

УДК 616.53-002.61

© М.Н. Лебедюк, А.А. Шандра, 2012.

ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ У КРЫС С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

М.Н. Лебедюк, А.А. Шандра*Одесский национальный медицинский университет, кафедра дерматологии и венерологии (зав. – проф. М.Н. Лебедюк), г. Одесса.*

IMMUNOLOGICAL REACTIVITY CHANGE IN RATS WITH ATOPIC DERMATITIS UNDER THE PATHOGENETIC TREATMENT

M. N. Lebedyuk., A. A. Shandra

SUMMARY

The dynamics of immunological reactivity change in rats with experimental atopic dermatitis (AD) under influence of separate and joint delataran (DE) and melatonin (ME) administrations was studied. The indexes of both leucocytes specific agglomeration and neutrophils' alteration test were shown to be increased in rats with AD. The investigated immunological indexes were normalized after joint DE and ME administrations. Normalization was markedly expressed in case of these compounds joint introduction. Expressed immunocorrecting influences of joint DE and ME injections in rats with AD gave to authors possibility to consider these curing scheme as pathogenetic.

ЗМІНА ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ В ЩУРІВ ІЗ АТОПІЧНИМ ДЕРМАТИТОМ ПІД ВПЛИВОМ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ

М.М. Лебедюк, О.О. Шандра

РЕЗЮМЕ

У роботі вивчали динаміку зміни імунологічної реактивності у щурів з експериментальним атопічним дерматитом (АД) під впливом роздільного та поєднаного введення дельтарану й мелатоніну. Показано, що за умов АД в щурів зростають показники специфічної агрегації лейкоцитів і тесту альтерації нейтрофілів. Досліджувані імунологічні показники нормалізувалися внаслідок поєднаного застосування дельтарану й мелатоніну, причому нормалізація більшою мірою відзначалася при поєднаному введенні цих препаратів. Виражені імунокорегуючі впливи поєднаного застосування дельтарану й мелатоніну в щурів із АД автори розглядають як доказ патогенетичної спрямованості розробленої схеми експериментального лікування.

Ключевые слова: атопический дерматит, иммунологическая реактивность, дельтаран, мелатонин, патогенетическое лечение.

Актуальность изучения патогенетических механизмов и разработки схем комплексной патогенетически обусловленной коррекции атопического дерматита (АД) безусловна, что подтверждается высокими показателями заболеваемости населения данной патологией, снижением работоспособности вследствие заболевания и несовершенным лечением [3, 7, 8, 11]. Показано нарушение функционирования нервной и иммунной систем у больных АД [6, 10, 12].

С фундаментальной точки зрения АД представляет собой (в зависимости от выраженности клинического течения, наличия либо отсутствия осложнений и сопутствующих поражений кожи и внутренних органов) вариант септического либо асептического воспаления, при котором нарушения функционирования нервной и иммунной систем являются одними из важнейших звеньев патогенеза. С учетом изложенного выше мы предприняли серии экспериментальных исследований для выяснения эффективности разработанной комплексной патогенетически обусловленной терапии АД, акцент в которых был сделан на динамике активности

иммунологической системы в условиях воспроизводимой патологии. Цель работы – исследование иммунологической реактивности животных с экспериментальным АД под влиянием дельтарана и мелатонина. Дополнительной задачей работы явилось раздельное изучение выраженности иммунологических нарушений у самцов и самок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проводились в условиях хронического эксперимента на крысах линии Вистар обоего пола массой 270-320 г. Работу проводили с соблюдением основных нормативных и этических требований к проведению лабораторных и иных опытов с участием экспериментальных животных.

Методика воспроизведения экспериментального АД изложена в работах [3, 5]. Тяжесть дерматита оценивали по следующей шкале в условных единицах (баллах): 0 — отсутствие реакции; 0,5 — появление изолированных красных пятен; 1 — диффузная умеренная гиперемия; 2 — четкая гиперемия и отечность; 3 — резкое покраснение и отек; 4 — образование небольших эрозий; 5 — образование

геморрагической корки и обширных язв. Кроме того, измеряли величину кожной складки [3].

Через 10 дней с момента индукции АД исследовали иммунологические показатели. Постановка реакции специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ) проводилась, согласно принятым методикам [1]. Реакция считается позитивной при 1,4 балла и выше. В реакции теста альтерации нейтрофилов (ТАН) выявлялась степень дегенерации клеток и их внутриклеточных органелл под действием специфического антигена. При техническом выполнении ТАН применялась методика Алексеевой О. Г., Дуевой Л. А. [1]. При тесте в 0,05 усл. ед. и более, реакция оценивалась как позитивная.

Выделяли такие группы крыс. Группа №1 – крысы -самцы без патогенных воздействий. Группа №2 – крысы -самки без патогенных воздействий. Группа №3 – крысы -самцы с АД. Группа №4 – крысы -самки с АД. Группа №5 – крысы -самцы с АД, которым вводили дельтаран (0.1 мг/кг, в/бр). Группа №6 – крысы -самки с АД, которым вводили дельтаран (0.1 мг/кг, в/бр). Группа №7 – крысы -самцы с АД, которым вводили мелатонин (10 мкг/кг, в/бр). Группа №8 – крысы -самки с АД, которым вводили мелатонин

(10 мкг/кг, в/бр). Группа №9 – крысы -самцы с АД, которым осуществляли совместное введение дельтарана и мелатонина. Группа №10 – крысы -самки с АД, которым осуществляли совместное введение дельтарана и мелатонина. В каждой группе насчитывалось по 10 крыс.

Полученные результаты обрабатывали статистически. В качестве критерия достоверности выбирали $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показатель РСАЛ, определенный через 5 дней аппликации 0,25% раствора бихромата калия, был повышен в сравнении с контролем у самцов и у самок и составил, соответственно, $1,11 \pm 0,09$ и $1,20 \pm 0,10$ (Рис. 1). Аналогичное исследование в группах животных, проведенное через 10 дней после индукции АД, показало увеличение исследуемого показателя, который составил, соответственно, $2,73 \pm 0,15$ и $3,01 \pm 0,23$ балла. При этом величина исследуемого показателя в группах превышала таковую, определяющуюся у животных через 2 недели их содержания в условиях производства ($P < 0,05$). Не было отличий между группами самцов и самок ($P > 0,05$).

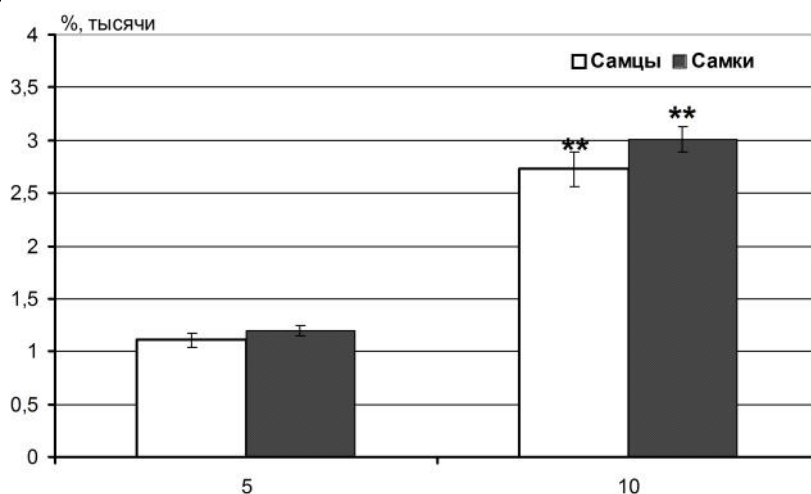


Рис. 1. Динамика РСАЛ у крыс с экспериментальным АД.

Обозначения: По оси ординат - выраженность РСАЛ в % (тысячи) по отношению к показателю в контроле (нанесение на кожу физиологического раствора NaCl), принятому за 100% и обозначенному горизонтальной линией на уровне 1.

По оси абсцисс – 5 и 10 – дни с момента воспроизведения АД.

Примечание: **- $P < 0,01$ – достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с таковыми в контрольных наблюдениях (статистический критерий ANOVA+ Newmann- Keuls).

В условиях применения дельтарана показатель РСАЛ у самцов и самок составил, соответственно, $2,56 \pm 0,12$ и $2,70 \pm 0,17$ баллов и превышал соответствующие показатели в группах контроля ($P < 0,01$; Рис. 2, I). Под влиянием мелатонина отмечалось некоторое снижение исследуемого показателя у самцов и у самок (соответственно, до $2,12 \pm 0,11$ и $2,34 \pm 0,20$ баллов), что также существенно

превышало таковые показатели в контрольных наблюдениях (Рис. 2, II). При этом показатель РСАЛ в группе самцов был меньше, чем у самок, которым применяли дельтаран ($P < 0,05$).

При сочетанном введении дельтарана и мелатонина отмечалось снижение показателя РСАЛ в группе самцов до $0,08 \pm 0,01$ и в группе самок - до $0,10 \pm 0,02$ баллов (Рис. 2, III). При этом исследуемый

показатель был достоверно меньше ($P < 0,01$), чем в группах животных, которым применяли только мелатонин.

Выраженность ТАН в группе животных через 5 дней аппликации 0,25% раствора бихромата калия составил $0,07 \pm 0,01$ и $0,08 \pm 0,01$ балла в группах самцов

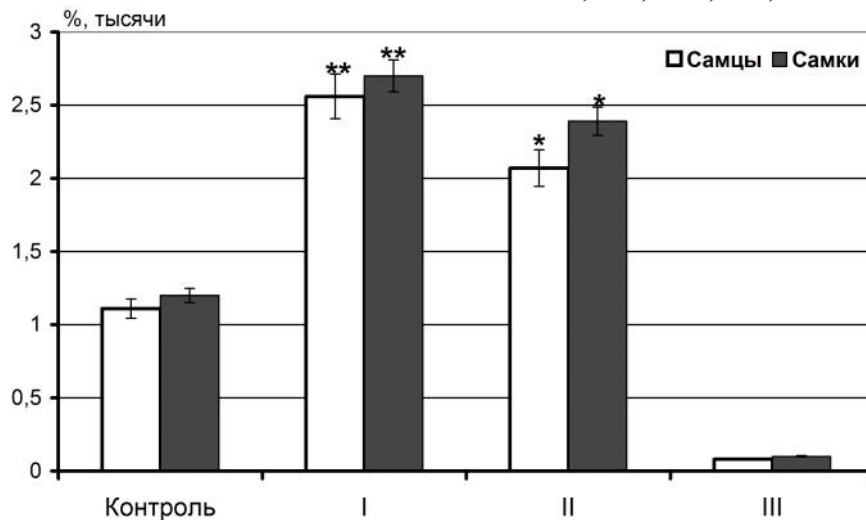


Рис. 2. Влияния раздельного и сочетанного применения дельтара и мелатонина у крыс с экспериментальным АД на показатели РСАЛ.

Обозначения: По оси ординат - выраженность РСАЛ в % (тысячи) по отношению к показателю в контроле (нанесение на кожу физиологического раствора NaCl), принятому за 100% и обозначенному горизонтальной линией на уровне 1. По оси абсцисс – контроль, I - дельтатар; II - мелатонин и III - сочетанное применение дельтара и мелатонина.

Примечание: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$ - достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с таковыми в контрольных наблюдениях (статистический критерий ANOVA+ Newmann- Keuls).

и самок, соответственно (Рис. 3). Позитивная реакция при этом отмечалась, соответственно, у 7 и 8 животных из 10. Аналогичное исследование показателя ТАН, произведенное через 10 дней аппликации 0,25% раствора бихромата калия

показало, что исследуемый показатель в группах составил, соответственно, $1,35 \pm 0,22$ и $1,51 \pm 0,27$ баллов (Рис. 3). Позитивная реакция при этом отмечалась у всех животных. В группах контроля ТАН был отрицательным как у самок, так и самцов ($P < 0,001$).

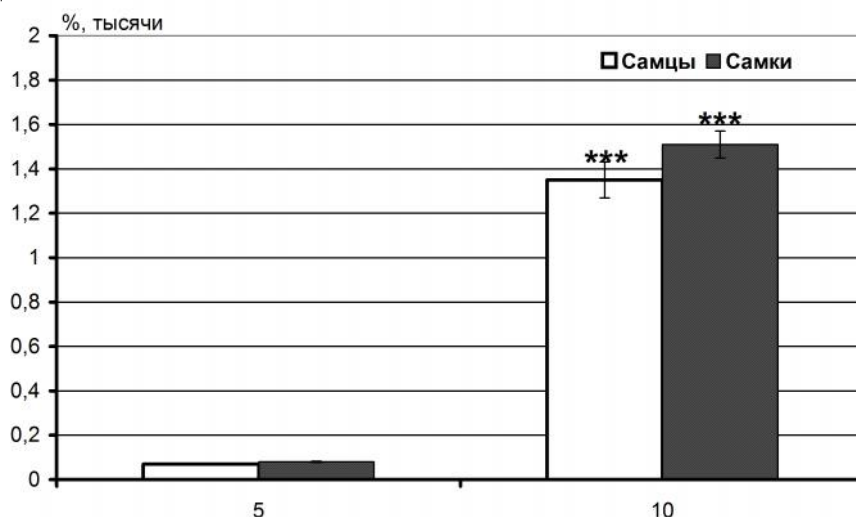


Рис. 3. Динамика ТАН у крыс с экспериментальным АД.

Обозначения: По оси ординат- выраженность ТАН в % (тысячи) к показателю в контроле, принятому за 100% и обозначенному горизонтальной линией на уровне 1. По оси абсцисс – 5 и 10 – дни с момента воспроизведения АД.

Примечание: ***- $P < 0,001$ - достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с таковыми в контрольных наблюдениях (статистический критерий ANOVA+ Newmann- Keuls).

Применение дельтарана у крыс с АД сопровождалось некоторым снижением исследуемого показателя, который оставался больше соответствующих показателей в группах контроля (Рис. 4, I). При введении мелатонина исследуемые показатели претерпевали дальнейшее снижение и составляли, соответственно, $1,11 \pm 0,15$ и $1,17 \pm 0,12$

баллов у самцов и самок (Рис. 4, II). В наибольшей степени уменьшение показателей ТАН отмечалось при сочетанном применении дельтарана и мелатонина (Рис. 4, III). При этом полученные показатели оставались меньше таковых в группах животных, которым раздельно вводили мелатонин ($P < 0,05$).

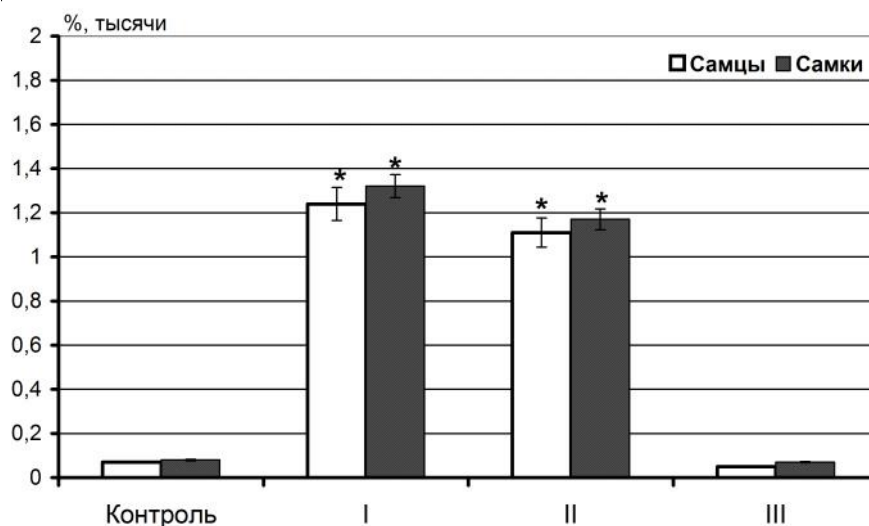


Рис. 4. Влияния раздельного и сочетанного применения дельтарана и мелатонина у крыс с экспериментальным АД на показатели ТАН.

Обозначения: По оси ординат - выраженность ТАН в % (тысячи) к показателю в контроле, принятому за 100% и обозначенному горизонтальной линией на уровне 1. По оси абсцисс – контроль, I – дельтара́н; II – мелатонин и III - сочетанное применение дельтарана и мелатонина.

Примечание: *- $P < 0,05$ достоверные различия исследуемых показателей по сравнению с таковыми в контрольных наблюдениях (статистический критерий ANOVA+ Newmann- Keuls).

Таким образом, приведенные данные показали, что специфическая агломерация лейкоцитов у животных в условиях АД ослабляется под влиянием раздельного применения дельтарана и мелатонина, а при их сочетанном применении регистрируется выраженное снижение РСАЛ, что может свидетельствовать о снижении сенсibilизации к соединениям хрома. Причем, данный лечебный комплекс оказывал сходное по своей выраженности лечебное действие у самцов и у самок.

Наши результаты показывают, что в условиях АД у крыс возрастает показатель ТАН. Выраженность данных изменений обусловлена длительностью контакта с соединениями хрома и является одинаково выраженной у самцов и самок. Интересно, что исследуемые иммунологические показатели нормализовались вследствие сочетанного применения дельтарана и мелатонина, причем нормализация в большей степени отмечалась при сочетанном введении данных препаратов.

Следовательно, под влиянием самостоятельного применения дельтарана и мелатонина отмечается снижение сенсibilизации организма животных к соединениям хрома в условиях экспериментального

АД. Данный эффект значительно усиливается при комбинированном применении лекарственных препаратов. Выраженность лечебных эффектов является сходной как у самцов, так и у самок, сенсibilизированных к соединениям хрома в условиях АД.

Позитивные эффекты «Дельтарана» в условиях АД станут понятными, если учесть его показанные противострессорные и иммунорегуляторные эффекты [2, 9, 13].

Выраженные иммунокорректирующие влияния сочетанного применения дельтарана и мелатонина у крыс с АД мы рассматриваем как доказательство патогенетической направленности разработанной схемы экспериментального лечения. Дополнительно к этому полученные результаты являются экспериментальным обоснованием целесообразности изучения клинической эффективности разработанной лечебной схемы у пациентов с АД.

ВЫВОДЫ

1. Специфическая агломерация лейкоцитов у животных в условиях АД ослабляется под влиянием

раздельного применения дельтарана и мелатонина, а при их сочетанном применении регистрируется выраженное снижение РСАЛ, что может свидетельствовать о снижении сенсибилизации к соединениям хрома.

2. В условиях АД у крыс возрастает показатель ТАН.

3. Исследуемые иммунологические показатели нормализовались вследствие сочетанного применения дельтарана и мелатонина, причем нормализация в большей степени отмечалась при сочетанном введении данных препаратов.

4. Выраженные иммуннокорректирующие влияния сочетанного применения дельтарана и мелатонина у крыс с АД мы рассматриваем как доказательство патогенетической направленности разработанной схемы экспериментального лечения.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеева О.Г. Аллергия к промышленным химическим соединениям / О.Г. Алексеева, Л.А. Дуева. - М. : Медицина, 1978. - 269 с.
2. Дельтаран предотвращает побочные эффекты эмоционального стресса при ишемии мозга у мало-резистентных животных / И. Л. Конорова, И. В. Ганнушкина, Е. В. Коплик, А. Л. Анте лава // Бюлл. эксперим. биол. мед. - 2006. - Т.141, №5. - С. 564 - 566.
3. Лебедюк М. Н. Особенности цикла бодрствование — сон у крыс с моделируемым контактным дерматитом / М. Н. Лебедюк, А. А. Шандра // Интегративна Антропология. - 2010. - №2 (16). - С. 58 - 62.
4. Лусс Л.В. Новые возможности диагностики аллергического контактного дерматита / Л.В. Лусс, С.М. Ерохина, К.С. Успенская // Рос. аллергол. журн. - 2008. - № 2. - С. 15 - 17.
5. Рабен А.С. Экспериментальный аллергический контактный дерматит / А.С. Рабен, О.Г. Алексеева, Л.А. Дуева. - М. : Медицина, 1970. - 190 с. Современная наружная терапия дерматозов (с элементами физиотерапии) / Под ред. Н.Г.Короткого. - Тверь : «Губернская медицина». - 2001. - С. 190 - 195.
6. Состояние иммунной системы у лиц, контактирующих на производстве с соединениями ртути и антибиотиками / Новикова Л.В., Ферапонтова Е.В., Аношкина Г.Б., Еремеева Л.В. // Аллергология и иммунология. - 2004. - Т.5, № 1. - С. 189.
7. Bergstrom K.G. Truth or fiction: risk factors for childhood atopic dermatitis / K.G. Bergstrom // J. Drugs Dermatol. - 2012. - Vol. 11, N 1. - P. 126 - 128.
8. Boyman O. The suppressive role of IL-10 in contact and atopic dermatitis / O. Boyman, T. Werfel, C.A. Akdis // J. Allergy Clin. Immunol. - 2012. - Vol. 129, N 1. - P. 160 - 161.
9. Kovalzon V. M. Delta sleep-inducing peptide (DSIP): a still unresolved riddle / V. M. Kovalzon, T. V. Strekalova / J. Neurochem. - 2006. - Vol. 97, N2. - P. 303 - 309.
10. Psychoneuroimmunology of psychological stress and atopic dermatitis: pathophysiologic and therapeutic updates / Subrez A.L., Feramisco J.D., Koo J., Steinhoff M. // Acta Derm Venereol. - 2012. - Vol. 92, N 1. - P. 7 - 15.
11. Rice-Induced Anaphylaxis: IgE-Mediated Allergy against a 56-kDa Glycoprotein / Trcka J., Schld S.G., Scheurer S. [et al.] // Int. Arch. Allergy Immunol. - 2011. - Vol. 158, N 1. - P. 9 - 17.
12. Sicherer S.H. Allergy Testing in Childhood: Using Allergen-Specific IgE Tests / S.H. Sicherer, R.A. Wood // Pediatrics. - 2012. - Vol. 129, N 1. - P. 193 - 197.
13. The analysis of delta sleep-inducing neuropeptide action in cats and albino rats / Karmanova I.G., Maximuk I.P., Voronov I.B. [et al.] // J. Evolut. Biochem. Physiol. - 1979. - Vol.15, - P. 583-589.