, J. R. Bender, F. Blaasi, R. Pardi // Immunol. Today. – 1997. – Vol.18. – P.586-591.

267. Vane J.R., Anggard E.E., Botting R.M. Regulatory functions of the vascular endothelium // N. Eng. J. Med. – 1990. -Vol. 323. – P.27-36.

268. Vanhoutte P.M. Endothelium-dependent effect of couvering-enzyme inhibitors // J. Cardivasc. Pharmacol. – 1993. – Vol.22, Suppl. 5. – P.S10-S16.

269. Vanhoutte P.M. Other endothelium-derived vasoactive factors // Circulation. – 1993. – Vol.87. – P.V9-V17.

270. Vasoactive substances praduced by cultured rat brrain endotelial cells / B. Kis, C. Szabo, I. Patarioza and all // Europ. J. of Pharmacology. – 1999. – Vol. 368, № 1. – P.35-42.

271. Voice J.K., Lachmann P.J. Neutrophil Fc-γ and complement receptor involved in binding soluble IgG immune complex and in specific granule release induced by soluble IgG immune complex //European Journal of Immunology. – 1997. – Vol. 27, № 10. – P.2514-2523.

272. Wang Q., Doerrschuk C.M. Neutrophil-induced changes in the biomechanical properties of endothelial cell: the roles of ICAM-1and Reactive oxigen species // J. Immunol. – 2000. – Vol.164. – P.6487-6494.

273. Watson F., Edwards S. Stimulation of primed neutrophils by solule immune complex: priming leaads to enhanced intracellular Ca2+ elevations, activation of phospholipase D and activation of the NADPH oxidase // Biochemical & Biophysiccal Reesearch Communications. – 1998. – Vol. 247, №3. – P.819-826.

274. Watson F., Edwards S. Stimulation of primed neutrophils by solule immune complex // Biological . – 1996. – Vol. 24, № 4. – P.307-311.

275. Watson F., Gasmi L., Edwards S. Stimulation of intracellular Ca2+ levels in humman neutrophils by soluble immune complex. Functional activation of Fc-γ RIIIb during priming // J. of Biological Chemistry. – 1997. – Vol. 272, № 29. – P.17944-17951.

276. Whelan C.J. Is granulocyte or endothelial cell activator responsible for the initiation of granulocyte recruitment during acute inflamation // Agents Actions. – 1992. – Vol.37, №3-4. – P.319-324.

277. Zeman K. Nowe spoyrzenie na role neutrofilow w patogenezie chorob reumatychnuch // Reumatologia.- 1997. – Vol.35. – P.479-480.

278. Zhang W., Lachmann P. Neutrophil lactoferrin release induced by IgA immune complexes can be mediated either by Fc-alpha receptors or by complement receptors through different pathways // Journal of Immunology. – 1996. – Vol. 156, № 7. – P.2599-2606.