

УДК 612.828 + 612.33.336.3: 612.014.45

Н.О. КОТЕШОВА

РОЛЬ ВЕРТИКАЛЬНОГО УКАЧИВАНИЯ В РАЗВИТИИ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ЭНДОТОКСИНАМ

В желудочно-кишечном тракте млекопитающих содержится огромное количество как аэробных, так и анаэробных микроорганизмов [7; 8]. Это сосуществование возможно за счет того, что между макроорганизмом и отдельными микробами установились симбионтные отношения, в процессе которых два биологических вида – определенный вид микробов и определенный вид млекопитающих (в частности, человек), взаимно благоприятствуют осуществлению процессов жизнедеятельности друг друга (примером таких взаимоотношений может служить сосуществование макроорганизма и *E.coli*). Симбионтные отношения человека и *E.coli* могли возникнуть при наличии определенной толерантности к антигенам этого микроба, что является следствием низкой иммуногенности ряда представителей нормальной микрофлоры, которая развилась в процессе эволюции, как селективное преимущество перед штаммами с высокой антигенной и инвазивной способностью [4]. Кроме того, в открытых полостях создается ряд дополнительных биологических факторов, обусловленных процессами антагонизма и симбиоза бактерий, особенностью микробных ассоциаций, процессами спонтанной активации вирусов и другими факторами, возникающими в биоценозе, что также может приводить к утрате патогенных свойств условнопатогенными микробами. Низкой антигенностью обладает ряд микробов, содержащих гетерогенные антигены, которые оказывают толерогенное влияние. С другой стороны, появление гетерогенных антигенов может, наоборот, приводить к повышению патогенных свойств микробов, особенно при ослаблении защитной реакции макроорганизма [4].

Наряду с существующей в организме *естественной* толерантностью к некоторым представителям нормальной микрофлоры, приобретенной в ходе эволюции, состояние иммунологической толерантности может возникнуть в ходе инфицирования организма бактериальными и вирусными антигенами, способными оказывать толерогенное влияние на систему клеточного иммунитета, а также продуктами их жизнедеятельности, это так называемая *индуцированная иммунологическая толерантность*.

В ходе исследований было установлено, что толерантность к чужеродным антигенам осуществляется теми же механизмами, что и ауто толерантность, однако, возможно, индуцированная толерантность обеспечивается не элиминацией специфических к данному антигену клонов лимфоидных клеток, а толерантностью каждой лимфоидной клетки. Различают три вида индуцированной иммунологической толерантности: а) *индуцированная полная* – искусственно созданное состояние ареактивности к тому или иному антигену; б) *индуцированная частичная* – снижение реакций гуморального и клеточного иммунитета; в) *индуцированная гомеостатическая* – появление механизмов, защищающих организм от перепроизводства антител, т.е. специфическое торможение синтеза антител. К явлениям иммунологической толерантности относят также иммунологический паралич Фелтона и феномен Сульцбергера-Чейза.

Состояние иммунологической толерантности, именуемое *иммунологическим параличом Фелтона*, можно вызвать у мышей введением больших доз

(500 мкг) полисахаридных антигенов, длительно сохраняющихся в тканях [1; 2; 4]. Очень высокие дозы полисахаридных антигенов вызывают паралич большинства антигенспецифических В-клеток, связываясь с их поверхностными рецепторами. Постоянная концентрация антигена, циркулирующего в организме, поддерживается, с одной стороны, за счет выхода антигена из фагоцитирующих клеток в кровотоке, а с другой – за счет возращения антигена в фагоцитирующие клетки, которые служат его резервуаром [2]. Таким образом, основную роль в индукции иммунологического паралича играет фагоцитоз.

Отдельные антигены оказывают избирательное толерогенное влияние на систему клеточного иммунитета. Так в ходе ряда исследований было показано, что внутривенное введение некоторых веществ в последующем препятствует развитию замедленной гиперчувствительности к этим антигенам [4]. Указанное явление носит название *феномена Сульцберга-Чейза*.

Уровень иммунологической ареактивности, создаваемой искусственно, зависит от ряда факторов, например, от концентрации антигена. Высокая доза антигена (10-100 мг), как правило, вызывает кратковременное повышение титра антител с последующим понижением и частичным параличом. Введение очень малых доз антигена вызывает только очень медленную слабую реакцию и уже на ранней стадии приводит к развитию иммунологического паралича [1]. После первичного контакта проиммуноцитов с антигенной детерминантой в зависимости от концентрации антигена может реализоваться одна из двух возможностей: положительная реакция – коммитирование клеток, ведущее к пролиферации и образованию антител, или отрицательная реакция – повреждение клетки и ее элиминация. Анализ результатов экспериментальных работ свидетельствует в пользу того, что при первичном контакте проиммуноцитов с избыточным количеством антигена вероятность вступления клеток на путь, ведущий к иммунологическому параличу, всегда больше вероятности иммунологического коммитирования их к образованию антител или к превращению в клетки иммунологической памяти [2; 3]. Кроме того, несомненно, существует ряд условий, которые в большей мере благоприятствуют возникновению “самостерилизующихся”, “тупиковых” клеток, чем клеток иммунологической памяти.

Кроме того, положительный или отрицательный иммунный ответ определяется физическим состоянием антигена. Например, агрегированные белковые антигены всегда иммуногенны, в то время как растворимые мономерные формы тех же антигенов могут быть или иммуногенными, или индуцировать толерантность (быть толерогенными) [3].

Иммунологической толерантности свойственна градация количественных и качественных проявлений от частичного снижения иммунного ответа на данный антиген до полной ареактивности. Таким образом, индуцированную иммунологическую толерантность можно определить как полное или же частичное торможение вторичного иммунного ответа на гомологичный антиген или же как незавершенный иммунологический процесс [4]. В сущности, индуцированная иммунологическая толерантность представляет собой вторичный ответ, проявляющийся не повышенной, а пониженной реакцией организма на повторное введение чужеродного антигена или ее полным отсутствием.

Толерантность, вызываемая живыми клетками, фактически постоянна, возможно, вследствие того, что клетки размножаются и продолжают непрерывную антигенную стимуляцию. Напротив, продолжительность толерантности, созданной перегрузкой белковыми антигенами, гораздо меньше (несколько недель), если ее не поддерживать повторными инъекциями. Если это не происходит, состояние толерантности исчезает и сменяется способностью к синтезу антител [2].

В настоящее время основным органом, связанным с развитием толерантности, является *тимус*. В ходе ряда экспериментальных работ было установлено, что при введении антигенных структур в организм, наблюдается их диффузное распределение по всей лимфоидной ткани, в том числе и по тимусу. Судя по подсчету количества зерен, в каждой клетке тимуса содержалось несколько тысяч молекул антигена. Было высказано предположение о том, что прямой контакт антигена с реакционноспособной лимфоидной клеткой приводит к толерантности, тогда как встреча клетки с антигеном, соответствующим образом обработанным дендритными фагоцитирующими клетками и фиксированным на их мембранах, ведет к пролиферации и к развитию иммунитета [1].

Механизм реакции толерантности окончательно не выяснен, но ее следствием является либо элиминация лимфоцитов, несущих клеточные рецепторы, специфичные для определенных детерминант, либо неспособность таких лимфоцитов активироваться (паралич) при взаимодействии с этими детерминантами [1; 3; 6].

Теоретическое объяснение иммунологической толерантности можно дать как на основе *инструктивной* теории, так и на основе *селекционно-клональной* теории иммунитета. Исходя из инструктивной теории иммуногенеза, можно предположить, что антиген оказывает депрессивное влияние на лимфоидные клетки, предотвращая их пролиферацию и дифференцировку. Согласно селекционно-клональной теории иммунитета, антиген, локализованный в тканях, стимулирует пролиферацию, но вызывает гибель ряда поколений специфических клонов лимфоидных клеток в момент их гиперчувствительности к данному антигену. Этот механизм приводит к истощению специфических клонов, чем и обуславливается состояние толерантности [4]. Однако, вероятнее всего, индукция толерантности является кооперативным процессом, обусловленным несколькими причинами, а не только прямой антигеносредуемой элиминацией или параличом реактивных клонов [3].

Полагают, что основой патогенности для определенного вида микробов является толерантность к его антигенам в связи с наличием антигенного сходства микробов и тканей макроорганизма. При высокой толерантности к данному виду микробов развитие патологического процесса, очевидно, возможно только как реакция на токсическое вещество, т.е. при проникновении микробов из полости кишечника во внутреннюю среду организма [4]. Нерациональное применение антибиотиков, антацидных средств, загрязнение окружающей среды, гипоксия, повреждение метасимпатической нервной системы, геморрагический шок, ожоги, дисрегуляция моторной деятельности кишечника, нерациональное и несбалансированное питание, травмы различной этиологии, системная артериальная гипертензия, заболевания печени, острые панкреатиты [7; 8; 9; 10], действие стрессовых факторов, например, тех, которые сопровождают укачивание [5] провоцируют развитие комплекса нарушений, таких как неконтролируемое размножение бактериальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, нарушение баланса аэробных и анаэробных микробов в желудочно-кишечном тракте, нарушение моторной деятельности кишечника, структурно-функциональные изменения в слизистой оболочке кишечника, ослабление иммунной системы организма, которые, в свою очередь, способствуют перемещению бактерий и продуктов их жизнедеятельности во внутреннюю среду организма [7; 8; 9].

В макроорганизме существует целый ряд защитных механизмов, направленных на предотвращение поступления бактерий во внутреннюю среду организма. Эти защитные механизмы подразделяют на две большие группы, одна из которых включает те, которые направлены на формирование условий, необхо-

димых для оптимального баланса кишечной микрофлоры (при соблюдении этого условия транслокация отсутствует). Другая группа защитных механизмов направлена на активацию иммунной системы как на локальном (в пределах желудочно-кишечного тракта), так и системном уровнях [5; 8; 9].

При проникновении эндотоксина в системный кровоток происходит активация иммунной системы на уровне всего организма с привлечением как неспецифических защитных механизмов (клеточных и гуморальных), так и специфических (клеточный и гуморальный иммунитет), основанных на формировании специфических реакций иммунных ответов, одним из компонентов которых является антитела [3; 6].

Однако в некоторых случаях реакция иммунной системы на внедрение антигена может сопровождаться рядом неординарных явлений, таковыми являются феномен Беринга и тахифилаксия. *Феномен Беринга* (парадоксальная чувствительность к токсинам) характеризуется тем, что при повторных иммунизациях животных некоторыми токсинами наблюдалась гибель животных при общей дозе токсина значительно меньше летальной, при этом в сыворотке крови антитела содержались в количестве, способном нейтрализовать сотни смертельных доз токсина [4].

Под *тахифилаксией* в настоящее время подразумевается состояние повышенной устойчивости к заражению патогенными микробами, возникшее в течение очень короткого времени – нескольких часов или даже минут после введения веществ, индуцирующих состояние повышенной устойчивости [4].

Следует подчеркнуть, что все иммунологические явления носят характер градуальных, т.е. для них характерна количественная выраженность и ее постепенное изменение. Иммунологические реакции не относятся к числу реакций типа “все или ничего”. Возникновение каждой данной реакции при встрече клетки с антигеном можно выразить только в виде вероятности, величина которой зависит не только от четко определяемых факторов, как то структуры антигенной детерминанты и ее концентрации в среде, но и от многих других условий, по существу представляющих собой сложный комплекс факторов, реализующихся на клеточном уровне, а также генетических и экологических факторов, определяющих ход эволюции на макроуровне [2].

Иммунный ответ организма, который предварительно подвергался дозированному вертикальному укачиванию, на введение эндотоксинов, в частности на ЛПС *E. coli*, непредсказуем. Он может быть таким же, как ответ контроля, носить двух- или однофазный характер, быть усиленным или, наоборот, ослабленным и т.д., с целью конкретизации данного вопроса было проведено данное исследование.

Цель работы: изучить особенности изменений глубокой температуры у крыс, подвергнутых дозированному вертикальному укачиванию, в условиях внутрибрюшинного введения липополисахарида (ЛПС) *E. coli* в количестве 10 мг/кг.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на 30 белых крысах-самцах массой 220-270 г. Осуществлялась предварительная подготовка животных к условиям эксперимента на протяжении 10-12 дней. Животные были разделены на три равные группы. Экспериментальные животные каждой группы подвергались вертикальному укачиванию на специальном стенде с ускорением 0,3g на протяжении 45 минут с двумя 15-минутными интервалами, в течение которых животные находились в покое. Контрольную группу составляли животные, которые находились в экспериментальной комнате, но не подвергались укачиванию. Животным первой группы

вводился внутривнутрибрюшинно ЛПС (0,5 мл, *Escherichia coli*, 0111: B4, List Biological Laboratories, Campbell CA; lot No LPS-25E) в количестве 10 мг/кг на следующий день после укачивания. Животным второй и третьей группы внутривнутрибрюшинное введение ЛПС *E. coli* в таком же количестве осуществлялось, соответственно, на 3-й и 7-й день после укачивания. После введения ЛПС у животных проводилась регистрация глубокой (ректальной) температуры на протяжении 6 часов с момента инъекции.

Результаты и их обсуждение

В первой группе животных введение ЛПС приводило к развитию двухфазной лихорадки, увеличение глубокой температуры в первую фазу составило $1,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Во второй и третьей группах после введения ЛПС наблюдалось монофазное увеличение ректальной температуры на $0,8 \pm 0,1^\circ\text{C}$ и $0,4 \pm 0,2^\circ\text{C}$, соответственно (см. рис.).

Несмотря на то, что в макроорганизме существует целый ряд защитных механизмов: деятельность облигатных и факультативных бактерий, протекторные свойства слизи, антибактериальная активность соляной кислоты, сока поджелудочной железы, детергентные свойства желчных кислот, адекватная перистальтическая активность кишечника и др. [5; 8; 9], призванных предупредить проникновение бактерий и эндотоксинов во внутреннюю среду организма, воздействие некоторых стрессовых факторов, в частности вертикального укачивания, провоцирует перемещение эндотоксина за пределы желудочно-кишечного тракта и поступление его в центральный кровоток. В ответ на внедрение антигенных детерминант происходит активация иммунной системы как на местном, так и центральном уровнях.

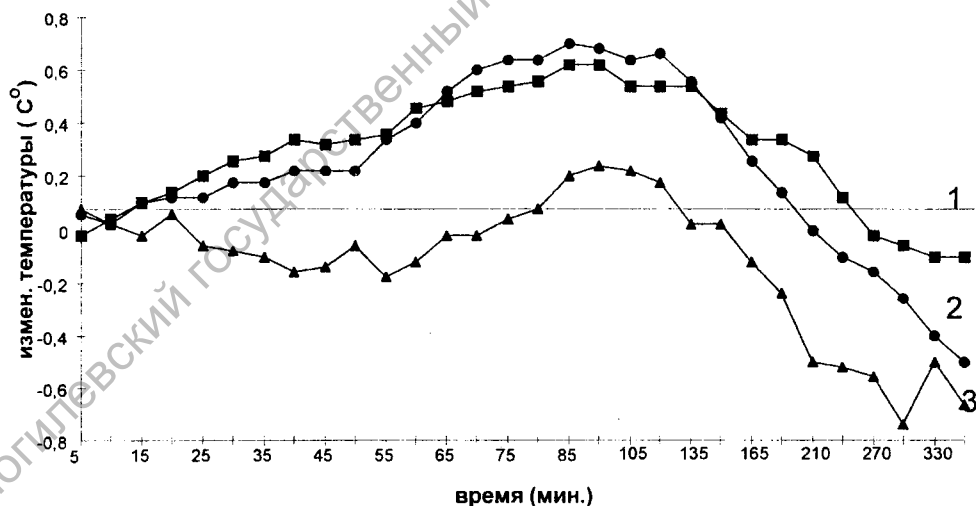


Рис. Изменения глубокой температуры у крыс на 2-ой (1), 3-й (2) и 7-ой день после вертикального укачивания в условиях внутривнутрибрюшинного введения 10 мг/кг липополисахарида (ЛПС) *E. coli*

При этом возможно развитие как положительного иммунного ответа, сопровождающегося комплексом неспецифических (стресс-реакция, температурная реакция, неспецифическая фагоцитарная реакция, воздействие на возбудителя неспецифических гуморальных факторов – система пропердина, лизины, лизоцим)

и специфических защитных механизмов (дифференцировка лимфоцитов, синтез антител, возникновение иммунологической памяти), так и отрицательному, например, толерантности.

Поскольку введение ЛПС животным, которые подвергались вертикальному укачиванию, ведет к пониженной ответной реакции организма, то, вероятнее всего, ранее транслоцированный эндотоксин ведет к развитию толерантности, появление которой, согласно литературным данным [1; 2; 3], достигается элиминацией или ингибированием лимфоидных клеток, способных проявить иммунологическую реактивность по отношению к данным антигенам. Из результатов эксперимента также следует, что для развития толерантности (о ее наличии свидетельствует снижение ответной реакции организма на введение полисахарида, например, монофазность лихорадочных явлений) к эндотоксину, поступившему из просвета кишечника во внутреннюю среду организма, требуется не менее 3, 7 дней после воздействия стрессового фактора (вертикального укачивания).

Таким образом, проникновение во внутреннюю среду организма малых доз антигена вызывает, как правило, только медленную слабую реакцию и уже на ранней стадии приводит к развитию толерантности, которая, скорее всего, является непродолжительной, при условии, что в организм не поступают дополнительные количества данного антигена.

На основании результатов исследования были сделаны следующие *выводы*:

1. На второй день после вертикального укачивания не выявлено достоверных различий в сдвигах глубокой температуры у экспериментальных животных по сравнению с контролем после внутрибрюшинного введения 10 мг/кг липополисахарида (ЛПС) *E. coli*.
2. Внутрибрюшинное введение 10 мг/кг липополисахарида *E. coli* на 3-ий день после вертикального укачивания сопровождалось достоверным снижением подъема глубокой температуры у экспериментальных животных по сравнению с контролем.
3. На 7-ой день после вертикального укачивания у экспериментальных животных обнаружено еще большее снижение ректальной температуры по сравнению с 3-им днем после внутрибрюшинного введения 10 мг/кг липополисахарида *E. coli*.
4. Полученные факты свидетельствуют о развитии у крыс толерантности к липополисахариду *E. coli* на 3, 7-ой день после вертикального укачивания.
5. Вертикальное укачивание является одним из факторов, способствующих транслокации микрофлоры из полости кишечника во внутреннюю среду организма. Проникновение эндотоксина во внутреннюю среду организма инициирует развитие комплекса защитных реакций, одним из проявлений которого является снижение ответной реакции на повторное попадание микрофлоры и/или продуктов ее жизнедеятельности – эндотоксинов – в организм (толерантность).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бернет Ф. Клеточная иммунология. – М., Мир, 1971. – 572 с.
2. Бойд У. Основы иммунологии. – М.: Мир, 1969. – 729 с.
3. Вейсман И. Л., Худ Л. Е., Вуд У. Б. Введение в иммунологию. – М.: Высш. шк., 1983. – 160 с.
4. Вершигора А. Е. Основы иммунологии. – К.: Вища школа, 1975. – 320 с.
5. Кульчицкий В. А. и др. Роль микрофлоры кишечника в проявлении вегетативных дисфункций в условиях вертикального укачивания // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2000. – № 1. – С.91-92.

6. Руководство по иммунологии / Под ред. **О. Е. Вязова, Ш. Х. Ходжаева.** – М., Медицина, 1973. – 391 с.
7. **Batt R. M., Rutgers H. C., Sancak A. A.** Enteric bacteria: Friend or foe? // Journal of Small Animal Practice. – 1996. – Vol. 37. – P.261-267.
8. **Deitch E. A.** Bacterial Translocation of the Gut Flora // Journal of Trauma. – 1990. – Vol. 7. – P.184-189.
9. **Deitch E. A., Swank G. M.** Role of the Gut in Multiple Organ Failure: Bacterial Translocation and Permeability Changes // World Journal of Surgery – 1996. – Vol. 20. – P. 411-417.
10. **Kama N. A., Yazgan A., Aksoy M.** The Effects of Vagotomy on Bacterial Translocation: An Experimental Study // Journal of Surgical Research. – 1997. – Vol. 71. P.166-171.

SUMMARY

The gravitational factor (in conditions of vertical swinging) induces translocation of bacteria and/or endotoxins from the intestine to the internal milieim of the body. Invasion of blood and lymph by endotoxin initiates the development of a complex of defense responses, a manifertation of which is a decrease on the response to a repeated entry of endotoxin to the body – tolerance.