

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ НА АУТОИММУННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ НА МОДЕЛИ АДЪЮВАНТНОГО ПОЛИАРТРИТА

Жернов Ю.В.<sup>1</sup>, Аввакумова Н.П.<sup>2</sup>, Хаитов М.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, Самара

## EFFECTS OF HUMIC ACIDS ON AUTOIMMUNE INFLAMMATION IN ADJUVANT-INDUCED ARTHRITIS RAT MODEL

Zhernov Y.V.<sup>1</sup>, Avvakumova N.P.<sup>2</sup>, Khaitov M.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow

<sup>2</sup> Samara State Medical University, Samara

**В**многочисленных исследованиях было показано, что пелоидотерапия оказывает определённый терапевтический эффект в клинических условиях при заболеваниях, в основе которых лежат аутоиммунные процессы [1-3]. Наряду с этим, гуминовые кислоты не обладают выраженным цитотоксическим эффектом [4]. При этом механизмы влияния гуминовых кислот, основного терапевтического компонента медицинских грязей, на развитие аутоиммунных реакций остаются невыясненными.

**Целью** нашей работы явилось изучение влияния гуминовых кислот на хронический аутоиммунный процесс в экспериментальной модели адъювантного полиартрита на крысах, в развитии которого преобладает элемент гиперчувствительности замедленного типа.

**Материалы и методы.** Гуминовые кислоты были получены путем фракционирования лечебных грязей (пелоидов) озера Молочка санатория ФГБУЗ МРЦ «Сергиевские минеральные воды» ФМБА России, Самарская область [5].

Хроническое иммунное воспаление моделировали у крыс линии Wistar субплантарным введением в правую заднюю лапу 0,1 мл полного адъюванта Фрейнда (взвесь БЦЖ 2,5 мг/мл в вазелиновом масле), который позволяет активировать макрофаги и костимулировать Т-клетки. Введение гуминовых кислот начинали с 14-го дня после инъекции адъюванта. Гуминовые кислоты в виде 0,1% водных растворов (pH=7,4) вводили ежедневно. Воспали-

тельная реакция оценивалась на 3, 7, 12 сутки после начала лечения. Оценивалось изменение содержания общего пула лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов в крови. Была определена концентрация гемоглобина, скорость оседания эритроцитов, количество нейтрофильных гранулоцитов, в том числе палочкоядерных и сегментоядерных, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов. Для более детального изучения влияния препарата на макрофагально-фагоцитарную и иммунную системы определяли уровень С-реактивного белка и циркулирующих иммунных комплексов, содержание фибронектина, а также провоспалительных цитокинов (интерлейкин 1-β и фактор некроза опухоли-α) в сыворотке крови. При развитии экспериментального полиартрита определяли содержание иммунорегуляторных субпопуляций лимфоцитов (CD4+ и CD8+ лимфоцитов) с расчётом иммунорегуляторного индекса.

**Результаты.** Анализ полученных данных показал, что в процессе воспроизведения экспериментального полиартрита у крыс выявлялись существенные сдвиги изучаемых показателей. Через 17 суток после введения адъюванта Фрейнда имело место более чем трёхкратное увеличение содержания в крови лейкоцитов, уровень которых достигал значений  $25,2 \pm 2,0$  клеток  $\cdot 10^9$ /л. СОЭ, относительное количество палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов были также существенно увеличены. Средние значения показателей составляли  $7,2 \pm 0,2$

мм/час и  $9,5 \pm 0,3\%$ , что, соответственно, в 2,9 и 3,0 раза больше нормативных значений. Отмечались сдвиги и в содержании провоспалительных цитокинов: уровни интерлейкина 1- $\beta$  и фактора некроза опухоли в сыворотке крови повышались, соответственно в 2,4 и 1,7 раза по сравнению с нормативными значениями, составляя  $55,8 \pm 0,9$  и  $60,6 \pm 1,5$  пкг/мл. Был также повышен уровень фибронектина в сыворотке крови: его концентрация достигала значений  $317,5 \pm 12,3$  мкг/мл. Возрастало содержание циркулирующих в крови иммунных комплексов до  $93,5 \pm 0,05\%$ . Выявленные значительные изменения данных показателей активности воспалительного процесса сопровождались перераспределением в крови баланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов: у животных содержание CD4+ клеток в лимфограмме возрастало до  $43,5 \pm 4,4\%$  (при норме  $31,1 \pm 2,5\%$ ), а относительное количество CD8+ лимфоцитов падало до  $11,2 \pm 0,5\%$  (при норме  $18,8 \pm 1,0\%$ ). Вследствие этого возрастал иммунорегуляторный индекс, средние значения которого достигали  $4,1 \pm 0,2$ . Всё это свидетельствовало об интенсивном развитии воспалительных процессов с участием аутоиммунного компонента в организме экспериментальных животных.

Анализ полученных данных при введении гуминовых кислот показал, что инъекции животным с развившимся адьювантным полиартритом снижали выраженность воспалительного процесса с аутоиммунным компонентом, при этом терапевтический эффект нарастал с увеличением количества инъекций.

После 3 инъекций препарата (17 сутки эксперимента) лейкоцитоз в крови был менее выраженным, чем у интактных животных в тот же срок наблюдения – количество циркулирующих в крови лейкоцитов составляло  $19,5 \pm 0,8$  клеток  $\cdot 10^6$ /мл и превышало нормальные значения в 2,4 раза. Концентрации интерлейкина 1- $\beta$  и фактора некроза опухолей были не столь высокими, как в группе сравнения, но превышали нормативные значения в 1,6 и в 1,5 раза, составляя  $35,4 \pm 0,01$  и  $51,4 \pm 1,3$  пкг/мл, соответственно. Уровень циркулирующих иммунных комплексов не был повышенным по сравнению с данным показателем у здоровых животных.

После семи инъекций гуминовых кислот противовоспалительное действие препарата было выражено более ярко. Так, уровень лейкоцитов в крови животных снижался до нормативных значений, средние значения СОЭ превосходили норматив-

ные лишь в 1,3 раза, количество полиморфноядерных нейтрофильных гранулоцитов снижалось до  $4,2 \pm 0,1\%$ . Содержание циркулирующих иммунных комплексов было в пределах нормальных значений, при этом наблюдался незначительный дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов.

Максимальный противовоспалительный эффект гуминовых кислот был выявлен к 26 суткам эксперимента (12 день введения). Препарат практически полностью восстанавливал гематологические и иммунологические показатели до нормативных значений.

**Выводы.** Таким образом, изучение влияния гуминовых кислот на активность воспалительного процесса и иммунологический статус животных с экспериментальным полиартритом, вызванным введением адьюванта Фрейнда, показало выраженный противовоспалительный и иммунокорректирующий эффекты гуминовых кислот, что проявлялось в нормализации лейкограммы, функционально-метаболических свойств моноцитарно-макрофагальной системы, нивелировании дисбаланса иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов. Это, по-видимому, является отражением уменьшения активности аутоиммунных реакций при экспериментальном поражении суставов у животных.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Вахт М.А., Вейнпалу Л.Э., Вейнпалу Э.Ю., Тринк Р.Ф., Юбнер М.Э. Терапевтическая эффективность гуминовых кислот морской лечебной грязи при остеоартрозе. Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК. 2000. №5 – с. 27-28
2. Сидоров В.Д., Мамяева Д.Р. Современные аспекты пелоидотерапии больных ревматоидным артритом. Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК. 1997. №3 – с. 42-45
3. Мамяева Д.Р. Пелоиды низких температур в терапии ревматоидного артрита. Автореферат дисс. канд. мед. наук, М.: 1995 – с. 13
4. Жернов Ю.В. Анализ цитотоксичности гуминовых веществ пелоидов. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2011. Т. 13. №1-8. – с. 1996-1998
5. Аввакумова Н.П., Глубокова М.Н., Кривопалова М.А., Жернов Ю.В., Жданова А.В., Семионова М.А. Сезонные изменения группового состава низкоминерализованных пелоидов Самарского региона как показатель уровня их биологической активности. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2015. Т. 17. № 5-1. – с. 247-250