

ПОРІВНЯЛЬНИЙ ВПЛИВ ПРЕВЕНТИВНОГО МАГНІТОЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ ПЕЧІНКИ І КРОВІ НА ПОКАЗНИКИ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ І ФАГОЦИТОЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ

Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського

ПОРІВНЯЛЬНИЙ ВПЛИВ ПРЕВЕНТИВНОГО МАГНІТОЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ ПЕЧІНКИ І КРОВІ НА ПОКАЗНИКИ ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ І ФАГОЦИТОЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ – Превентивне черезшкірне низькоенергетичне магнітолазерне опромінення печінки і його поєднання з впливом на кров володіє вираженим гепатопротекторним ефектом за показниками гуморального імунітету і фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів. Превентивна дія на кров на фоні гострого токсичного ураження печінки тетрахлорметаном супроводжується вираженим антитілоутворенням, накопиченням циркулюючих імунних комплексів і стимуляцією фагоцитарної активності лейкоцитів.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ПРЕВЕНТИВНОГО МАГНИТОЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ПЕЧЕНИ И КРОВИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА И ФАГОЦИТОЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ – Превентивное чрезкожное магнітолазерное облучение печени и его сочетание с воздействием на кровь имеет выраженный гепатотропный эффект за показателями гуморального иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов. Превентивное влияние на кровь на фоне острого токсического поражения печени тетрахлорметаном сопровождается выраженным антителообразованием и стимуляцией фагоцитарной активности лейкоцитов.

COMPARATIVE INFLUENCE OF LIVER AND BLOOD PREVENTIVE MAGNETOLASER RADIATION ON HUMORAL IMMUNITY AND PHAGOCYTOSIS INDICES AT EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS – Preventive through-dermal low-energy magnetolaser radiation of the liver and its joining with influence on the blood has a marked hepatoprotective effect according to humoral immunity and neutrophilic granulocytes phagocytic activity indices. Preventive effect on the blood against a background of acute toxic liver affection by tetrachloromethane is accompanied by marked antibody-production, circulating immune complexes accumulation and leukocyte phagocytic activity stimulation.

Ключові слова: низькоенергетичне магнітолазерне випромінювання, гострий тетрахлорметановий гепатит, гуморальний імунітет, фагоцитоз.

Ключевые слова: низкоэнергетическое магнітолазерное излучение, острый тетрахлорметановый гепатит, гуморальный иммунитет, фагоцитоз.

Key words: low-energy magnetolaser radiation, acute tetrachloromethanic hepatitis, humoral immunity, phagocytosis.

Вступ У патогенезі ураження печінки тетрахлорметаном значну роль відіграють зміни з боку імунної системи організму. Уражені токсином гепатоцити можуть продукувати гуморальні фактори, які змінюють функцію імунної системи. Встановлено, що при токсичному гепатиті відбувається достовірне зниження

показників клітинного і неспецифічного імунітету при наростанні концентрації Ig M, G, кількості В-лімфоцитів і циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [5, 6, 15].

Існує концепція, згідно з якою імунологічні механізми суттєво впливають на резистентність організму до ксенобіотиків з низькою молекулярною масою [9]. Встановлено, що при метаболізмі ксенобіотиків в мікросомальній монооксигеназній системі утворюються реакційноздатні метаболіти, які ковалентно зв'язуються з білками, формуючи тим самим кон'юговані антигени [18, 19]. Поступаючи в кров і взаємодіючи з імунокомпетентними клітинами, кон'югат індукує синтез антитіл, що специфічно зв'язують ксенобіотик [8, 10]. Таким чином, імунну систему можна віднести до детоксикуючої системи організму, яка нейтралізує певні екзо- і ендогенні сполуки і здійснює підтримку хімічного гомеостазу організму.

Відомо, що превентивний низькоенергетичний лазерний вплив (НЕЛВ) у поєднанні з постійним магнітним полем викликає посилення стійкості організму експериментальних тварин до токсичних впливів [2, 16]. Найвищий ефект спостерігається при поєднаному магнітолазерному опроміненні печінки і крові, середній – при фотовпливі на печінку і найнижчий – при дії на кров. У нашому попередньому повідомленні констатовано [1], що опромінення крові здорових білих щурів стимулює фагоцитоз, утворення антитіл і циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Водночас дія на печінку і його поєднання з фотовпливом на кров практично не викликає суттєвих відхилень показників гуморального імунітету і фагоцитарної активності лейкоцитів. Виникло припущення, що в цих експериментальних умовах настає посилення утилізації гепатоцитами і купферівськими клітинами антигенів і їх комплексів, зростає функціональний антигенний резерв крові.

Метою даної роботи було встановити роль гуморального імунітету і фагоцитарної здатності нейтрофільних гранулоцитів у підвищенні резистентності організму до гострого токсичного ураження тетрахлорметаном в умовах превентивного магнітолазерного опромінення.

Матеріали і методи В експериментах використано 51 нелінійного білого щура-самця масою тіла 160-180 г. Опромінення здійснювали напівпровідниковим лазерним генератором безперервної дії “Луч-2” (довжина хвилі 0,82 мкм, потужність на виході світловода 0,035 Вт) з магнітною насадкою на кінці світловода типу “МН-1” (величина магнітної індукції 30-35 мТл) протягом 2-х щодобових сеансів.

Тварин розділили на 5 груп: 2 контрольних і 3 дослідних. В дослідних групах (по 10-12 щурів) під ефірним наркозом здійснювали черезшкірний магнітолазерний вплив на печінку в депільованій епігастральній ділянці з сумарною густиною енергії 42,8 Дж·см⁻², кров — в проекції задньої хвостової вени з сумарною дозою 85,6 Дж·см⁻² і поєднували їх з величиною дози 64,2 Дж·см⁻². При вказаних експозиційних дозах опромінення настає найбільш виражений гепатопротекторний ефект [2]. Через 24 год після останнього сеансу опромінення в дослідних групах тварин моделювали гостре токсичне ураження шляхом внутрішньошлункового введення 50 % розчину тетрахлорметану на оливковій олії в дозі 0,15 мл чистої речовини на 100 г маси тварини [12].

В контрольних групах тварин двічі вводили в ефірний наркоз, після чого в одній з них моделювали гостре токсичне ураження тетрахлорметаном, в іншій його імітували шляхом внутрішньошлункового введення оливкової олії в еквівалентній дозі.

Через 48 год з моменту отруєння в умовах тіопенталонатрієвого наркозу в тварин забирали кров для досліджень. У сироватці крові біохімічним методом визначали вміст імуноглобулінів класів А, М і G [17]. Встановлювали концентрацію ЦІК за преципітацією їх розчином поліетиленгліколю-6000 [17]. За допомогою набору реактивів "Bio-Test" фірми "Lachema Diagnostica" (м. Брно, Чехія) проводили осадкову тимолову пробу. Фагоцитарну активність нейтрофільних лейкоцитів досліджували за інтенсивністю поглинання золотистого стафілокока (штам 286) з добової культури [11]. При оцінюванні фагоцитарної реакції враховували відсоток фагоцитуючих клітин відносно до загальної кількості нейтрофільних лейкоцитів (% ФЛ) і фагоцитарний індекс — середня кількість мікробів, захоплених одним нейтрофільним лейкоцитом (ФІ).

З експерименту тварин виводили шляхом швидкої декапітації. Одержаний цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента.

Результати досліджень та їх обговорення Концентрації імуноглобулінів, ЦІК, результати тимолової проби і показники фагоцитозу (ФІ та % ФЛ) щурів з гострим токсичним ураженням тетрахлорметаном під впливом превентивного черезшкірного магнітолазерного опромінення наведені в таблицях 1 і 2.

Контроль	Тетрахлорметановий гепатит	Магнітолазерний вплив		
		на печінку	на кров	на печінку і кров
Ig A, гл ⁻¹				
0,500±0,070	0,626±0,052 —	0,536±0,075 —	0,622±0,106 —	0,529±0,060 —
Ig M, гл ⁻¹				
0,356±0,033	1,844±0,105 P ₁ <0,001	1,410±0,089 P ₁ <0,001 P ₂ <0,01	1,932±0,111 P ₁ <0,001 —	0,861±0,106 P ₁ <0,001 P ₂ <0,001
Ig G, гл ⁻¹				
4,162±0,177	5,947±0,224 P ₁ <0,001	5,548±0,175 P ₁ <0,001 —	5,869±0,145 P ₁ <0,001 —	4,971±0,075 P ₁ <0,001 P ₂ <0,001
ЦІК, ум од.				
23,2±1,8	47,4±2,6 P ₁ <0,001	39,9±1,4 P ₁ <0,001 P ₂ <0,05	45,3±1,9 P ₁ <0,001 —	34,7±1,5 P ₁ <0,001 P ₂ <0,001
Тимолова проба, од. S-H				
0,55±0,04	1,77±0,09 P ₁ <0,001	1,01±0,09 P ₁ <0,001 P ₂ <0,001	1,37±0,14 P ₁ <0,001 P ₂ <0,02	0,81±0,04 P ₁ <0,001 P ₂ <0,001
ФІ				
2,285±0,046	1,994±0,032 P ₁ <0,001	2,064±0,041 P ₁ <0,001 —	2,316±0,052 — P ₂ <0,001	2,182±0,043 — P ₂ <0,002
% ФЛ				
30,3±0,6	26,6±0,5 P ₁ <0,001	28,2±0,6 P ₁ <0,05 P ₂ <0,05	31,2±0,7 — P ₂ <0,001	29,4±0,6 — P ₂ <0,002

Таблиця 1. Динаміка показників гуморального імунітету і фагоцитозу під впливом різних способів превентивного магнітолазерного опромінення (M±m)

Примітки. P1 – достовірність різниці показників між контрольною і дослідними групами; P2 – достовірність різниці показників між групами тварин з тетрахлорметановим гепатитом і групами, в яких здійснювали превентивні магнітолазерні впливи.

Таблиця 2. Достовірність різниці показників гуморального імунітету між групами, в яких здійснювали превентивні магнітолазерні впливи

Показник	P _{1,2}	P _{1,3}	P _{2,3}
Ig G	—	<0,01	<0,001
ЦІК	<0,001	<0,05	<0,05
Ig A	—	—	—
Ig M	<0,01	<0,001	<0,001
Тимолова проба	<0,05	—	<0,01
ФЧ	<0,001	—	—
% ФЛ	<0,01	—	—

Примітки. P1-2 — достовірність різниці показників між групами, в яких здійснювали окреме магнітолазерне опромінення печінки і крові; P1-3 — опромінення печінки і його поєднували з впливом на кров; P2-3 — опромінення крові і його поєднували з впливом на печінку.

Як видно з таблиць, в умовах гострого токсичного ураження тетрахлорметаном встановлено достовірне підвищення концентрації Ig M (більше ніж у 5 разів; P1<0,001), Ig G (на 42,9 %; P1<0,001) і ЦІК (більше, ніж у 2 рази; P1<0,001). Спостерігали істотні зміни і за тимоловою пробою. Даний показник зростав більше, ніж у 3 рази (P1<0,001). Рівень Ig A в цих експериментальних умовах практично не змінювався. Спостерігалось істотне пригнічення фагоцитарної активності лейкоцитів. Величина ФЧ зменшилася на 12,7 % (P1<0,001), % ФЛ — на 12,2 % (P1<0,001).

На фоні превентивного магнітолазерного опромінення печінки і його поєднання з впливом на кров рівень IgM був достовірно нижчим від аналогічного нелікованих тварин (відповідно на 23,5 %; P2<0,01 і 53,3 %; P2<0,001). При фотовпливі на кров даний показник не зазнавав істотних змін (P2>0,05). Слід зазначити, що профілактичний ефект поєднаного магнітолазерного опромінення печінки і крові за рівнем IgM був найвищим (P1-3<0,001; P2-3<0,001).

Концентрація IgG під впливом окремого опромінення печінки і крові практично не відрізнялася від величини нелікованих тварин (P2>0,05). Тільки в умовах поєднаного фотовпливу даний показник ставав суттєво нижчим від аналогічного зазначеної групи порівняння (на 16,4 %; P2<0,001) і груп тварин, в яких здійснювали превентивні окремі опромінення печінки і крові (відповідно на 10,4 %; P1-3<0,01 і на 15,3 %; P2-3<0,001).

Досліджуваний превентивний фотовплив позитивно вплинув і на рівень ЦІК. При дії на печінку і його поєднанні з опроміненням крові даний показник був суттєво нижчим, ніж у нелікованих тварин (відповідно на 15,8 %; P2<0,05 і 26,8 %; P2<0,001). В умовах фотовпливу на кров суттєвої різниці за величиною ЦІК між даними групами порівняння не спостерігали (P2>0,05). Крім цього встановлено, що концентрація ЦІК при поєднаній дії магнітолазерного випромінювання на печінку і

кров була достовірно нижчою, ніж при інших способах опромінення ($P_{1-3} < 0,05$; $P_{2-3} < 0,05$).

Серед показників фагоцитозу величина ФІ на фоні превентивного магнітолазерного опромінення крові і його поєднання з впливом на печінку порівняно з рівнем нелікованих тварин була достовірно вищою (на 16,1 % і 9,4 %; $P_2 < 0,001$). Подібний результат отримано і за рівнем % ФЛ. При опроміненні крові він на 17,3 % переважав аналогічний нелікованих тварин ($P_2 < 0,001$), печінки і крові – на 10,5 % ($P_2 < 0,001$). В цих експериментальних умовах ФІ і % ФЛ суттєво не відрізнялися від рівня контрольних тварин ($P_1 > 0,05$). При фотовпливі на печінку ФІ мав лише тенденцію до більшої величини порівняно з нелікованими тваринами (на 3,5 %; $P_2 > 0,05$). Рівень % ФЛ статистично достовірно був вищим (на 6,0 %; $P_2 < 0,05$), проте величини контрольних тварин не досягав ($P_1 < 0,05$).

Порівнюючи ефективність різних способів МЛВ за показниками фагоцитарної активності лейкоцитів, встановлено, що достовірно вищих рівнів ФІ і % ФЛ досягали в умовах магнітолазерного опромінення крові порівняно з окремим насвічуванням печінки ($P_{1-2} < 0,01-0,001$). Величина цих показників при поєднаному фотовпливі на печінку і кров була середньою і суттєво не відрізнялася від решти дослідних груп.

Таким чином, превентивне магнітолазерне опромінення в умовах гострого токсичного ураження тетрахлорметаном суттєво застерігає порушення показників гуморального імунітету і фагоцитарної активності лейкоцитів. Найвищий ефект спостерігали при поєднаному фотовпливі на печінку і кров, помірний при окремому опроміненні печінки. Як відомо, при даних способах опромінення настає максимальне підвищення функціональної активності гепатоцитів, їх мікосомальної монооксигеназної системи, системи антиоксидантного захисту і мікроциркуляторного русла, які лежать в основі гепатопротекторного ефекту застосування НЕЛВ до введення токсину [3, 4]. Існує припущення про найвищу стимуляцію в цих експериментальних умовах і купферівських клітин [1]. Вони, очевидно, відіграють провідну роль в утилізації антигенів, обумовлених токсичним впливом ксенобіотика.

Підвищений рівень імуноглобулінів і ЦІК при опроміненні крові з одного боку викликаний нижчим ступенем залучення НЕЛВ механізмів захисту печінки [3, 4]. З іншого, опромінення крові, як свідчать літературні дані, стимулює різні імунокомпетентні органи, в тому числі клітини макрофагальної системи [13]. Вплив ксенобіотика на фоні їх активації, ймовірно, підвищує вироблення цитокінів, які володіють вираженою прозапальною дією [14]. В період активної секреції цих речовин печінка може перетворитися з органа, який повинен видаляти органічні аніони, в орган, що збільшує їх вміст [7]. Це, очевидно, обумовлює інтенсивне антитілоутворення і накопичення ЦІК. Активацією цитокінів також можна пояснити найвищий рівень фагоцитарної активності лейкоцитів в цій експериментальній групі [14].

Висновки 1. Превентивне черезшкірне низькоенергетичне магнітолазерне опромінення печінки і його поєднання з впливом на кров володіє вираженим гепатопротекторним ефектом за показниками гуморального імунітету і фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів.

2. Превентивне опромінення крові на фоні гострого токсичного ураження печінки тетрахлорметаном супроводжується вираженим антитілоутворенням, накопиченням ЦІК і стимуляцією фагоцитарної активності лейкоцитів.

1. Гудима А.А., Гнатюк М.С., Лісничук Н.Є. Порівняльний вплив черезшкірного магнітолазерного опромінення печінки і крові на показники гуморального імунітету і фагоцитозу в здорових щурів // Вісник наукових досліджень. – 1999. – № 4. – С.127-141.

2. Гудима А.А. Застосування магнітолазерного опромінювання для посилення резистентності печінки здорових щурів до дії токсичних уражень // Фізіологічний журнал. – 1998. – Т. 44, № 3. – С. 287-288.

3. Гудима А.А. Особливості впливу низькоенергетичного магнітолазерного випромінювання на показники функціональної активності мікросом печінки в нормі та в умовах токсичного ураження тетрахлорметаном // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 1999. – № 3. – С.

4. Гудима А.А. Роль низькоенергетичного магнітолазерного випромінювання у підвищенні резистентності печінки до токсичних уражень // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: Медицина. – 1999. – № 10. – С. 56-57.

5. Деякі показники імунітету при хронічному гепатиті і цирозі печінки / Короткий В.В., Дутка Р.Я., Гаврилук З.О. та ін. // Тези доп. 1-ї Подільської наук.-практ. конф. гастроентерол. “Нове у діагностиці та лікуванні захворювань органів травлення”. – Вінниця, 1993. – С. 103-104.

6. Епишин А.В., Гречух А.М., Черноус Е.С. Некоторые особенности гуморального иммунитета при воспалительных заболеваниях гепатобилиарной системы // Тез. докл. научно-практ. конф. “Хроническое воспаление и заболевания органов пищеварения”. – Ч. 2. – Харьков, 1991. – С. 28.

7. Ивашкин В.Т. Клеточная и молекулярная биология воспаления печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – № 5. – С. 13-17.

8. Ковалентное связывание продуктов гидроксирования кодеина с альбумином и мембранами микросом / А.И. Арчаков, Г.Ф. Жирнов, А.И. Майский, И.Е. Ковалев // Биохимия. – 1980. – № 11. – С. 1988 – 1992.

9. Ковалев И.Е., Полевая О.Ю. Биохимические основы иммунитета к низкомолекулярным химическим соединениям. – М.: Наука, 1985. – 304 с.

10. Ковалев И.Е., Шипулина Н.В., Томилина Н.Ю. Индукция цитохрома Р-450 и последующая индукция иммунного ответа у крыс при хроническом введении ксенобиотиков // Фармакол. и токсикол. – 1990. – № 1. – С. 54 - 57.

11. Козлюк А.С., Анисимов Л.А., Шройт И.Г. Иммунологические методы в гигиенических исследованиях. – Кишинев: Штиинца, 1987. – 115 с.

12. Короленко Т.А., Кондрикова А.Е., Титова В.Г. Субклеточное распределение кислых гидролаз печени крыс при токсическом гепатите // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1975. – Т. LXXX, N 7. – С. 34-36.
13. Лаптева Р.М., Башиева С.А., Фрязинова Т.С. Системная реакция компонентов иммунитета на низкоэнергетические лазерные излучения // Тез. науч. конф. “Новое в лазерной медицине и хирургии.” – М., 1990. – Ч.2. – С.51-53.
14. Лукина Е.А. Система мононуклеарных фагоцитов и биологические эффекты провоспалительных цитокинов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – № 5. – С. 7-13.
15. Павлович С.І., Портниченко А.Г. Зміни функціональної активності імунотоксичних клітин при застосуванні індометацину і арахідонової кислоти в умовах токсичного ураження печінки // Львівський медичний часопис. – 1996. – Т. 2, № 3-4. – С. 9-14
16. Пат. 25513 А Україна, МКИ А61 5/06. Спосіб підвищення резистентності печінки до токсичних уражень в експерименті /А.А. Гудима (Україна); Тернопільська мед. академія. – № 97031049; Заявл. 11.03.97; Опубл. 30.10.98, Бюл. № 6.
17. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. Иммунологические методы исследования в клинике. – К.: Здоров'я, 1978. – 159 с.
18. Immunotoxicology and expression of human cytochrome P450 in microorganisms / P.Beaun, M.Bourdi, C. Belloc et al. // Toxicology. – 1993. – 82, № 1-3. – P. 53 - 60.
19. Pessayre D. Cytochromes P450 and formation of reactive metabolites. Role in hepatotoxicity of drugs // Therapie. – 1993. – 48, № 6. – P. 537 - 548.