

Показатели состояния клеток моноцитарно-фагоцитарной системы как характеристика изменения общей иммунореактивности организма после применения продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса

И. В. Рассоха¹, А. Н. Гольцев¹, Л. В. Останкова¹, М. А. Михалин²

¹ Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

² Харьковский государственный медицинский университет

Indices of the State of Monocyte-Phagocyte System Cells as the Characteristics of the Change in Total Immune Reactivity of an Organism after Application of the Products of Embryofetoplacental Complex

RASSOKHA I.V.¹, GOLTSEV A.N.¹, OSTANKOVA L.V.¹, MIKHALIN M.A.²

¹ Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Kharkov

² Kharkov State Medical University

Изучали изменение структурно-функциональной организации клеток моноцитарно-фагоцитарной системы (МФС) при адъювантном артрите (АА). Предлагается возможность применения продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса (ПЭФПК), способных изменить состояние иммунокомпетентной сферы.

Вивчали зміни структурно-функціональної організації клітин моноцитарно-фагоцитарної системи при розвитку ад'ювантного артриту. Пропонується можливість застосування продуктів ембріофетоплацентарного комплексу, здатних змінювати стан імунікомпетентної сфери.

The change in structural and functional organisation of cells of monocyte-phagocyte system (MPhS) during adjuvant arthritis (AA) has been studied. There was proposed the possibility to apply the products of embryofetoplacental complex (PEFPC) capable of changing the state of immune competent sphere.

В последние годы наблюдается тенденция к росту патологий, имеющих аутоиммунный генез. К таким тяжелым и социально значимым формам аутоиммунных заболеваний (АИЗ) относится ревматоидный артрит (РА), характеризующийся прогрессирующим поражением периферических суставов по типу эрозивно-деструктивного полиартрита и различными внесуставными проявлениями [5,6].

Для лечения РА используют противовоспалительные препараты, недостатком которых является развитие побочных эффектов. Следовательно, необходимо оптимизировать методы терапии, базирующиеся на понимании механизмов развития процесса с участием в нем субстратов иммунной системы (ИС).

Как известно, в патогенезе ранних стадий РА преобладающее значение имеет кооперативно реализуемый Т-клеточно-моноцитарно-макрофагальный механизм, запускающий синтез таких провоспалительных цитокинов, как фактор некроза опухоли α , интерлейкины ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 [4,7]. Эти цитокины играют ключевую роль в развертывании инициированной Т-лимфоцитами иммунораздражающей реакции с активацией индукции экспрессии молекул межклеточной адгезии [5]. Наряду с Т-клетками существенный

Recently there has been a tendency to the growth of the pathologies of autoimmune genesis. Rheumatoid arthritis (RA) characterizing with a progressive damage of peripheric joints on the type of erosive-destructive polyarthritis and various manifestations beyond the joints [5,6] are referred to severe and socially significant.

To treat the RA anti-inflammatory preparations are used, the short-coming of which is the development of side effects. Consequently the necessity to optimize the methods of therapy, based on the understanding of mechanisms of the process development with the participation of immune system (IS) substrates in it.

As it is known in pathogenesis of RA early stages there is a prevailing value in cooperatively realized T-cellular-monocyte-macrophage mechanism, triggering the process of such inflammatory cytokines as tumor necrosis factor α , interleukins IL-1, IL-6, IL-8 [4,7]. These cytokines play a key role in developing initiated by T-lymphocytes immune inflammatory reaction with the activation of the induction of the expression of intercellular adhesion molecules [5]. Together with T-cells a significant contribution to hyperactivation of pro-inflammatory cascade is made by the cells of monocyte-phagocyte system (MPhS), which support

вклад в гиперактивацию провоспалительного каскада вносят клетки МФС, поддерживающие манифестацию острого и хронического воспаления. Следовательно, можно заключить, что при РА закономерно изменение структурно-функциональной организации тех клеток, которые формируют цитокиновый профиль организма и реализуют эффекторные функции. РА, как и другие АИЗ, развивается на фоне дисфункционального состояния супрессорного звена иммунитета [1].

Цель данной работы – изучение структурно-функционального статуса моноцитарно-фагоцитарных клеток при развитии АА как экспериментального аналога РА и возможности его коррекции под действием ПЭФПК. Применение ПЭФПК предопределено наличием в них широкого спектра регуляторных молекул, обладающих потенциальной способностью изменять цитокиновый профиль и в целом состояние иммунокомпетентной сферы реципиентов с активацией супрессорного звена иммунитета [2]. Эксперименты выполнены на 3-месячных крысах-самцах линии Вистар массой 160 г. Все животные (40 шт) были разделены на 4 группы. Контролем служила 1-я интактная группа животных. Крысам 2-4-й групп индуцировали АА субплантарным введением 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда. В данной дозе адьювант инициирует состояние, имеющее все морфофункциональные признаки РА. Крысам 3- и 4-й группы однократно внутрибрюшинно вводили соответственно нативный и криоконсервированный гомогенат плаценты (ГП) в объеме 0,5 мл, т.е. 6 мг белка на крысу [2].

Состояние МФС оценивали в период генерализованного развития АА (на 14-е сутки) по адгезивной способности и фагоцитарной активности клеток перитонеальной полости (ПП). Установлено, что в указанные сроки после индукции АА наблюдаются выраженные изменения в субстратах ИС, реализующих иммуновоспалительные реакции. Так, на фоне развития лейкопении, характеризующейся достоверным снижением количества лейкоцитов периферической крови, отмечается почти полуторакратное увеличение содержания клеток в ПП и двухкратное повышение количества среди них клеток с адгезивной способностью (рис. 1). Цитологический и морфологический анализ показал, что в условиях развития патологии значительное повышение количества клеток в ПП происходит именно за счет увеличения содержания моноцитов и макрофагов, что подтверждается и выраженным повышением концентрации адгезивных клеток (примерно в 2 раза по сравнению с контрольной группой животных).

Данный факт свидетельствует о генерализованном характере развития патологического процесса, в

the manifestation of acute and chronic inflammation. So one can conclude that at RA the change of structural and functional organization of those cells which form a cytokine profile of an organism and realize effector functions is appropriate. RA as well as other autoimmune diseases (AID) develops on the background of dys-functional state of immunity suppressor link [1].

The aim of this work was to study structural and functional status of monocyte-phagocyte cells under the effect of adjuvant arthritis (AA) as experimental analogue of RA and the possibility of its correction under the effect of products of embryo fetoplacental complex (PEFPC). Application of PEFPC was predetermined by the presence in them of a wide spectrum of regulatory molecules, possessing a potential capability to change the cytokine profile and in the whole the state of immune competent sphere of recipients with the activation of suppressor link of immunity [2]. The experiments were carried-out in 3 months' Wistar male rats of 160 g. All the animals (40 individuals) were divided into 4 groups. The 1st intact group served as the control. The rats of the 2nd, 3rd and 4th groups were induced with AA by subplantar introduction of 0.1 ml of a complete Freund's adjuvant. In this dose an adjuvant initiates the state with all morphofunctional signs of RA. The rats of the 3rd and 4th groups once were intraperitoneally injected with native and cryo-preserved placenta homogenate (PH) in the volume of 0.5 ml, i.e. 6 mg of protein per one rat [2].

The state of MPhS was evaluated in the period of generalized development of AA (to the 14 days) on adhesive capability and phagocyte activity of cells of peritoneal cavity (PC). It has been established that within the mentioned terms after AA induction there are observed manifested changes in the IS substrates, realizing immune inflammatory reactions. So, on the background of the development of leucopenia, characterizing with statistically significant decrease in the number of leukocytes of peripheric blood, there is observed the increase almost in 1.5 times of cell content in PC and almost twice in the amount of cells with adhesive capability among them (Fig. 1).

Cytological and morphological analysis has shown that under conditions of the pathology development a considerable rise in the number of cells in PC occurs mainly due to the increase in the content of monocytes and macrophages, that is confirmed as well by a manifested increase in the concentration of adhesive cells (approximately twice in comparison with the control group of animals).

This fact testifies to a generalized character of the development of pathological process, where participate the cells being not only *in situ* but also

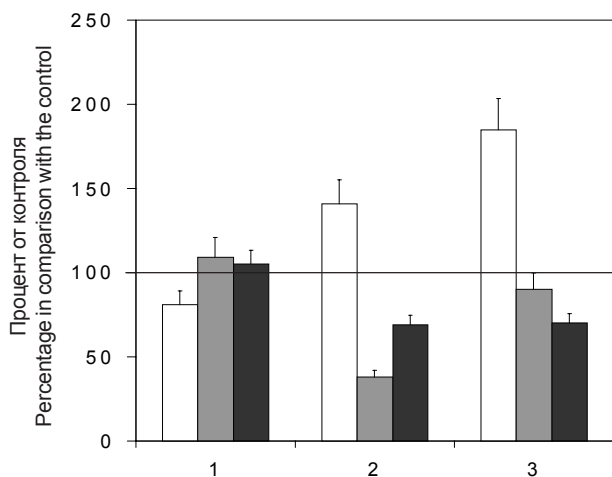


Рис.1. Структурно-функциональные характеристики клеток МФС при адьювантном артрите (□) и после введения нативного (▨) и криоконсервированного (■) гомогената плаценты крыс: 1 – количество лейкоцитов; 2 – количество клеток в перитонеальной полости; 3 – количество адгезивных клеток.

Fig. 1. Structural and functional characteristics of cells of MPhS at adjuvant arthritis (□) and after introduction of native (▨) and cryopreserved (■) rat placenta homogenate: 1 – number of leukocytes; 2 – number of cells in peritoneal cavity; 3 – number of adhesive cells.

котором принимают участие клетки, не только находящиеся *in situ*, но и дистантно расположенные, а именно в ПП. Более того, в условиях развития данной патологии такой характер трансформации клеток в ПП может отражать выраженное изменение цитокинового профиля организма.

Вместе с тем при оценке фагоцитарной активности клеток ПП (рис.2) у животных с АА выраженного изменения таких показателей, как фагоцитарный индекс (ФИ), т.е. процент фагоцитирующих клеток, и фагоцитарное число (ФЧ), т.е. количество поглощенных каждой фагоцитирующей клеткой частиц, по сравнению с контролем отмечено не было (соответственно $16,0 \pm 0,9$; $18,3 \pm 1,1$ и $17,1 \pm 1,0$; $16,0 \pm 0,8$). Следовательно, увеличение количества клеток в ПП с характерными признаками фагоцитирующих элементов не сопровождается повышением их функциональной активности.

Применение в качестве терапевтического средства ГП оказывало разное влияние на показатели состояния ИС и определялось характером вводимого препарата. Как нативный, так и криоконсервированный ГП нормализовали количество лейкоцитов. Наряду с этим прослеживалось ингибирующее действие препарата на общее содержание и адгезивных клеток в ПП. Однако характер влияния нативного и криоконсервированного ГП был различным. Нативный ГП минимизировал общее содержание клеток примерно до 40% от уровня контроля, а криоконсервированный – до 75%, тогда как количество адгезивных клеток после введения нативного препарата достигало нормы, а после

distantly located ones, in particular, in PC. Moreover, under condition of this pathology development such a character of cell transformation in PC can reflect a manifested change in cytokine profile of an organism.

In addition, when estimating the phagocyte activity of PC cells (Fig.2) in the animals with AA there was no change in such indices as phagocyte index (PhI), i.e. the percentage of phagocytosing cells, and phagocyte number (PhN), i.e. the number of the particles absorbed by each phagocytosing cell in comparison with the control (16.0 ± 0.9 ; 18.3 ± 1.1 and 17.1 ± 1.0 ; 16.0 ± 0.8 , correspondingly). So, the rise in the cell number in PC with characteristic signs of phagocytosing elements is not accompanied by the increase in their functional activity.

Application of PH as therapeutic means has demonstrated that various effects on the indices of IS state and was determined by the character of the preparation being introduced. Both native and cryopreserved PHs normalized the number of leukocytes. Simultaneously there was traced an inhibiting effect of preparation on a total content of cells in PC as well as adhesive ones. However the character of the effect of native and cryopreserved PH was different. Native PH minimized a total content of cells approximately down to 40% from the control level and cryopreserved one down to 75%, meanwhile the number of adhesive cells after the introduction of native preparation reached the norm and after application of cryopreserved one remained at the level of those 75% when comparing to the norm. It is of some interest that during such a change in the content of the cells in PC the number of

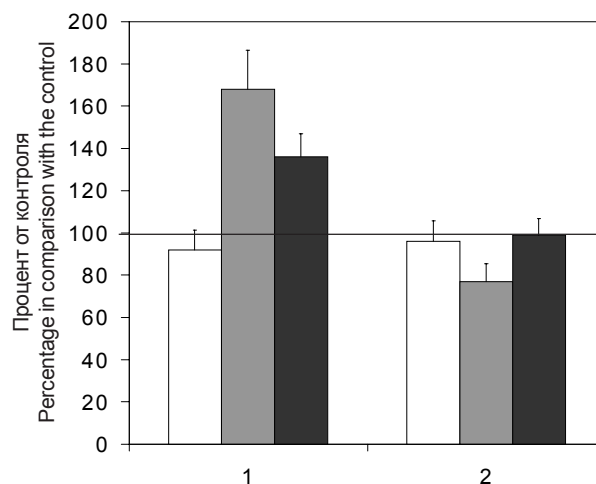


Рис. 2. Фагоцитарная активность клеток МФС при адьювантном артрите крыс (□), а также после введения нативного (▨) и криоконсервированного (■) гомогената плаценты: 1 – фагоцитарный индекс; 2 – фагоцитарное число.

Fig. 2. Phagocyte activity of cells of MPhS at adjuvant arthritis of rats (□) and after introduction of native (▨) and cryopreserved (■) rat placenta homogenate: 1 – phagocyte index; 2 – phagocyte number.

применения криоконсервированного оставалось на уровне тех же 75% от нормы. Интересно, что при таком изменении содержания клеток в ПП количество фагоцитирующих клеток (рис.2) после применения нативного ГП было выше, чем после введения криоконсервированного, т.е. в меньшем общем количестве клеток в ПП после применения нативного ГП содержится больше фагоцитирующих клеток, а в большем общем количестве клеток – меньше. Подтверждением близкой суммарной фагоцитарной активности после введения гомогенатов является и факт изменения ФЧ (рис.2). Так, нативный ГП максимально увеличивал ФИ и при этом ингибировал ФЧ. Криоконсервированный ГП, стимулируя ФИ, менее выражено ингибировал ФЧ. Применяв интегральный показатель эффективности лечения, выявили, что суммарная фагоцитарная активность клеток МФС мало отличалась при введении нативного и криоконсервированного ГП.

Таким образом, используя ряд показателей состояния клеток МФС, нам удалось оценить их как в условиях развития патологии в виде РА, так и после применения при этой патологии нативного и криоконсервированного ГП.

Известно, что экспрессия молекул адгезии и функциональный потенциал фагоцитирующих клеток изменяется в условиях преформации цитокинового профиля организма [3]. Следовательно, ГП способен модифицировать состояние иммунокомпетентной сферы при АИЗ и реализовывать терапевтический эффект через включение механизмов коррекции МФС. Более того, у каждого ГП своя специфика влияния на состояние клеток МФС определяется качественно-количественными различиями в содержании регуляторных молекул в нативном и криоконсервированном препаратах. Последняя предпосылка может иметь принципиальную значимость при разработке протоколов лечения патологии.

Литература

1. Гольцев А.Н. Возможные причины развития аутоиммунной патологии и поиск путей ее лечения // Пробл. мед. науки та освіти. – 2000. – №1. – С. 22-37.
2. Гольцев А.Н., Останкова Л.В., Луценко Е.Д. и др. Ответ лимфогемопозитической системы организма на введение продуктов фетоплацентарного комплекса // Пробл. криобиологии. – 2000. – №2. – С. 15-30.
3. Гольцев А.Н., Останкова Л.В., Рассоха И.В. Вклад апоптоза в патогенез ревматоидного артрита. Возможные пути управления процессом // Пробл. криобиологии. – 2002. – №3. – С. 51-57.
4. Кузнецова С.А., Косицкая Л.С., Фрейдлин И.С., Тихомиров И.И. Влияние иммунных комплексов, выделенных из плазмы больных ревматоидным артритом, на секрецию провоспалительных и противовоспалительных цитокинов клетками

phagocytosing cells (Fig. 2) after application of native PH was bigger than after the introduction of cryopreserved one, i.e. smaller total amount of cells in PC after application of native PH contains more phagocytosing cells and higher total amount of cells does less. The fact of change in PhN (Fig. 2) is the confirmation of close total phagocyte activity after the introduction of homogenates. Native PH maximally increased PhI and in this case inhibited PhN. Cryopreserved PH by stimulating PhI inhibited PhN not so vividly. Applying integral index of the treatment efficiency we have revealed that a total phagocyte activity of MPhS cells differed slightly during introduction of native and cryopreserved PH.

Thus using some indices of the state for MPhS cells we have managed to estimate them both under conditions of the development of the pathology as RA and after application of native and cryopreserved PH for this pathology.

It is known that the expression of adhesion molecules and functional potential of phagocytosing cells change under conditions of pre-formation of cytokine profile of an organism [3]. Therefore HP is capable to modify the state of immune competent sphere at AID and can realize the therapeutic effect via switching-on the mechanisms of the correction of MPhS. Moreover for each PH there is own specificity of the effect on the state of MPhS cells, which can be determined by qualitative and quantitative differences in the content of regulatory molecules in native and cryopreserved preparations. The latter pre-condition may be of principal value when developing the protocols of the pathology treatment.

References

1. Goltsev A.N. Possible causes of the development of autoimmune pathology and the ways for its treatment // Probl. med. nauky ta osvity. – 2002. – N1. – P. 22-37.
2. Goltsev A.N., Ostankova L.V., Lutsenko E.D. et al. Response of the lymphohemopoietic cells of the organism on the infection of the products of fetoplacental complex // Probl. of Cryobiology. – 2000. – N2. – P. 15-30.
3. Goltsev A.N., Ostankova L.V., Rassokha I.V. Contribution of apoptosis to rheumatoid arthritis pathogenesis. Probable ways for the process control // Probl. of Cryobiology. – 2002. – N3. – P. 52-59.
4. Kuznetsova S.A., Kositskaya L.S., Frejdlin I.S., Tikhomirov I.I. Effect of immune complexes, isolated from the plasm of the patients with rheumatoid arthritis, on the secreting of anti-inflammatory and pro-inflammatory cytokines by the cells of healthy donors' blood // Immunology. – 2000. – N 4. – P. 48- 53.
5. Lukina G.V., Sigidin Ya.A., Skurkovich S.V., Skurkovich B.S. New approaches to biological immune modulating therapy of rheumatoid arthritis: neutralisation of basic cytokines // Therapevt. Arh. – 1998. – N 5. – P. 32-37.

- крови здоровых доноров // Иммунология.– 2000.– №4.– С. 48-53.
5. Лукина Г.В., Сигидин Я.А., Скуркович С.В., Скуркович Б.С. Новые подходы к биологической иммуномодулирующей терапии ревматоидного артрита: нейтрализация основных цитокинов // Терапевт. архив.–1998.–№5.–С. 32-37.
 6. Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Тилз Г.П. и др. Растворимые молекулы адгезии (Р-селектин, ICAM-1 и ICAM-30) при ревматоидном артрите // Терапевт. архив.– 1999.– №5.– С. 17-20.
 7. Яременко О.Б. Ревматоидный артрит: современное состояние проблемы // Doctor.– 2002.– №1.– С. 32-36.
6. Nasonov E.L., Samsonov M.Yu, Tilz G.P. et al. Soluble adhesion molecules (P-selectin, ICAM-1 and ICAM-30) at rheumatoid arthritis // Therapevt. arh.– 1999.– N5.– P. 17-20.
 7. Yaremenko O.B. Rheumatoid arthritis: current state of the problem // Doctor.– 2002, N1.– P. 32- 36.

Accepted in 02.12.2002

Поступила 02.12.2002