

20. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Петрова. – М. : Медицина, 1996. – 456 с.

#### REFERENCES

1. Kuru B., Yilmaz S., Argin K., Noyan U. Enamel matrix derivative alone or in combination with a bioactive glass in wide intrabony defects. *Clin. Oral Investig.* 2006; 10 (3): 227-234.
2. Vikender S.Y., Satish C.N., Rajinder K.S. [et al.]. Clinical evaluation of guided tissue regeneration combined with autogenous bone or autogenous bone mixed with bioactive glass in intrabony defects. *J. of Oral Sci.* 2011; 53 (4): 481-488.
3. Pavlenko O.V., Dmitriyeva E.O. Morphological basis in choice of osteoplastic materials in periodontology. *Morphologia.* 2011; 5 (1): 5-12.
4. Dorozhkin S.V. Nanodimensional and nanocrystalline apatites and other calcium orthophosphates in biomedical engineering, biology and medicine. *Materials* 2009; 2: 1975-2045.
5. Shepherd J.H., Shepherd D.V., Best S.M. Substituted hydroxyapatites for bone repair. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 2012; 23 (10): 2335-2347.
6. Grudyanov A.I., Zorin V.L., Zorina A.I., Stepanova I.I. Cell technologies in periodontology. *Stomatology* 2009; 1: 71-73.
7. Petrenko A.Yu., Khunov Yu.A., Ivanov E.N. Stem Cells. Properties and prospects of clinical application: monograph. Lugansk: Press-express; 2011. 368 p.
8. Balagna C., Vitale-Brovarone C., Miola M. et al. Biocompatibility and antibacterial effect of silver doped 3D-glass-ceramic scaffolds for bone grafting. *J. Biomater. Appl.* 2011; 25 (6): 595-617.
9. Newby P.J., El-Gendy R., Kirkham J. et al. Ag-doped 45S5 Bioglass-based bone scaffolds by molten salt ion exchange: processing and characterization. *J. Mater. Sci. : Mater. Med.* 2011; 22 (3): 557-569.
10. Chengtie W., Yinghong Z., Mengchi X. et al. Copper-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with multifunctional properties of angiogenesis capacity, osteo-

stimulation and antibacterial activity. *Biomaterials.* 2013; 34 (2): 422-433.

11. Shaykhaliev A.I., Ter-Asaturov G.P., Rodionov A.D. et al. The ways of restoration of morphofunctional characteristics of osseous tissue with new composite materials. *Klinicheskiy jurnal. Vestnik med. stomat. in-ta.* 2012; 1 (20): 56-62.
12. Kostryukov D.A., Makhova F.M. The comparative clinical study of the effectiveness of the application of bio-compositional materials at the complex treatment of periodontal diseases. *Ros. stomat. jurn.* 2007; 6: 25-27.
13. Mudraya V.N., Stepanenko I.G., Shapovalov A.S. The use of osteoplastic materials in modern dentistry. *Ukr. jurn. klin. ta labor. meditsuny.* 2010; 5 (1): 52-57.
14. Potemkina N.M., Sobachkina L.P., Timoshkina Ye.V. The application of "Chondrolap" at the complex treatment of periodontal tissues diseases. *Zdravookhr. Dal. Vost.* 2006; 1: 62.
15. Dmitrieva L.A., Revazova Z.E., Katieva T.A. et al. The experience of the use of osteoplastic material "Osteoplast-K" at surgical invasions to periodontium. *Stomatologiya.* 2007; 86 (6): 53-55.
16. Volodina D.N., Panin A.M., Larionov E.V. et al. The morphological studies of biocompatibility of materials for the replacement of osseous defects of maxillary bones on the basis of osseous collagen, saturated with sulphated glycosamineglycans. *Stomatologiya.* 2008; 87 (3): 9-12.
17. The bioactive ceramic composite for the restoration of osseous tissue "Synthebone". TU U 33. 1-31280163-001:2005.
18. Palamarchuk S.I., Borisenko A.V. The osteostimulating composition for the regeneration of alveolar bone at the experiment. *Visnyk stomatologii.* 2012; 2 (79): 10-15.
19. Grudyanov A.I., Erokhin L.I., Byakova S.F. The use of the preparations of the company "Geistlich" (Bio-Oss, Bio-Gide). *Novoye v stomatologii.* 2001; 8: 72-77.
20. Sarkisov D.S., Petrov Yu.L. editors: Microscopic technique. Moscow, Medicine, 1996. 456 p.

Надійшла 14.03.2014

УДК 579.861.2:612.017:616-002.3-092.9

М. М. Мішина

## ВИЗНАЧЕННЯ СТАНУ КЛІТИННОГО Й ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ, НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ТА АКТИВНОСТІ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ПРИ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНОМУ ПРОЦЕСІ, СПРИЧИНЕНОМУ *S. AUREUS*

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

УДК 579.861.2:612.017:616-002.3-092.9

М. М. Мишина

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТОЯНИЯ КЛЕТЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА, НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И АКТИВНОСТИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ, ВЫЗВАННОМ *S. AUREUS*

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

Цель исследования — оценка иммунного статуса при экспериментальном гнойно-воспалительном процессе, вызванном *S. Aureus*, путем изучения состояния клеточного и гумо-



рального імунітета, неспецифічної резистентності та активності провоспалительних цитокінів.

В результаті проведеного дослідження виявлені зміни параметрів клітинного імунітету у інфікованих тварин: в системі клітинного імунітету порушення характеризувалися зниженням кількості CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> та активацією параметрів апоптозу лімфоцитів з продукцією провоспалительних цитокінів. На основі проведеного дослідження встановлено порушення імунного статусу з угнетенням загальної популяції лімфоцитів та Т-хелперів, В-лімфоцитів та неспецифічної резистентності організму.

**Ключові слова:** імунний статус, цитокіни, фагоцитоз, гнійно-воспалительний процес, *S. aureus*.

UDC 579.861.2:612.017:616-002.3-092.9

M. M. Mishina

**DETECTION OF CELLULAR AND HUMORAL IMMUNITY, NONSPECIFIC RESISTANCE AND ACTIVITY OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN PYOINFLAMMATORY PROCESS CAUSED BY *S. AUREUS***

*The Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine*

**Background.** Current research allows to consider pyoinflammatory processes as dynamical ones triggered by bacterial antigens with disturbance in regulation of systemic inflammatory response and with uncontrolled release of endogenous inflammatory mediators. The value of humoral and cellular immunity factors, role of cytokines in the pathogenesis of pyoinflammatory processes caused by *S. aureus*, has not been well studied yet.

Thus, **the aim of research** is estimation of immune state in experimental pyoinflammatory process, caused by *S. aureus* by examining indexes of cellular and humoral immunity, nonspecific resistance and activity of proinflammatory cytokines.

**Materials and methods.** Experimental model of pyoinflammatory process was conducted on mice, male of inbred lines C57 Blak. Septic and toxicological model of peritonitis was used in adaptation for *S. aureus* and under the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental research or other scientific purposes. Immune cells were differentiated using monoclonal antibodies of firm Serotec, cytokines and IgG levels were detected by ELISA. Digital data were processed by methods of variation statistics.

**Results and discussion.** Immunological studies in experimental pyoinflammatory process revealed changes of cellular immunity in infected animals compared to intact control group. Pyoinflammatory process led to disturbances at all levels of the immune system including cellular and humoral responses and phagocytosis. Thus, in system of cellular immunity changes were characterized by lymphocytopenia with reducing in number of general T-lymphocytes (CD3<sup>+</sup>), T-lymphocytes helpers (CD4<sup>+</sup>), CD25<sup>+</sup> and an increase of T-lymphocytes suppressors (CD8<sup>+</sup>) and CD16<sup>+</sup>, and low rates of immunoregulatory index. This low level of CD3<sup>+</sup>, almost two-fold decrease in CD4<sup>+</sup> T-lymphocytes with increasing content of CD8<sup>+</sup> and decreasing of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> index are associated with secondary immunodeficiency. At the same time, the secretion of CD16<sup>+</sup> lymphocyte subpopulation increases. In addition, the activation of lymphocytes apoptosis parameters was revealed. Production of proinflammatory cytokines greatly exceeded the normal values, so the level of IL-1β was increased an average of 10.4 times, IL-6 at 17.4 times, TNF-α at 17.8 times compared to intact animals (p <0,001). Studies have shown that depression of phagocytosis, especially the reduction of lymphocytes phagocytic activity, phagocytic number and phagocytic index clearly seen in the experimental pyoinflammatory process, caused by *S. aureus*.

**Conclusions.** Based on the research disturbance in immune state with inhibition of lymphocytes general population (CD3<sup>+</sup>) and T-helpers (CD4<sup>+</sup>), B-lymphocytes (CD19<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup>) and non-specific resistance of the organism together with the activation of cytokines levels and increase in subpopulation of cells — activators of apoptosis (CD95<sup>+</sup>) was found.

**Key words:** immune state, cytokines, phagocytosis, pyoinflammatory process, *S. aureus*.

## Вступ

Сучасні дослідження дозволяють розглядати гнійно-запальні процеси (ГЗП) як динамічні, що ініціюються бактеріальними антигенами, з порушенням регуляції системної запальної реакції та з неконтрольованим викидом ендогенних медіаторів запалення. До речі, порушення імунної відповіді внаслідок ГЗП має вторинний характер [5]. Відомо, що центральну роль в елімінації збудників відіграє Т-клітинна ланка імунітету, а основними молеку-

лами, що координують дію імунних клітин, є цитокіни, які й визначають ефективність імунної відповіді та перебіг запального процесу в організмі. Захисна роль прозапальних цитокінів проявляється тоді, коли ці медіатори працюють локально, у вогнищі запалення, однак їх системна продукція не означає високої ефективності протиінфекційного імунітету. Всупереч цьому, надлишкова та генералізована продукція прозапальних цитокінів призводить до розвитку бактеріально-токсичного шоку й органних

дисфункцій, що стає причиною летального кінця на ранніх етапах ГЗП [1; 2]. Значення чинників гуморального та клітинного імунітету, роль цитокінів у патогенезі ГЗП, спричиненому *S. aureus*, ще недостатньо вивчені.

**Метою** дослідження є оцінка імунного статусу при експериментальному ГЗП, спричиненому *S. aureus*, шляхом вивчення стану клітинного й гуморального імунітету, неспецифічної резистентності й активності прозапальних цитокінів.



## Матеріали та методи дослідження

Моделювання ГЗП проводили на мишах-самцях інбредної лінії C57Blak масою 20–22 г, які перебували в умовах стандартного лабораторного утримання і раціону харчування, з відтворенням генералізованої інфекції, адаптованої для клінічного штаму *S. aureus* ATCC 25923 (F-49). Дослідні тварини були заражені внутрішньочеревно й виведені з експерименту на 5-ту добу шляхом миттєвої дислокації [7]. Усі больові процедури виконані згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних досліджень або в інших наукових цілях [8]. Імунні клітини були визначені за допомогою моноклональних антитіл фірми Serotec, рівні цитокінів та імуноглобулінів — методом імуноферментного аналізу згідно з інструкціями до наборів [3; 4]. Статистична обробка даних проведена за допомогою комп'ютерних програм [6].

### Результати дослідження та їх обговорення

Імунологічні дослідження при експериментальному ГЗП дозволили виявити зміни параметрів клітинного імунітету в інфікованих тварин порівняно з групою інтактного контролю. Гнійно-запальний процес призводив до порушень у всіх ланках імунного захисту: клітинній і гуморальній відповіді, фагоцитозі. Так, у системі клітинного імунітету порушення характеризувалися зниженням кількості CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> і збільшенням рівня CD8<sup>+</sup> і CD16<sup>+</sup>, а також низькими показниками імунорегуляторного індексу (табл. 1).

Саме низький рівень загальних (CD3<sup>+</sup>) Т-лімфоцитів, майже двократне зменшення хелперних (CD4<sup>+</sup>) зі збільшенням вмісту супресорних (CD8<sup>+</sup>) субпопуляцій і зниженням CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> асоціюється із вто-

ринним імунодефіцитом. Водночас утричі зростає секреція субпопуляції лімфоцитів CD16<sup>+</sup>. Поряд із цим виявлена активація параметрів апоптозу лімфоцитів. Запрограмована загибель імунокомпетентних клітин — процес настільки ж важливий і невід'ємний від формування та функціонування імунної системи, як їх проліферація і диференціювання. Надмірний апоптоз імунокомпетентних клітин є основною причиною імуносупресії при ГЗП.

Динаміка кількості В-лімфоцитів та їх субпопуляцій при ГЗП реалізовувалася в межах знижених значень у середньому у 5 разів (табл. 2).

Дослідження імунологічних механізмів розвитку і перебігу низки ГЗП було б не повним без вивчення секреції та функції цитокінів. Дане дослідження показало, що продукція прозапальних цитокінів багаторазово перевищувала нормальні значення. Зокрема, рівень IL-1β був підвищений у середньому в 10,4 разу, IL-6 — в 17,4 разу, TNF-α — в 17,8 разу порівняно з інтактними тваринами (p<0,001). Прозапальні цитокіни відіграють захисну роль, оскільки забезпечують надходження у вогнище інфекції додаткової кількості ефektorних клітин (нейтрофілів, макрофагів), стимулюють їх фагоцитарну, бактерицидну активність й індукують запуск антигенспецифічної відповіді, що в сукупності сприяє елімінації патогену.

Активация цитокінового балансу асоціюється з прогресуванням ГЗП, що призводить до тривалої персистенції *S. aureus* як у циркулюючій крові, так і в перитонеальному ексудаті, сприяючи прогресуванню інфекційного процесу. Основні причини імунодепресивного стану пов'язані з порушенням функціональної активності системи комплементу та кількісними і якісними змінами в фагоцитарній системі (табл. 3).

Таблиця 1  
Динаміка показників Т-клітинного імунітету при експериментальному гнійно-запальному процесі, спричиненому *S. aureus*, %, M±m

Показник	Інтактні	Інфіковані
Лімфоцити	31,5±1,9	16,2±1,0*
CD3 <sup>+</sup>	67,5±2,9	28,8±1,0*
CD4 <sup>+</sup>	39,10±1,89	20,40±1,11*
CD8 <sup>+</sup>	28,80±1,75	45,2±2,9*
CD16 <sup>+</sup>	12,9±1,1	39,2±2,1*
CD25 <sup>+</sup>	13,4±1,3	4,50±0,27*
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	1,36±0,17	0,45±0,04*
CD95 <sup>+</sup>	5,7±0,84	28,9±1,2*

Примітка. У табл. 1–3: \* — p<0,05 порівняно з інтактними тваринами.

Таблиця 2  
Характер і динаміка змін показників В-клітинного імунітету при експериментальному гнійно-запальному процесі, спричиненому *S. aureus*, M±m

Показник	Інтактні	Інфіковані
В-лімфоцити, %	26,7±1,9	5,61±0,34*
CD19 <sup>+</sup> , %	8,61±0,45	1,81±0,09*
CD22 <sup>+</sup> , %	18,8±0,7	8,26±0,12*
IgA, г/л	3,80±0,56	2,82±0,11*
IgM, г/л	1,90±0,12	2,16±0,09
IgG, г/л	13,6±1,1	3,30±0,17*

Таблиця 3  
Фагоцитарна активність поліморфноядерних лейкоцитів при експериментальному гнійно-запальному процесі, спричиненому *S. aureus*

Показник	Інтактні	Інфіковані
ФАЛ	73,1±3,1	41,3±2,9*
ЗФ	72,2±3,0	28,7±1,3*
ФЧ	4,9±0,12	1,89±0,13*
ФІ	60,7±2,8	31,3±1,9*

Примітка. ФАЛ — фагоцитарна активність лейкоцитів; ПЗФ — показник завершеного фагоцитозу; ФЧ — фагоцитарне число; ФІ — фагоцитарний індекс.





Фагоцитоз робить істотний внесок в імунологічний захист організму від ГЗП, спричиненого *S. aureus*, а лімфоцити відіграють у ньому провідну роль. Проведені дослідження показали, що депресія фагоцитозу, а саме зниження ФАЛ, ПЗФ і ФЧ, ФІ, чітко простежується при експериментальному ГЗП, спричиненому *S. aureus*. При незбалансованій протизапальній відповіді рекомендується застосування імунокоректорів, які поряд із посиленням неспецифічних механізмів протиінфекційного захисту ефективно стимулюють розвиток специфічної імунної відповіді й активують репаративні процеси в ушкоджених тканинах.

### Висновки

На підставі проведеного дослідження встановлено порушення імунного статусу з пригніченням загальної популяції лімфоцитів (CD3<sup>+</sup>) й Т-хелперів (CD4<sup>+</sup>), В-лімфоцитів (CD19<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup>) та неспецифічної резистентності організму з активацією рівнів цитокинів й підвищенням субпопуляції клітин — активаторів апоптозу (CD95<sup>+</sup>).

**Перспективи подальших досліджень** пов'язані з розробкою схем комбінованої терапії для нормалізації імунного ста-

тусу при ГЗП, спричиненому *S. aureus*.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Акимова В. Н. Маркеры системного воспалительного ответа при острых абдоминальных заболеваниях [Электронный ресурс] / В. Н. Акимова, Н. З. Луцив, О. П. Цимбала // Современные проблемы науки и образования. — 2013. — № 6. — Режим доступа : <http://www.science-education.ru/113-11322>.
2. Бондаренко А. Л. Актуальные вопросы этиопатогенеза и лечения сепсиса / А. Л. Бондаренко // Сепсис. Проблемы диагностики, терапии та профілактики : матеріали наук.-практ. конф. — Харків, 2006. — С. 49–50.
3. Иммунологические методы исследований / под ред. И. Лефковитса, П. Перниса ; пер. с англ. / Швейцария. Базельский ин-т иммунологии. — М. : Мир, 1988. — 527 с.
4. Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов человека с помощью панели моноклональных антител / А. В. Филатов, П. С. Багурин, Н. А. Маркова [и др.] // Гематология и трансфузиология. — 1990. — № 1. — С. 16–19.
5. Кузнецов А. А. Дискуссионные аспекты проблемы сепсиса / А. А. Кузнецов // Сепсис. Проблемы диагностики, терапии та профілактики : матеріали наук.-практ. конф. — Харків, 2006. — С. 19–22.
6. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — К. : МОРИОН, 2000. — 320 с.
7. Першин Г. Н. Методы экспериментальной химиотерапии : практ. руководство / Г. Н. Першин. — М. : Медицина, 1971. — 539 с.
8. European Convention for the protection of vertebrate animals used

for experimental and other scientific purposes // Strasbourg. Council Treaty Series. — 1986. — № 123. — 52 p.

### REFERENCES

1. Akimova V.N., Lutsyv N.Z., Tsybala O.P. Markers of systemic inflammatory response in acute abdominal diseases [Electronic resource]. Modern problems of science and education. 2013; 6. Access mode: <http://www.science-education.ru/113-11322>.
2. Bondarenko A.L. Actual questions of etiopathogenesis and treatment of sepsis Sepsis. Problems of diagnosis, therapy and prevention. Materials of scientific practical conference. Kharkiv, 2006, p. 49-50.
3. Lefkoviys I., Pernys P. (ed.) translation from English. Immunological methods of research. Switzerland. Basel institute of immunology. Moscow: Mir, 1988. 527 p.
4. Filatov A.V., Bagurin P.S., Markova N.A. et al. Study of subpopulation composition of human lymphocytes with help of monoclonal antibodies panels. *Gematologiya i transfuziologiya* 1990; 1: 16-19.
5. Kuznetsov A.A. Discussion aspects of sepsis problems. Sepsis. Problems of diagnosis, therapy and prevention: Materials of scientific practical conference. Kharkiv, 2006. p. 19-22.
6. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. Statistic methods in medical biological studies using Excel. K., MORYON, 2000. 320 p.
7. Pershin G.N. Methods of experimental chemotherapy: practical manual. Moscow. Medicine, 1971, 539 p.
8. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg. Council Treaty Series 1986; 123. 52 p.

Надійшла 3.03.2014

УДК 579.842.16:617.017.1:616-002.3-092-092.9

Ю. А. Мозгова

## РОЛЬ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ 17 І 18 У ПАТОГЕНЕЗІ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ, СПРИЧИНЕНИХ *K. PNEUMONIAE*

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

УДК 579.842.16:617.017.1:616-002.3-092-092.9

Ю. А. Мозговая

### РОЛЬ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 17 И 18 В ПАТОГЕНЕЗЕ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ, ВЫЗВАННЫХ *K. PNEUMONIAE*

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

Проведенное исследование показало, что в группе инфицированных животных уровень IL-17 и IL-18 значительно превышал показатели у интактных мышей, что свидетельствует об активном воспалительном процессе у экспериментальных животных. Применение амикацина и

