



УДК 616-002:576.815.252

Исследование корректирующего влияния иммуномодулятора азоксимера бромида на очаг экспериментального микробного воспаления у лабораторных животных

С. Н. Серебренникова, И. Ж. Семинский, Н. В. Семенов, Е. В. Гузовская

Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск

E-mail: swetlannik@rambler.ru

Аннотация. Представлены основные показатели клеточных фаз экспериментального микробного воспаления у лабораторных млекопитающих с коррекцией иммуномодулятором азоксимера бромидом. Микробное воспаление с коррекцией азоксимера бромидом характеризуется лейкоцитарной фазой длительностью 5 суток, макрофагической – 15 суток, фибробластической – 60 суток от начала воспалительного процесса.

Ключевые слова: азоксимера бромид, микробное воспаление, клеточные реакции, стафилококк.

Введение

Иммунная система человека и высших животных выполняет важную функцию по сохранению постоянства внутренней среды организма, осуществляемую путём распознавания и элиминации из организма чужеродных веществ антигенной природы. В основе любого инфекционно-воспалительного процесса лежат изменения в иммунной системе, которые и являются одной из причин этого процесса. Коррекция воспаления или его профилактика могут быть достигнуты действием соединений, восстанавливающих функций иммунной системы – иммуномодуляторов [6; 7].

Азоксимера бромид является высокомолекулярным соединением с выраженной иммуномодулирующей активностью [2; 3; 5], серьёзным преимуществом которого являются детоксицирующие, антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства [3; 6]. Учитывая данные преимущества, а также то обстоятельство, что конкретный механизм действия иммуномодулятора исследован не был, целью работы мы установили оценку интенсивности клеточных реакций в очаге экспериментального микробного воспаления под влиянием азоксимера бромида.

Материалы и методы

Исследования проведены на 110 беспородных белых крысах-самцах с массой тела 180–220 г. Животные содержались в условиях вивария, эксперимент проводился в соответствии с правилами гуманного обращения с животными,

которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Минздравоохранения СССР № 755 от 12.08.1977). Все оперативные вмешательства проводились в асептических условиях под эфирным наркозом.

Экспериментальное микробное воспаление у лабораторных крыс было получено в результате введения под кожу бедра диффузионной камеры размером 1×3 мм, объёмом 2,5 мм³ с диаметром пор 0,3–0,5 мкм, заполненной водной взвесью 24-часовой культуры *Staphylococcus aureus* № 25943 (F-49) АТСС в дозе 10⁷ микробных тел на 1 мл. Животным внутримышечно стерильным шприцем вводили 0,06 мл иммуномодулятора азоксимера бромида в течение 7 дней. Первая инъекция была сделана в день операции по моделированию воспалительного процесса.

У крыс после эвтаназии с помощью эфирного наркоза производился забор образцов тканей с камерами через 12 часов, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 60 суток от начала воспаления. В очаге воспаления регистрировали толщину лейкоцитарного вала вокруг стенки камеры, концентрацию клеток в вале, соотношение клеточных популяций, толщину фибробластической капсулы, число слоев фибробластов, концентрацию фибробластов в капсуле. Для определения фагоцитарных числа (ФЧ) и индекса (ФИ) у крыс использовалось содержимое диффузионных камер.

Для показателей определялись среднее арифметическое (M), среднее квадратичное

отклонение (s). Сравнение средних значений независимых выборок при их нормальном распределении осуществляли по t -критерию Стьюдента и F -критерию Фишера. Для проверки соответствия распределения выборочных значений закону нормального распределения применяли критерий Колмогорова – Смирнова. В условиях неподчинения закону нормального распределения применяли U -критерий Манна – Уитни. Различия величин признавали статистически значимыми при критическом уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Через 12 часов от момента введения камер со стафилококком на фоне коррекции азоксимера бромидом вокруг них сформировался мощный лейкоцитарный вал толщиной 328 ± 55 микрометров (мкм) с плотностью клеток в вале $25,4 \pm 0,8$ на 1000 мкм^2 . Клетки лежали плотно, наблюдался фагоцитоз нейтрофилами стафилококков, разрушенных фрагментов соединительной ткани и фибрина. Зона очага воспаления была отёчна. Основные показатели фагоцитоза нейтрофилов составляли: ФИ = $62,5 \pm 7,4$ %, ФЧ = $8,3 \pm 1,3$ микробных тел на клетку. В периферической зоне очага воспаления регистрировалась выраженная сосудистая реакция подкожной соединительной ткани. Через одни сутки микробного воспаления вокруг камер толщина лейкоцитарного вала была максимальной – $340,0 \pm 42,4$ мкм, плотность клеток составляла $26,8 \pm 1,7$ на 1000 мкм^2 . Большая часть нейтрофилов была аутолизирована и представляла клеточный детрит, который активно фагоцитировался макрофагами. Показатели фагоцитоза на этот срок составляли: ФИ = $73,0 \pm 8,3$ %, ФЧ = $11 \pm 2,7$ микробных тел на клетку. Через двое суток от начала воспаления толщина лейкоцитарного вала вокруг стенки камер снижалась до $307,5 \pm 55,3$ мкм с прежней плотностью лейкоцитов. Макрофаги регистрировались по периметру нейтрофилов. В периферической зоне очага воспаления регистрировалось незначительное уменьшение сосудистой реакции.

С 5-х суток от начала микробного воспаления с введением иммуномодулятора 90 % клеток в вале являлись зрелыми макрофагами, т. е. произошла смена лейкоцитарной фазы на макрофагическую. Фагоцитарная активность макрофагов была достаточно высокой, и к 7-м суткам свободно лежащих колоний стафилококка не регистрировалось. К 15-м суткам стафилококкового воспаления толщина вала и плотность макрофагов резко снижались: 166 ± 18

мкм и $18,4 \pm 1,1$ соответственно. Интенсивность фагоцитарной реакции макрофагов замедлялась. Данные показатели свидетельствовали о завершении макрофагической фазы микробного воспаления с коррекцией азоксимера бромидом. В дальнейшие сроки исследования воспалительного процесса сохранялся минимальный клеточный вал без проявлений фагоцитарной активности макрофагов.

Фибробластическая фаза у крыс с микробным воспалением с коррекцией азоксимера бромидом началась с 3-х суток, когда по периферии воспалительного очага на границе с лейкоцитарным валом появилась тонкая соединительнотканная капсула толщиной $96,0 \pm 13,7$ мкм с плотностью клеток $3,0 \pm 0,5$ на 1000 мкм^2 . На 5-е сутки воспалительного процесса регистрировалась фибробластическая капсула толщиной 230 ± 45 мкм с 4–5 параллельными рядами фибробластов и плотностью $3,3 \pm 0,4$ клеток на 1000 мкм^2 . Через 10 суток от момента введения камер со стафилококком на фоне лечения азоксимера бромидом толщина капсулы была максимальной – $318,3 \pm 46,2$ мкм, плотность клеток составляла $4,2 \pm 0,6$ на 1000 мкм^2 . В последующие сроки микробного воспаления с коррекцией иммуномодулятором наблюдалось снижение толщины соединительнотканной капсулы, её созревание. На 60-е сутки исследования инородное тело (диффузионная камера) по периметру было окружено плотной фиброзной капсулой толщиной 208 ± 24 мкм с плотностью клеток $5,9 \pm 1,0$ на 1000 мкм^2 . Капсулу составляли 8–10 рядов фибробластов, слоёв коллагена и кровоснабжающих капсулу капилляров. Подлежащая соединительная ткань соответствовала нормальным структурным параметрам.

При моделировании микробного воспаления с коррекцией азоксимера бромидом было получено достаточно быстрое (для стафилококкового процесса) течение всех клеточных воспалительных реакций. Нейтрофильная фаза этой серии воспаления регистрировалась на протяжении пяти суток от начала процесса с максимумом толщины вала через одни сутки. Макрофагическая реакция началась с 5-х суток и завершилась к 15-м суткам от начала воспаления, когда макрофаги полностью очистили очаг от стафилококка и девитализированных тканей. Фибробластическая фаза заканчивалась к 60-м суткам микробного воспаления формированием плотной фиброзной капсулы, изолирующей инородное тело от подлежащих тканей.

Нами показано, что токсины стафилококка угнетают выработку активных форм кислорода фагоцитирующими клетками, что препятствует эффективному фагоцитозу [1]. Под действием азоксимера бромида происходит активация внутриклеточных активных форм кислорода и азота [4], в результате чего бактерицидная способность нейтрофилов и макрофагов восстанавливается и даже усиливается, что приводит к снижению длительности лейкоцитарной, а затем и макрофагической фаз экспериментального воспаления. Сокращению времени протекания и повышению эффективности лейкоцитарной фазы у животных с микробным воспалительным процессом при лечении азоксимера бромидом, по-видимому, способствовало также мембранопротективное действие данного препарата. Известно, что токсины стафилококка обладают цитолитическим эффектом на фагоциты посредством повреждения их мембран [8], азоксимера бромид же защищает клеточные мембраны от токсических веществ [4]. Активация функций фагоцитирующих клеток очага воспаления азоксимера бромидом, по нашему мнению, опосредованно улучшила динамику фазы образования соединительнотканной капсулы.

Заключение

Таким образом, применение иммуномодулятора азоксимера бромида сократило длительность клеточных реакций микробного воспаления. Азоксимера бромид улучшил миграционные, фагоцитарные, синтетические возможности клеток, реализующих процесс воспаления, что препятствовало его затягиванию. Данный иммуномодулятор обладает широким спектром действия: иммуномодулирующим,

детоксицирующим, мембраностабилизирующим, антиоксидантным, что делает этот препарат актуальным для предупреждения хронизации воспалительных процессов.

Литература

1. Бактериальные инфекции кожи и их значение в клинической практике дерматолога / С. А. Масюкова [и др.] // *Consilium Medicum*, 2004. – Т. 6, № 3. – С. 21–25.
2. Клебанов Г. И. Изучение антиоксидантных свойств иммуномодулятора полиоксидония / Г. И. Клебанов, О. Б. Любичский, В. А. Дьяконова // *Иммунология*, 2005. – № 4. – С. 200–205.
3. Пинегин Б. В. Современные представления о стимуляции антиинфекционного иммунитета с помощью иммуномодулирующих препаратов / Б. В. Пинегин // *Антибиотики и химиотерапия*. – 2000. – № 12. – С. 3–8.
4. Пинегин Б. В. Иммуномодулятор полиоксидоний: механизмы действия и аспекты клинического применения / Б. В. Пинегин, А. В. Некрасов, Р. М. Хаитов // *Цитокины и воспаление*. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 41–47.
5. Тузанкина И. А. Применение полиоксидония в терапии вульгарного псориаза / И. А. Тузанкина, Н. Н. Филимонкова, Э. Р. Бердникова // *Иммунология*. – 2005. – № 4. – С. 239–243.
6. Хаитов Р. М. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // *Иммунология*. – 2000. – № 5. – С. 4–7.
7. Хаитов Р. М. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // *Иммунология*. – 2003. – № 4. – С. 196–203.
8. Chemical inhibitor of Alpha-Toxin, a key corneal virulence factor of *Staphylococcus aureus* / C. C. McCormick [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2009. – Vol. 50, N 6. – P. 2848–2854.

Research of the corrective effect of azoximer bromide in experimental microbial inflammation in laboratory animals

S. N. Serebrennikova, I. Zh. Seminsky, N. V. Semenov, E. V. Guzovskaya

Irkutsk State Medical University, Irkutsk

Annotation. The basic characteristics of cell reactions in experimental microbial inflammation with correction by the azoximer bromide are presented. It characterizes of leukocyte's phase (duration 5 days from start of damage), macrophagous phase (15 days) and fibroblast phase (60 days).

Key words: azoximer bromide, staphylococcus, microbial inflammation, cell reactions.

Серебренникова Светлана Николаевна
Иркутский государственный
медицинский университет
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1
ассистент
тел. (3952) 24-07-65
E-mail: swetlannik@rambler.ru

Семинский Игорь Жанович
Иркутский государственный
медицинский университет
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1
доктор медицинских наук, заведующий кафедрой
тел. (3952) 24-07-65
E-mail: igorsemin59@mail.ru

Семенов Николай Владимирович
Иркутский государственный
медицинский университет
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1
кандидат медицинских наук
старший преподаватель
тел. (3952) 24-38-25

Гузовская Евгения Владимировна
Иркутский государственный
медицинский университет
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1
кандидат медицинских наук, доцент
тел. (3952) 24-07-65
E-mail: prokopyewa@rambler.ru

Serebrennikova Svetlana Nikolaevna
Irkutsk State Medical University
1 Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003
assistant
phone: (3952) 24-07-65
E-mail: swetlannik@rambler.ru

Seminsky Igor Zhanovich
Irkutsk State Medical University
1 Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003
D. Sc. of Medicine, Head of chair
phone: (3952) 24-07-65
E-mail: igorsemin59@mail.ru

Semenov Nikolai Vladimirovich
Irkutsk State Medical University
1 Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003
Ph. D. in Medicine, senior lecturer
phone: (3952) 24-07-65

Guzovskaya Evgeniya Vladimirovna
Irkutsk State Medical University
1 Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003
Ph. D. in Medicine, ass. prof.
phone: (3952) 24-07-65
E-mail: prokopyewa@rambler.ru