СТАН КЛІТИН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ІМУНООПОСЕРЕДКОВАНОМУ ЗАПАЛЕННІ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

Павлович С.І. <https://orcid.org/0000-0001-7946-6679>

Грушка Н.Г. <https://orcid.org/0000-0001-9182-0108>

Кондрацька О.А. <https://orcid.org/0000-0002-3496-0603>

Красуцька Н.О. <https://orcid.org/0000-0002-0450-2425>

Янчій Р.І. <https://orcid.org/0000-0001-7129-7698>

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

krasutka@gmail.com

Актуальність. Імуноопосередковане запалення різного генезу відіграє суттєву патогенетичну роль при аутоімунних, алергічних, запальних та інфекційних хворобах.

Ціль: порівняльне дослідження функціонального статусу і шляхів загибелі клітин природного та адаптивного імунітету мишей за умов експериментальної гіперімунокомплексемії та ендотоксемії для виявлення особливостей та спільних клітинних механізмів цих патологій.

Матеріали та методи. Гіперімунокомплексемію моделювали шестикратною імунізацією самок мишей зростаючими дозами антигену – бичачого сироваткового альбуміну (БСА) раз на тиждень; модель ендотоксемії відтворювали шляхом введення ліпополісахариду (ЛПС).

Результати. Застосування як БСА, так і ЛПС призводило до системного запального процесу зі значною нейтрофілією із зсувом лейкограми вліво. Відмічалось значне посилення функціонально-метаболічної активності клітин неспецифічної резистентності. Спостерігався генотоксичний стрес клітин тимуса та лімфовузлів із суттєвим ушкодженням ДНК, зменшенням життєздатності та значним посиленням некротичної загибелі. Порушення цілості плазматичної мембрани внаслідок первинної алітерації і вихід клітинного вмісту назовні має сильний прозапальний та імуногенний ефект, що може призвести до подальшого посилення захворювання та збільшення його тривалості з тенденцією до хронізації патологічного процесу.

Висновок. Таким чином, обидві моделі характеризуються розвитком імунозапальних процесів, які призводять до значного ушкодження ДНК та клітинної загибелі, що може спричинити новий виток посилення некротичних, запальних та аутоімунних реакцій в організмі.

Ключові слова: гіперімунокомплексемія, ендотоксемія, клітини імунної системи, ушкодження ДНК, клітинна загибель.

Актуальність. Імуноопосередковане запалення відіграє суттєву патогенетичну роль при значній кількості захворювань із наявністю імунокомплексного компонента при аутоімунних, алергічних, запальних та інфекційних хворобах (системний червоний вовчак, гломерулонефрит, ревматоїдний артрит, системні васкуліти тощо) [1, 2, 3].

Останнім часом активно досліджується участь різних шляхів клітинної загибелі в етіопатогенезі запальних захворювань. Некротичний тип загибелі, найважливішою особливістю якого є втрата цілісності плазматичної мембрани і вихід клітинного вмісту в тканини, запускає і поглиблює запальні процеси, а також може призводити до формування імунних реакцій на модифіковані або раніше приховані власні внутрішньоклітинні антигени [1, 4, 5]. Апоптотична загибель – більш фізіологічний шлях елімінації клітин, ніж некроз. Як надмірне посилення, так і послаблення та незавершеність апоптозу клітин, у тому числі імунокомпетентних, ведуть до порушення гомеостазу (імунодефіцитні стани, аутоімунні патології) [5, 6]. У ряді досліджень встановлено, що за умов імуноопосередкованого ушкодження посилюється загибель активованих клітин природного і адаптивного

імунітету як в імунокомпетентних (тимус, лімфовузли, селезінка), так і в ушкоджених органах [7, 8, 9].

Певні розлади репродуктивної функції жінок, невдачі застосування допоміжних репродуктивних технологій, включаючи ушкодження ооцитів, погіршення якості ембріонів, утруднення екстракорпорального запліднення та ускладнення вагітності пов'язані з імуноопосередкованим запаленням, викликаним наявністю в організмі ендотоксину грам-негативних мікроорганізмів – ліпополісахариду (ЛПС) [10, 11].

Виходячи з вищезазначеного, представляло суттєвий теоретичний і практичний інтерес дослідити функціональний статус і шляхи загибелі клітин природного та адаптивного імунітету за умов гіперімунокомплексемії та ендотоксемії з метою виявлення особливостей та спільних клітинних механізмів цих патологій.

Ціль: порівняльне дослідження функціонального статусу і шляхів загибелі клітин природного та адаптивного імунітету мишей за умов експериментальної гіперімунокомплексемії та ендотоксемії для виявлення особливостей та спільних клітинних механізмів цих патологій.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Відтворення моделі системного імунокомплексного ушкодження проводилось на статевозрілих самицях мишей лінії СВА масою 18-22 г. У роботі дотримувались положень Конвенції з біоетики Ради Європи (Страсбург, 1997).

Патологічний процес моделювали за допомогою внутрішньовенної імунізації мишей зростаючими дозами антигену – бичачого сироваткового альбуміну (BCA, Sigma, St. Louis, MO, USA) раз на тиждень протягом 6 тижнів за такою схемою: I введення – 150 мг BCA/кг; II – 175 мг/кг; III – 200 мг/кг; IV – 225 мг/кг; V – 250 мг/кг; VI – 275 мг/кг маси миші. На 7 добу після останньої імунізації тварин піддавали ефірному наркозу і вилучали матеріал для подальших досліджень.

Системну ендотоксемию моделювали за допомогою внутрішньочеревинного введення ліпополісахариду (ЛПС, *E. coli* 0111:B4, Sigma, USA) в дозі 3 мг/кг маси миші. Через 24 години тварин піддавали ефірному наркозу і вилучали матеріал для подальших досліджень. Контрольним мишам вводили фізіологічний розчин у відповідному об'ємі.

Гістологічні дослідження проводили за загальноприйнятою методикою при забарвленні препаратів гематоксилін-еозином, імунофлуоресцентне виявлення фіксації імуноглобулінів проводили після фіксації 1% спирт-пікриновою сумішшю та обробки міченими ФІТС антитілами до мишачих імуноглобулінів (Sigma, USA). Оцінювали інтенсивність флуоресценції клітин та відносну кількість клітин, що світяться.

Дослідження рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові із визначенням малих та великих ЦІК проводили загальноприйнятим методом преципітації в розчині поліетиленгліколю-6000 (в мікромодифікації) [12]. Оптичну густину проб визначали за допомогою EIA Multi-well Reader II (Sigma Diagnostics, USA) при 405 нм з референс-фільтром 630 нм. Результати виражали в умовних одиницях – У.О. (оптична густина проб $\times 1000$).

Клітини тимуса і пахових лімфовузлів виділяли за загальноприйнятою методикою механічної дисоціації шляхом м'якого диспергування з наступним відмиванням клітин і гіпотонічним лізисом еритроцитів. Клітини диспергували в 1 мл холодного ЗФР, фільтрували через капронові фільтри з додаванням 2-3 мл ЗФР, центрифугували 5 хв, 200 г. Осади ресуспендували в 200 мкл ЗФР або культурального середовища. Біля 90 % клітин суспензій при забарвленні за Папенгеймом становили лімфоцити. Відсоток живих та некротичних клітин визначали при забарвленні трипановим синім.

Оцінку шляхів клітинної загибелі імунокомпетентних клітин (ІКК) проводили методом прижиттєвого подвійного забарвлення флуоресцентними барвниками нуклеїнових кислот Хехст 33342 і йодид пропідіума (Sigma, USA), як описано нами раніше [13].

Ступінь ушкодження ДНК клітин тимуса та лімфовузлів визначали методом лужного гель-електрофорезу ізольованих клітин (метод ДНК-комет) за [14] з деякими нашими модифікаціями [8].

Киснезалежний метаболізм нейтрофілів (Нф) вивчали у тесті з нітросинім тетразолієм (НСТ), заснованому на здатності НСТ відновлюватися до нерозчинного формазану під впливом активних форм кисню (АФК), продукованих активованими клітинами [15]. З метою оцінки функціонального стану НФ крові застосовували також напівкількісний лізосомально-катіонний тест із розрахунком середнього цитохімічного коефіцієнту – СЦК [15].

Статистична обробка. Перевірку отриманих даних на нормальність розподілу проводили за тестом Колмогорова-Смирнова (при кількості даних до 7 в групі) або Д'Агостіно і Пірсона. За нормального розподілу порівняння груп даних здійснювали з використанням однофакторного дисперсійного аналізу one-way ANOVA та подальшого аналізу з допомогою Newman-Keuls post hoc test. При статистичному аналізі застосовували програми STATISTICA-6 (StatSoft Inc) та GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, USA).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Розроблена нами схема довготривалої імунізації мишей зростаючими дозами ксеногенного білку призводила до зміни гуморальної ланки імунної системи: збільшення вмісту малих ЦІК в сироватці крові з 54.7 ± 3.3 У.О. в контролі до 66.1 ± 3.6 У.О. за умов імунізації, $p < 0.05$. Імунофлуоресцентне дослідження встановило значне посилення їх фіксації у внутрішніх органах та органах імунної системи. За гістологічними дослідженнями загальною патологічною рисою органів було ушкодження судин різного калібру. Відмічалось помірне порушення мікроциркуляції з розширенням навколосинусоїдальних просторів, виходом лейкоцитів через розрихлену судинну стінку і формуванням інфільтратів. Ці зміни є патоморфологічними ознаками васкулітів [16, 17]. В імунних органах визначалась значна кількість клітин неспецифічної резистентності моноцитарно-макрофагального ряду, що можуть продукувати велику кількість прозапальних чинників, які проявляють як системні, так і локальні ефекти [6, 18].

Встановлено також значне посилення функціонально-метаболічної активності клітин неспецифічної резистентності. За даними НСТ-тесту нейтрофілів периферичної крові мишей, виявлено збільшення відсотку формазан-позитивних клітин з 24.9 ± 2.9 % в контролі до 69.2 ± 4.0 % при гіперімунокомплексемії ($p < 0.001$) та цитохімічного показника (ЦХП) (який відображає активність процесів в окремій клітині) з 0.34 ± 0.09 в контролі до 1.05 ± 0.19 ($p < 0.01$). Посилена активність клітин-ефекторів запалення із збіль-

шенням продукції біологічно активних речовин, в тому числі АФК, є одним з важливих патогенетичних механізмів ушкодження різних тканин за умов імуні-комплексної патології [6, 19]. Свідченням індукованого імунізацією запалення є зсув лейкограми крові вліво, із зростанням як загального відсотка нейтрофілів (з $12.8 \pm 3.4 \%$ в контролі до $33.0 \pm 6.3 \%$, $p < 0.01$), так і паличкоядерних нейтрофільних гранулоцитів з $4.8 \pm 1.5 \%$ в контролі до $9.3 \pm 1.2 \%$ ($p < 0.01$) у імунізованих тварин.

Введення БСА приводило до посилення клітинної загибелі: зменшувалась кількість живих клітин, виділених з лімфовузлів та тимусу, було встановлено посилення апоптозу ІКК лімфовузлів у 1.6 рази порівняно з контролем. За умов гіперімунікомплексемії значно посилювалась некротична загибель в клітинах як первинного, так і вторинного органів імунітету (рис. 1). Посилення некротичної загибелі було більш виражене в периферичних лімфоцитах (у 2.1 рази). Для цих клітин було характерним посилення не тільки первинного, а й вторинного, постапоптотичного некрозу до 5.9% (в контролі 3.6% клітин, $p < 0.05$). Як первинний, так і постапоптотичний некроз відіграє значну патогенетичну роль у розвитку аутоімунних хвороб [1, 5, 6].

Встановлено, що через 6 тижнів після початку імунізації БСА в клітинах лімфовузлів та тимусу збільшувався Ідк (загальноприйнятий інтегральний показник, який враховує зміни кількості всіх типів комет із різним ступенем ушкодження ДНК) в 4 рази ($P < 0.001$ відносно контролю), що свідчить про розвиток генотоксичного стресу у клітинах центрального і периферичного органів імунної системи. За таких

умов збільшувався відсоток комет, які належать до 3-4 класу, що характеризує сильне пошкодження ДНК (рис. 2). Таким чином, довготривала імунізація мишей чужорідним білком БСА, яка спричиняє імуні-комплексну патологію, призводить до генотоксичного стресу ІКК як центрального (тимуса), так і периферичних органів імунної системи (лімфовузлів). При цьому відбувається зниження життєздатності клітин за рахунок підвищення їх апоптотичної й, в більшій мірі, некротичної загибелі.

Можна стверджувати, що за умов імунікомплексної патології одним із провідних механізмів ушкодження ДНК і некротичної загибелі є активація клітин вродженого імунітету із посиленою продукцією прозапальних чинників (цитокінів, АФК та азоту тощо), що було показано як у наших попередніх дослідженнях, так і на інших моделях імуніопосередкованих хвороб [7, 16, 19, 20]. Ці сполуки за умов недостатнього антиоксидантного захисту можуть спричиняти генотоксичний стрес, що було встановлено в даному дослідженні.

Введення ендотоксину ЛПС спричиняло через 24 год посилення функціонально-метаболічної активності імуніцитів. За даними НСТ-тесту Нф периферичної крові мишей, збільшувався відсоток формаган-позитивних клітин з $23.8 \pm 6.0 \%$ в контролі до $63.0 \pm 7.3 \%$ при введенні ЛПС ($p < 0.001$), а також зростав ЦХП з 0.34 ± 0.06 в контролі до $0.96 \pm 0.04 \%$ ($p < 0.001$). Паралельно збільшувався СЦК реакції на вміст катіонних білків з $0.04 \pm 0.01 \%$ в контролі до $0.31 \pm 0.04 \%$ при введенні ЛПС ($p < 0.001$). Як відомо, неферментативні катіонні білки лізосом, окрім антимікробної дії, мають властивості медіатора запалення та фактора вторинної

Рис. 1. Зміни апоптозу та некрозу клітин, виділених з тимуса та лімфовузлів, за умов імунізації мишей БСА. * – $P < 0.05$, ** – $P < 0.01$, *** – $P < 0.001$ по відношенню до контролю.

Рис. 2. Зміни кількості клітин, виділених з тимуса та лімфовузлів з інтактною та сильно ушкодженою ДНК за умов імунізації мишей БСА. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ – відносно контролю.

альтерації, призводячи до збільшення проникності судин, хемотаксису та активації лейкоцитів [21]. За даними лейкограми крові, збільшувався відсоток паличкоядерних Нф в крові з $4.6 \pm 1.2\%$ в контролі до $18.2 \pm 1.9\%$ при дії ЛПС ($n=10$ в обох групах, $p < 0.001$), а також відсоток сегментоядерних Нф з $12.7 \pm 1.7\%$ (контроль) до $35.4 \pm 3.9\%$ (ЛПС, $p < 0.001$), тобто виявлялася значна нейтрофілія із зсувом лейкограми вліво, що є ознакою системного запального процесу. Активація клітин імунної системи супроводжувалась індукцією активаційного апоптозу. Таким чином, введення ендотоксину призводило до вираженої запальної реакції імунітетів. Методом ДНК-комет встановлено, що введення ЛПС збільшувало Ідк клітин тимуса та лімфовузлів ($p < 0.001$), відзначалося значне підвищення відсотка клітин із сильним ушкодженням ДНК (рис. 3).

Введення ЛПС призводило до погіршення життєздатності імунітетів, що відбувалося за рахунок

посилення загибелі як за апоптотичним, так і за некротичним шляхом (рис. 4). При відтворенні ендотоксемії у мишей некротична загибель в клітинах як первинного, так і вторинного органів імунітету посилювалася в більшій мірі, що призводило до статистично значущого підвищення коефіцієнту некроз/апоптоз: в клітинах лімфовузлів з 0.31 ± 0.04 в контролі до 0.72 ± 0.18 при введенні ЛПС ($p < 0.05$); в клітинах тимуса з 0.23 ± 0.05 у контрольних тварин до 0.81 ± 0.23 у мишей з ЛПС ($p < 0.01$).

Доведено, що на відміну від апоптозу, загибель за некротичним типом (із розривом плазматичних мембран) відіграє значну патогенетичну роль у розвитку імуноопосередкованих хвороб [4]. Така загибель є прозапальною, за рахунок виходу клітинного вмісту, в тому числі прозапальних сигнальних молекул – алармів. Крім того, некроз є імуногенним, оскільки провокує імунну відповідь на власні антигени, до яких імунна система не толерантна. Обидва зазначені

Рис. 3. Вплив введення ЛПС на відсоток клітин тимуса та лімфовузлів із неушкодженою або малоушкодженою ДНК (комети класів 0 та 1) та клітин із сильним ушкодженням ДНК (комети класів 3 та 4). ** – $P < 0.01$, *** – $P < 0.001$ по відношенню до контролю.

Рис. 4. Вплив введення ЛПС мишам на некротичну та апоптотичну загибель клітин лімфовузлів та тимусу. За віссю ординат – відсоток клітин з морфологічними проявами апоптозу або некрозу. *** – $P < 0.001$ по відношенню до контролю.

процеси спричиняють активацію клітин-ефекторів запалення, синтез ними прозапальних чинників, які, особливо АФК та азоту, спричиняють оксидативний та нітрозативний стрес клітин, сильне ушкодження ДНК та клітинну загибель. Посилення некрозу замикає позитивний зворотній зв'язок – порочне коло самопідсилення запалення, яке присутнє при багатьох хворобах, в тому числі обумовлених ЛПС [22]. Аналіз отриманих даних свідчить про те, що, незважаючи на різні етіологічні фактори розвитку патологічного процесу, відтворені моделі імуноопосередкованих захворювань мають як свої особливості, так і ряд суттєвих спільних рис.

ВИСНОВКИ

Застосування як БСА, так і ЛПС призводило до системного запального процесу зі значною нейтрофілією із зсувом лейкограми вліво. Відмічалось значне посилення функціонально-метаболічної активності клітин неспецифічної резистентності. Спостерігався генотоксичний стрес клітин тимуса та лімфовузлів із значним ушкодженням ДНК, зменшенням життєздатності та значним посиленням некротичної загибелі. Порушення цілості плазматичної мембрани внаслідок первинної альтерації і вихід клітинного вмісту назовні має сильний прозапальний та імуногенний ефект, що може призвести до подальшого посилення захворювання та збільшення його тривалості з тенденцією до хронізації патологічного процесу.

REFERENCES

1. Fenton K. The effect of cell death in the initiation of lupus nephritis. *Clin Exp Immunol.* 2015; 179(1):11-6. <https://dx.doi.org/10.1111%2Fcei.12417>
View at: Publisher Site: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cei.12417>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25041590/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4260891/>
2. Moore T.L. Immune Complexes in Juvenile Idiopathic Arthritis. *Front Immunol.* 2016; 7:177. doi: 10.3389/fimmu.2016.00177. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00177>
View at: Scopus: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00177/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27242784/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4873492/>
3. Ward P.A., Fattahi F., Bosmann M. New insights into molecular mechanisms of immune complex-induced injury in lung. *Front Immunol.* 2016; 7:86. eCollection 2016. <https://dx.doi.org/10.3389%2Ffimmu.2016.00086>.
View at: Scopus: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00086/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27014266/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4783387/>
4. Jog N.R., Caricchio R. The Role of Necrotic cell death in the pathogenesis of immune mediated nephropathies. *Clin Immunol.* 2014; 153(2):243-53. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2014.05.002>.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521661614001296?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24845790/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4348018/>
5. Mistry P., Kaplan M.J. Cell death in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Clin Immunol.* 2017 Dec; 185:59-73. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2016.08.010>.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521661616302777?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27519955/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5299061/>
6. Mahajan A., Herrmann M., Muñoz L.E. Clearance Deficiency and Cell Death Pathways: A Model for the Pathogenesis of SLE. *Front Immunol.* 2016; 7:35. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00035>.
View at: Scopus: <https://www.frontiersin.org/>

- articles/10.3389/fimmu.2016.00035/full
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26904025/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4745266/>
7. Buač M., Mojsilović S., Mišić D. et al. Circulating immune complexes of calves with bronchopneumonia modulate the function of peripheral blood leukocytes: In vitro evaluation. *Res Vet Sci.* 2016; 106:135-42. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.04.002>.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528816300698?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27234551/>
8. Grushka N., Makogon N., Pavlovych S. et al. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor 4-hydroxyquinazoline exerts a protective effect against concanavalin A-induced hepatitis in mice. *Journal of Health Sciences.* 2013; 3(11):463-8.
9. Makogon N., Voznesenskaya T., Bryzgina T. et al. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor, 3-aminobenzamide, protects against experimental immune ovarian failure in mice. *Reproductive biology.* 2010; 10(3):215-26. [https://doi.org/10.1016/s1642-431x\(12\)60041-2](https://doi.org/10.1016/s1642-431x(12)60041-2)
View at:
Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1642431X12600412?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21113202/>
10. Jaiswal YK, Jaiswal MK, Agrawal V, Chaturvedi MM. Bacterial endotoxin (LPS)-induced DNA damage in preimplanting embryonic and uterine cells inhibits implantation. *Fertil Steril.* 2009 May; 91(5 Suppl):2095-103. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.04.050>.
View at: Publisher Site: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(08\)00965-5/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(08)00965-5/fulltext)
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18710718/>
11. Magata F, Shimizu T. Effect of lipopolysaccharide on developmental competence of oocytes. *Reprod Toxicol.* 2017; 71:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.04.001>
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0890623817301004?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28408308/>
12. Nemov V.V., Popkova M.I. [Method for detecting circulating immune complexes. Invention patent RU 2415430]. [in Russian].
View at: https://patents.s3.yandex.net/RU2415430C1_20110327.pdf
13. Makogon N.V., Grushka N.G., Bryzgina T.M., Martynova T.V., Pavlovich S.I. et al. Cytoprotective effect of poly (adp-ribose) polimerase inhibitor 4-hydroxyquinazoline in experimental immune-mediated hepatitis: dose dependence, mechanisms and therapeutic perspective. *Medical hydrology and rehabilitation.* 2015; 13(1-3):15-23 [in Ukrainian].
14. Afanasieva K., Zazhytska M., Sivolob A. Kinetics of comet formation in single-cell gel electrophoresis: Loops and fragments. *Electrophoresis.* 2010; 31(3):512-9. <https://doi.org/10.1002/elps.200900421>
View at: Publisher Site: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elps.200900421>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20119958/>
15. Metcalf JA, Gallin JI. Nauseef WM. Root RK. Laboratory manual of neutrophil function. Raven Press, 1986. 191 p.
View at: URL: <https://www.amazon.com/Laboratory-Manual-Neutrophil-Function-Metcalf/dp/0881671606>
16. Chopyak V.V., Valchuk I.V., Gayduchok I.G., Sadlyak O.V., Kachmarska M.O., H.P. Nykytiuk. [Hyperimmunocomplex syndrome in experiment and clinic]. *Bulletin of scientific research.* 2007; 1(46):5-8. [in Ukrainian].
17. Radic M., Martinovic K.D., Radic J. Vascular manifestations of systemic lupus erythematosus. *Neth J Med.* 2013; 71(1):10-6.
View at: URL: <http://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=1256>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23412817/>
Europe PMC: <https://europepmc.org/article/med/23412817>
18. Mula R.V., Machiah D., Holland L. et al. Immune complex-induced, nitric oxide-mediated vascular endothelial cell death by phagocytes is prevented with decoy Fcγ receptors. *PLoS One.* 2016; 11:4:e0153620. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153620>.
View at: Scopus: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0153620>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27101012/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4839578/>
19. Bosques C.J., Manning A.M. Fc-gamma receptors: Attractive targets for autoimmune drug discovery searching for intelligent therapeutic designs. *Autoimmun Rev.* 2016; 15(11):1081-8. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.07.035>.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S156899721630180X?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27491569/>
20. Pavlovych S.I., Lytvynenko A.P., Makogon N. V., Martynova T. V., Bryzgina T.M., Yanchiy R. I. et al. [Immunomorphological characterization of mouse model of a systemic immunecomplexes mediated pathology]. *Bulletin of morphology.* 2014; 20(2):496-500 [in Ukrainian].
View at: URL: https://www.vnmu.edu.ua/downloads/journal/v_morf/visn_morf_2014-2.pdf
21. Pechous RD. With friends like these: the complex role of neutrophils in the progression of severe pneumonia. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017; 7:160. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00160>.
View at: Scopus: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00160/full>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28507954/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5410563/>
22. Li J, Zhong L, Zhu H, Wang F. The protective effect of cordycepin on d-galactosamine / lipopolysaccharide-

induced acute liver injury. *Mediators Inflamm.* 2017; 2017:3946706. <https://doi.org/10.1155/2017/3946706>.
View at: Publisher Site: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2017/3946706/>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28522898/>

PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5387844/>

Article history
Received: 27.04.2021
Revision requested: 09.05.2021
Revision received: 16.05.2021
Accepted: 24.06.2021
Published: 30.06.2021

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИММУНООПОСРЕДОВАННОМ ВОСПАЛЕНИИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Павлович С.И., Грушка Н.Г., Кондрацька Е.А., Красуцька Н.А., Янчій Р.И.

Институт физиологии имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

krasutka@gmail.com

Актуальность. Иммуноопосредованное воспаление различного генеза играет существенную патогенетическую роль при аутоиммунных, аллергических, воспалительных и инфекционных болезнях.

Цель: сравнительное исследование функционального статуса и путей гибели клеток природного и адаптивного иммунитета мышей в условиях экспериментальной гипериммунокомплексемии и эндотоксемии для выявления особенностей и общих клеточных механизмов этих патологий.

Материалы и методы. Гипериммунокомплексимию моделировали шестикратной иммунизацией самок мышей возрастающими дозами антигена – бычьего сывороточного альбумина (БСА) раз в неделю, модель эндотоксемии воспроизводили путем введения липополисахарида (ЛПС).

Результаты. Применение как БСА, так и ЛПС приводило к системному воспалительному процессу со значительной нейтрофилией со смещением лейкограммы влево. Отмечалось значительное усиление функционально-метаболической активности клеток неспецифической резистентности. Наблюдался генотоксический стресс клеток тимуса и лимфоузлов с существенным повреждением ДНК, уменьшением жизнеспособности и значительным усилением некротической гибели. Нарушение целостности плазматической мембраны в результате первичной альтерации и выход клеточного содержания наружу имеет сильный провоспалительный и иммуногенный эффект, что может привести к дальнейшему усилению заболевания и увеличению его продолжительности с тенденцией к хронизации патологического процесса.

Вывод. Таким образом, обе модели характеризуются развитием иммуновоспалительных процессов, которые приводят к значительному повреждению ДНК и клеточной гибели, что может вызвать новый виток усиления некротических, воспалительных и аутоиммунных реакций в организме.

Ключевые слова: гипериммунокомплексемия, эндотоксемия, клетки иммунной системы, повреждение ДНК, клеточная гибель.

THE STATE OF THE CELLS OF THE IMMUNE SYSTEM IN EXPERIMENTAL IMMUNE-MEDIATED INFLAMMATION OF VARIOUS GENESIS

Pavlovych S.I., Grushka N.G., Kondratska O.A., Krasutka N.O., Yanchii R.S.

Bogomoletz Institute of Physiology, Kyiv, Ukraine

krasutka@gmail.com

Relevance. Immune-mediated inflammation of various genesis plays a significant pathogenetic role in autoimmune, allergic, inflammatory and infectious diseases.

The objective of the work was a comparative study of the functional status and pathways of cell death of natural and adaptive immunity in mice under the conditions of experimental hyperimmunocomplexemia and endotoxemia to identify the features and common cellular mechanisms of these pathologies.

Materials and methods. Hyperimmunocomplexemia was simulated by six-fold immunization of female mice with increasing doses of the antigen, bovine serum albumin (BSA), once a week; the endotoxemia model was induced by the administration of lipopolysaccharide (LPS).

Results. The use of both BSA and LPS led to a systemic inflammatory process with significant neutrophilia with a shift of the leukogram to the left. There was a significant increase in the functional and metabolic activity of nonspecific resistance cells. Genotoxic stress was observed in thymus cells and lymph nodes with significant DNA damage, decreased viability, and a significant increase in necrotic death. Violation of the plasma membrane integrity of primary alteration and the release of the cellular content outside has a strong pro-inflammatory and immunogenic effect, which can lead to further intensification of the disease and an increase in its duration with a tendency to chronicity of the pathological process.

Conclusions. Thus, both models are characterized by the development of immune-inflammatory processes that lead to significant DNA damage and cell death, which can cause a new round of intensification of necrotic, inflammatory and autoimmune reactions in the body.

Key words: hyperimmunocomplexemia, endotoxemia, cells of the immune system, DNA damage, cell death.