

УДК 616.441-002-092.18-092.9:615.21

*І.О. Сулхдост**Харківський національний медичний університет*

ДІЯ СЕЛЕКТИВНОГО БЛОКАТОРА ОПІОЇДНИХ κ -РЕЦЕПТОРІВ НОРБІНАЛТОРФІМІНУ НА ІМУНОГІСТОХІМІЧНУ ЗМІНУ СЕЛЕЗІНКИ ПРИ ГОСТРОМУ ЗАПАЛЕННІ

Вивчено морфофункціональний стан селезінки на моделі карагієнового гострого асептичного запалення з використанням селективного блокатора опіоїдних κ -рецепторів норбіналторфіміну. Показано, що посилені клітинні і ослаблені гуморальні імунні реакції, зменшена хелперна і ще більше супресорна активність. Результати свідчать про те, що в природних умовах запалення опіоїдні пептиди через κ -рецептори обмежують функціональну активність селезінки, міграцію В- і Т-лімфоцитів, послаблюють клітинні і підсилюють гуморальні імунні реакції, збільшують хелперну і ще більше супресорну активність.

Ключові слова: запалення, імунна система, опіоїдні пептиди, норбіналторфімін.

Опіоїдні пептиди є поширеним і останніми роками активно досліджуваним класом регуляторних пептидів. Беручи участь у регуляції функцій нервової, імунної, серцево-судинної, ендокринної, видільної, дихальної систем і являючись компонентом антиноцицептивної системи, опіоїдні пептиди регулюють усі види обміну, функцій та поведінки [1]. Особливий інтерес мають дані літератури про причетність опіоїдних пептидів до захисних факторів організму. Зараз енкефаліни розглядаються як можливі трансмітери між нервовою та імунною системами [2]. Дані про вплив опіоїдів на імунологічну реактивність суперечливі, але незважаючи на це, ендогенні опіоїдні пептиди визнаються фізіологічними регуляторами імунної відповіді [3]. Висунута гіпотеза про існування в організмі функціональної системи захисту, ефекторами якої є органи імуногенезу, а регуляційні механізми включають, зокрема, ендогенні опіоїдні пептиди [4]. Оскільки опіоїдні пептиди під дією ендопептидаз швидко розчиняються, є припущення, що вони мають тригерну дію, тобто виконують «запуск» захисних механізмів організму, після чого він знаходиться в режимі самостійного функціонування [5]. Можна вважати доведеним існування опіоїдних рецепторів на мембранах регуляційних і ефекторних імунокомпетентних клітин [6].

Метою дослідження стало вивчення впливу опіоїдних κ -рецепторів на реакції в селезінці при запаленні.

Матеріал і методи. Експеримент провели на 54 щурах-самцях популяції WAG/G Sto масою 180–200 г, яких утримували в стандартних умовах віварію з вільним доступом до води та харчів. Моделлю запалення став гострий асептичний перитоніт, викликаний внутрішньочеревним введенням 5 мг λ -карагієну (Sigma, США) в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію [7]. В динаміці запалення починаючи з 3-ї години та по 10-ту добу досліджували селезінку на парафінових зрізах товщиною 5–6 мкм. Імуногістохімічні досліді проводили прямим методом Кунса за методикою Brosnan [8]. Імунні клітини диференціювали за допомогою щурячих моноклональних антитіл (МКА) з різноманітними типами клітин (фірми Serotec, Велика Британія). Використовували МКА до CD3-антигенів (загальні Т-лімфоцити), CD4 (Т-лімфоцити-хелпери), CD8 (Т-лімфоцити-супресори), CD45RA (В-лімфоцити), ED1 (макрофаги). Підраховували співвідношення CD4/CD8 (імунорегуляторний індекс). В якості люмінесцентної мітки використовували F(ab)-2 – фрагменти кролячих антитіл проти імуноглобулінів миші, мічених ФІТЦ. Препарати розглядали в люмінесцентному мікроскопі ЛЮМАМ-І2 з використанням наступних фільтрів світла: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3.

В якості блокатора κ -опіоїдних рецепторів використовували норбіналторфімін, який у дозі 50 мкг вводили підшкірно за 15 хв до відтворення запалення [9].

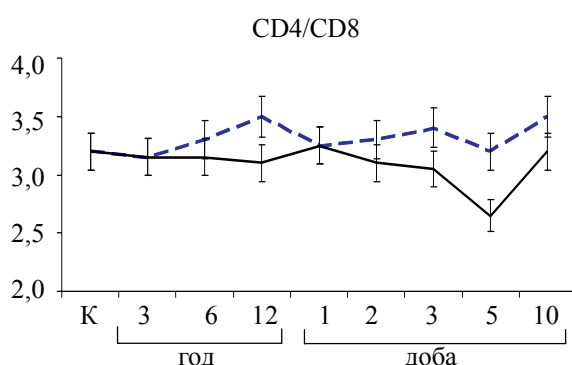
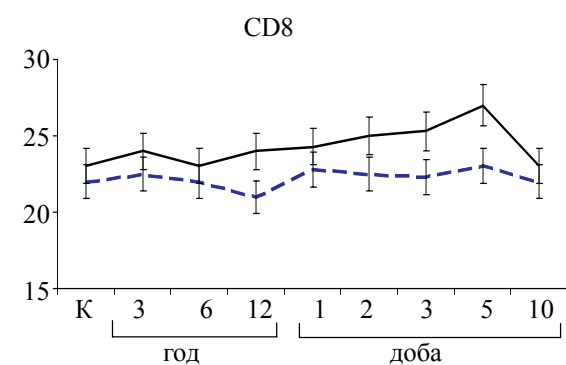
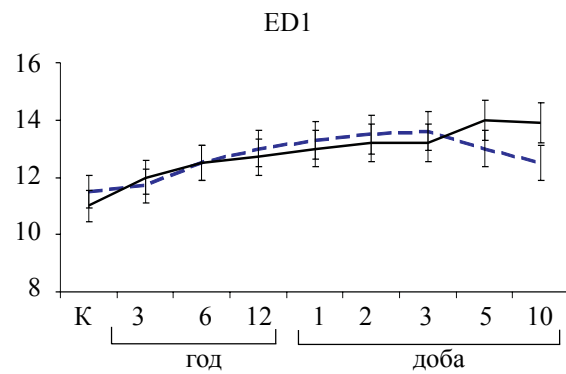
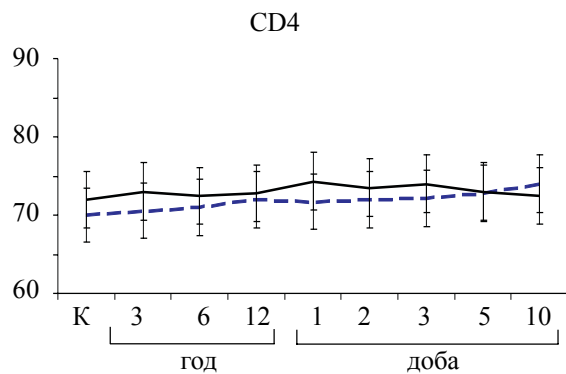
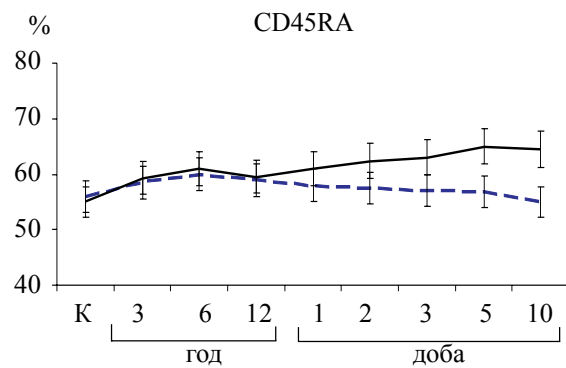
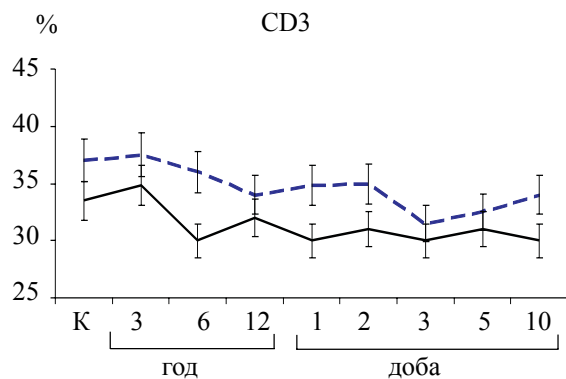
© І.О. Сулхдост, 2016

Утримання тварин та експерименти було проведено згідно положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», затверджених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Статистичну обробку результатів проводили за непарним критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення. При запаленні на фоні дії норбіналторфіміну в порівнянні з контролем відмічається зниження вмісту CD3⁺-клітин мінімум на 3-тю добу та поступове зростання кількості CD4⁺-лімфоцитів до 10-ї доби, при цьому вміст CD8⁺-клітин практично не змінюється; імуноре-

гуляторний індекс значно зростає, особливо на 12-ту год та 10-ту добу. Дещо збільшується кількість CD45RA⁺- та ED1⁺-клітин (рисунок).

При природному перебігу запалення вміст CD3⁺-лімфоцитів дещо збільшений протягом усього дослідження, а кількість CD4⁺- та CD8⁺-клітин знижена, що доводить зменшену хелперну та супресорну активність на фоні вираженої гіперплазії. В більшій мірі знижується супресорна активність, відповідно зростає імунорегуляційний індекс достовірно на 6-ту та 12-ту год та з 2-ї по 10-ту добу. Кількість CD45RA⁺-лімфоцитів дещо знижена, ED1⁺-клітин – змінюється мало, трохи знижуючись, як і CD45RA⁺-лімфоцитів, на 5-ту – 10-ту добу.



Відносні обсяги основних клонів імунних клітин у селезінці у щурів при запаленні на тлі дії норбіналторфіміну: — запалення; - - - норбіналторфімін+запалення

При запаленні на фоні дії норбіналторфіміну посилені клітинні та послаблені гуморальні імунні реакції, зменшена хелперна та ще більше супресорна активність. Результати свідчать про те, що в природних умовах запалення опіоїдні пептиди через κ-рецептори зменшують функціональну активність селезінки, міграцію В- та Т-лімфоцитів, послаблюють клітинні та посилюють гуморальні імунні реакції, по-

силюють хелперну та ще більше супресорну активність.

Таким чином, гальмуюча дія опіоїдних пептидів на реакції імунної системи при запаленні в основному опосередкована до їх κ-рецепторів.

Перспективи подальших досліджень: вивчення питання про рецепторний механізм впливу опіоїдних пептидів на імунну систему при запаленнях.

Література

1. Гольдберг Е.Д. Роль опіоїдних пептидов в регуляції гемопоеза / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, О.Ю. Захарова // НИИ фармакологии Томск. научн. центра АМН СССР. – Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1990. – 135 с.
2. Акмаев И.Г. Нейроиммуноэндокринология: факты и гипотезы / И.Г. Акмаев // Проблемы эндокринологии. – 1997. – № 1. – С. 3–7.
3. Ушко Я.А. Функціональні реакції системи неспецифічного захисту та імунної системи при стресі за умов блокади опіоїдних рецепторів : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Я.А. Ушко. – К., 2006. – 21 с.
4. Зозуля А.А. Значение регуляторных пептидов в функционировании иммунной системы / А.А. Зозуля, Э. Пацакова // Иммунология. – 1986. – № 2. – С. 10–14.
5. Беседин Д.О. Иммунотропные эффекты опіоїдних пептидов / Д.О. Беседин, О.Б. Сеин. // Вестн. Курск. гос. сельскохоз. академии. – 2009. – № 5. – С. 74–77.
6. Enkephalin receptors and receptor-mediated signal transduction in cultured human lymphocytes / C.W. Neagy, E. Teng, P. Lopez, R.W. Finberg // Cell Immunol. – 1999. – Vol. 191, № 1. – P. 34–48.
7. Клименко Н.А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления / Н.А. Клименко // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1993. – Т. 116, № 9. – С. 249–253.
8. Brosman M. Immunofluorescence vysetrovanie formalfinovego material / M. Brosman // Cs. Patol. – 1979. – Vol. 15, № 4. – P. 215–220.
9. Schafer M. Intrleukin 1β and corticotropin-releasing factor inhibit pain by releasing opіoids from immune cells in inflamed tissue / M. Schafer, L. Carter, C. Stein // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1994. – Vol. 91. – P. 4219–4223.

И.А. Сулхдост

ДЕЙСТВИЕ СЕЛЕКТИВНОГО БЛОКАТОРА ОПИОИДНЫХ κ-РЕЦЕПТОРОВ НОРБИНАЛТОРФИМИНА НА ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕЛЕЗЕНКИ ПРИ ОСТРОМ ВОСПАЛЕНИИ

Изучено морфофункциональное состояние селезенки на модели карагиненового острого асептического воспаления с использованием селективного блокатора опіоїдних κ-рецепторов норбіналторфіміна. Показано, что усилены клеточные и ослаблены гуморальные иммунные реакции, уменьшена хелперная и еще больше супресорная активность. Результаты свидетельствуют о том, что в естественных условиях воспаления опіоїдних пептиды через κ-рецепторы ограничивают функциональную активность селезенки, миграцию В- и Т-лимфоцитов, ослабляют клеточные и усиливают гуморальные иммунные реакции, увеличивают хелперную и еще больше супресорную активность.

Ключевые слова: воспаление, иммунная система, опіоїдних пептиды, норбіналторфімін.

I.O. Sulhdost

EFFECT OF SELECTIVE BLOCKERS OPIOID κ-RECEPTOR NORBINALTORFIMINE ON IMMUNOHISTOCHEMICAL CHANGING SPLEEN DURING ACUTE INFLAMMATION

The morphofunctional state of the spleen in the model of carrageenan-induced acute aseptic inflammation with using a selective blocker of opіoid norbinaltorfimine κ-receptors was studied. The strengthened cellular and weakened humoral immune responses reduced helper and suppressor activity even more was shown. The results indicate that under in vivo inflammation opіoid peptides through κ-receptors limit the functional activity of the spleen, migration B- and T-lymphocytes, decrease cellular but increase humoral immune responses, enhance the helper activity and the suppressor activity even more.

Key words: inflammation, immune system, opіoid peptides, norbinaltorfimine.

Поступила 08.04.16