

**ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА
НА ГИАЛУРОНИДАЗУ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У МЫШЕЙ****С. Ф. Сулейманов, Ч. К. Хайруллаев, И. Б. Шукуров, Н. О. Наврузова**
Бухарский государственный медицинский институт, Бухара, Узбекистан

Ключевые слова: гиалуронидаза, мыши–гибриды, клеточный иммунитет, сульфат декстрана, полиоксидоний, индукция.

Таянч сўзлар: гиалуронидаза, дурагай сичқонлар, хужайравий жавоб, сульфат-декстран, полиоксидоний, кўзгалиш.

Keywords: hyaluronidase, mouse–hybrids, cellular immunity, dextran sulfate, polyoxidonium, induction.

В статье представлены данные по экспериментальному изучению иммуностимулирующих свойств полиионов – СД и ПО – у мышей-гибридов. Было установлено, что антиген Hyal. обладал низкой иммуногенностью. Изучение иммуноаdjувантных особенностей СД, ПО к Hyal. при исследовании их влияния на клеточные реакции ГЗТ показало, что только СД индуцировал данный тип ответа у мышей. По своим иммуностимулирующим свойствам в отношении клеточных реакций ГЗТ на Hyal. СД уступал ПАФ.

**ТАЖРИБАДА СИЧҚОНЛАРДА ГИАЛУРОНИДАЗАГА НИСБАТАН
ХУЖАЙРАВИЙ ИММУН ЖАВОБИНИ ЎРГАНИШ****С. Ф. Сулейманов, Ч. К. Хайруллаев, И. Б. Шукуров, Н. О. Наврузова**
Бухоро давлат тиббиёт институти, Бухоро, Ўзбекистон

Мақолада дурагай сичқонларда СД ва ПО полиионларнинг иммунорағбатлантирувчи хоссалар тажрибада ўрганилиб, унинг натижалари кўрсатилган. Шу аниқландики, Hyal. жуда паст иммуногенлик хоссаларга эга эди. СД, ПО Hyal. га иммуноаdjувантлик хусусиятларини ўрганиш жараёнида ва ушбу моддаларнинг таъсирини СТС лик хужайравий реакцияларда текширишлар шуни кўрсатдики, ушбу турдаги иммун жавобини фақат СД кўзгатган. Hyal. га қарши СТСлик хужайравий реакцияларда СД ўзининг иммунорағбатлантирувчи хоссалари бўйича ФТА дан паст эди.

**THE STUDY OF CELLULAR IMMUNE RESPONSE ON
THE HYALURONIDASE IN THE EXPERIMENT IN MICE****S. F. Suleymanov, C. K. Khayrullayev, I. B. Shukurov, N. O. Navruzova**
Bukhara state medical institute, Bukhara, Uzbekistan

In article are presented the data on experimental studying immunostimulating properties of polyions SD and PO – at mice–hybrids. It was established, that antigene Hyal. possessed low immunogenicity. Studying immunoadjuvanticity SD, ON to Hyal. at research of their influence on cellular reactions DTH has shown, that only SD induced the given type of the response at mice. On the immunostimulating to properties concerning cellular reactions DTH on Hyal. SD conceded CFA (mycobacterial adjuvants).

Известно, что гиалуроновая кислота являясь по своей природе кислым мукополисахаридом, функционирует и участвует в качестве необходимого компонента, который цементирует межклеточный материал в соединительной ткани. Она в большом количестве содержится в синовиальной жидкости, а также является структурным элементом стенки капилляров [1].

Гиалуронидаза (Hyal.) – это фермент из класса лиаз, который, действуя на р-1->4-связь, деполимеризует и таким образом расщепляет гиалуроновую кислоту [1, 2].

Hyal. продуцируется многими микроорганизмами бактериальной и паразитарной форм и индуцирует патологические процессы в организме хозяина. Настоящий энзим является фактором патогенности и агрессивности микробов. Hyal. способствует интродукции и инвазии паразитов в инфицированном организме. Hyal. играет важную роль в патогенезе многих паразитарных болезней [2, 3].

Следовательно, актуальным является исследование влияния Hyal. на иммунную систему животных.

Цель работы – исследование клеточного иммунного ответа на Hyal. в эксперименте у мышей.

Материал и методы. В экспериментах использовали мышей-гибридов (СВАхС57В1/6) F1 с массой 18-24 г. В качестве антигена использовали HyaI. фирмы «Serva Finebiochem.». HyaI. Растворяли в 0,9% растворе NaCl. Мышей иммунизировали в следующих вариантах: HyaI., HyaI. в комплексе с полиоксидонием (ПО), HyaI. в комплексе с сульфатом декстрана (СД) («Sigma Chem. Co»), эмульсией HyaI. в полном адьюванте Фрейнда (ПАФ, «Calbiochem») подкожно в основание хвоста, через 1 месяц реиммунизировали мышей. Вторичную иммунизацию проводили аналогично первичной из расчёта 10 мкг HyaI./мышь. Доза СД составляла 300 мкг, ПО - 200 мкг на мышь.

Интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) оценивали общепринятым способом (4) по величине индуцированного HyaI. отёка подушечек задних лапок. Оптимальные условия постановки теста на кожную ГЗТ к антигену HyaI. подобраны заранее в специальных методических экспериментах. Для учета ГЗТ разрешающую микроинъекцию HyaI. производили внутривожно в дозе 50 мкг HyaI. в 20 мкл 0,9% стерильного раствора NaCl в подушечку левой задней лапки подопытных и контрольных мышей. В правые лапки вводили 20 мкл NaCl. Через 24 ч с помощью микрометра измеряли толщину левой и правой лап. За величину отёка (ВО) принимали разницу между средними величинами толщины левой и правой лапок. Индекс отёка (ИО) вычисляли по формуле:

$$\text{ИО} = (\text{ВО}_{\text{оп}} - \text{ВО}_{\text{к}}) / \text{ВО}_{\text{оп}},$$

где ВО_{оп} – величина отёка в опытной группе, ВО_к - величина отёка в контрольной группе, получавшей вместо антигена HyaI. инъекцию 0,9% раствора NaCl. Клеточную реакцию ГЗТ изучали в динамике спустя 1 неделю после первой иммунизации мышей, а также через 2 и 4 недели после повторной иммунизации. Идентичные эксперименты повторяли 7 раз.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований, приведенных в табл. 1 и 2, продемонстрировали, что HyaI. вызывала у мышей очень слабый специфический клеточный иммунный ответ на всем протяжении эксперимента. В данной группе максимальный уровень Т-клеточной реакции ГЗТ (Т-эффекторы ГЗТ) на HyaI. приходился на 4 нед. вторичного иммунного ответа (ИО = 1,6).

Иммунизация мышей комплексом полианионной природы HyaI.+СД приводила к индукции клеточной реакции, специфичной к HyaI., в 2–2,5 раза более интенсивную, нежели при введении одного лишь антигена HyaI. После двукратной иммунизации данным комплексом пик Т-клеточной реакции ГЗТ приходился на 2 нед. вторичного иммунного ответа с ВО_{оп} 0,09 и ИО=8,0.

Совместное введение мышам HyaI. в составе ковалентного комплекса с поликатионом полиоксидонием (HyaI.+ПО) в дозах 200 мкг/мышь и 300 мкг/мышь не приводило к заметной индукции специфических Т-клеточных реакций ГЗТ на данный антиген (табл. 1 и 2). Использование в качестве репера положительной реакции ПАФ к HyaI. индуцировало у мышей интенсивную клеточную реакцию, специфичную в отношении HyaI., в динамике как после первичного, так и вторичного иммунного ответа. При этом происходило повышенное образование Т-эффекторов ГЗТ в региональной лимфоидной ткани.

В ответ на разрешающую инъекцию HyaI. в подушечку задней лапки развивалась реакция ГЗТ (ИО = 2,0 – 15,0) в 2-8 раза более интенсивная, чем у мышей, иммунизированных только HyaI. (ИО = 1,0 – 1,6). Пик максимального клеточного ответа ГЗТ приходился на 2 нед. после повторной иммунизации (табл. 2).

Полученные данные свидетельствуют о том, что полианион СД обладает определенным иммуoadьювантным действием в отношении антигена HyaI., проявившемся в его влиянии на клеточную иммунную систему мышей.

И что, особенно, важно, HyaI. – очень слабый иммуноген для мышей-гибридов вышеприведенной линии. В предыдущих исследованиях мы установили, что СД в значительной

Таблица 1.

**Интенсивность реакции ГЗТ, оцениваемая по ВО и ИО.
В скобках указан доверительный интервал при $p=0,05$.**

№	Срок Группы	Первичный иммунный ответ	
		1 неделя	
		ВО	ИО
1.	10 мкг Нуал.	0,04 (0,02-0,06)	1,0
2.	10 мкг Нуал., 300 мкг СД	0,08 (0,03-0,13)	3,0
3.	10 мкг Нуал., 200 мкг ПО	0,03 (0,02-0,04)	0,5
4.	10 мкг Нуал., 300 мкг ПО	0,03 (0,01-0,05)	0,5
5.	10 мкг Нуал. в ПАФ	0,17 (0,07-0,27)	7,5
6.	0,2 мл ФР	0,02 (0,01-0,03)	-

Таблица 2.

**Интенсивность реакции ГЗТ, оцениваемая по ВО и ИО.
В скобках указан доверительный интервал при $p=0,05$.**

№	Срок Группы	Вторичный иммунный ответ			
		2 неделя		4 неделя	
		ВО	ИО	ВО	ИО
1.	10 мкг Нуал.	0,02 (0,01-0,03)	1,0	0,05 (0,02-0,08)	1,6
2.	10 мкг Нуал., 300 мкг СД	0,09 (0,05-0,013)	8,0	0,07 (0,04-0,10)	1,3
3.	10 мкг Нуал., 200 мкг ПО	0,03 (0,02-0,05)	2,0	0,02 (0,01-0,03)	-0,3
4.	10 мкг Нуал., 300 мкг ПО	0,04 (0,03-0,05)	3,0	0,04 (0,02-0,06)	0,3
5.	10 мкг Нуал. в ПАФ	0,16 (0,07-0,27)	15,0	0,09 (0,05-0,13)	2,0
6.	0,2 мл ФР	0,01 (0 – 0,02)	-	0,03 (0,02 – 0,04)	-

степени активировал гуморальный (антительный) иммунный ответ на Нуал. [3].

Напротив, поликатион ПО в составе комплекса с Нуал. и в различных дозах не был способен к стимуляции Т-клеточных реакций ГЗТ в эксперименте и по иммуноадьювантным свойствам уступал как СД, так и ПАФ, однако последнему он уступал в ещё большей мере.

Таким образом, в полианион СД превосходил поликатион ПО по способности индуцировать генерацию специфических Т-эффекторов ГЗТ Нуал. СД оказался более эффективным иммуноадьювантом по отношению к Нуал., однако следует признать, что он по своему иммуностимулирующему действию заметно уступал ПАФ.

Использованная литература:

1. Генералов И.И. Некоторые аспекты иммунного ответа на гиалуронидазу как фактор агрессии микроорганизмов // В кн.: Актуальные вопросы патогенеза и терапии инфекционных и паразитарных болезней. Л. 1987. С. 10–16.
2. Росин Я.А. Биохимические регуляторы проницаемости // В кн.: Физиология гисто–гематических барьеров. М.: Наука. 1977. С. 60-73.
3. Сулейманов С.Ф., Зулфикаров А.Н., Раджабов А.Б., Сулейманова Г.С. Об активации иммунитета на гиалуронидазу // Инфекция, иммунитет и фармакология. 2017. Спец. вып. Часть 1. С. 182-185.
4. Magiel-Plotkowski M.S., Ferreira Dias M.F.B., Suassuna I. //Rev. Lat.-Amer. Microbiol. 1987. Vol. 29. P. 277-282.