

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ПАТОГЕНЕЗЕ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ, СЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫХ К ГРИППУ

Мамонтов А. С.¹, Дешева Ю. А.¹, Назаров П. Г.^{1,2},
Руденко Л. Г.¹

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; ²ФГОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Мышей СВА иммунизировали парентерально вакцинным штаммом вируса гриппа А/Н5N1 NIBRG-14 и через 2 недели заражали высокой дозой живого штамма вируса гриппа А/Н5N1 IDCDC-RG2. Течение инфекции было тяжелым и сопровождалось высокой летальностью. Введение антигистаминных препаратов (смеси блокаторов H1 и H2 гистаминовых рецепторов), произведенное одновременно с заражением, приводило к снижению смертности на 10%. Данные указывают на то, что в развитии тяжелого течения гриппозной инфекции у вакцинированных животных принимают участие тучные клетки и гистамин, который тучные клетки выделяют предположительно в результате активации иммунным комплексом IgG-антител и вируса.

Ключевые слова: Грипп H5N1, тучные клетки, антигистаминные средства, летальность.

Введение. При некоторых вирусных инфекциях у лиц повторно болеющих или ранее вакцинированных описан синдром «антителозависимого усиления» (antibody-dependent enhancement, ADE), проявляющийся тяжелым течением инфекции, нередко со смертельным исходом [1]. Причиной развития ADE считают механизм облегченного проникновения вируса в комплексе с антителами IgG-класса и/или факторами комплемента в клетки, обладающие Fcγ- и C3-рецепторами, что повышает его инфекционность и способствует развитию тяжелого, угрожающего жизни течения вирусной инфекции. Фактором, способствующим развитию ADE, считают также «неканонический» механизм презентации антигена, за счет вовлечения в процесс презентации многих клеток, экспрессирующих Fcγ-рецепторы (CD16, CD32, CD64) и активируемых IgG-содержащими иммунными комплексами, в частности В-клеток. Синдром ADE характерен для лихорадки Денге, при которой он обратил на себя внимание и был впервые описан [1], но наблюдается и при других вирусных инфекциях [2, 3, 4].

Одним из недооцененных типов иммунокомпетентных клеток, которые также рас-

полагают Fcγ-рецепторами, являются тучные клетки (ТК). Они также способны к презентации антигена [5]. Весьма существенно, что ТК вырабатывают множество вазоактивных веществ, провоспалительных медиаторов, цитокинов и хемокинов, которые они выбрасывают и секретируют при активации иммунными комплексами [6, 7]. Активация ТК способствует углублению тяжести септического шока [8]. В условиях вирусной инфекции активация ТК IgG-содержащими иммунными комплексами могла бы способствовать развитию симптоматики ADE. Однако роль ТК при вирусной инфекции практически не изучена [9].

Целью исследования было изучение роли ТК в развитии летальной вирусной инфекции у сенсibilизированных животных на модели парентеральной иммунизации и заражения мышей штаммами вируса гриппа А(Н5N1).

Материалы и методы. Опыты ставили на мышах линии СВА, самцах, массой 16–18 г, из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Для иммунизации использовали инактивированный формальдегидом вакцинный штамм вируса гриппа А/Н5N1 A/Vietnam/1194/2004 (NIBRG-14; National Institute for Biological Standards and Control, UK), для последующе-

го заражения – живой вирус гриппа A/H5N1, штамм A/Indonesia/5/2005 (IDCDC-RG2; Centers for Disease Control and Prevention, USA). Вакцину NIBRG вводили внутримышечно (в.м.) в дозе 40000 ГАЕ/мл в объеме 0,1 мл. Контрольная группа получала в.м. плацебо – забуференный фосфатами физиологический раствор NaCl (ЗФР) в таком же объеме. Через 14 дней вакцинированных мышей заражали вирусом в концентрации 10⁵ 50% мышинных летальных доз (ЛД₅₀) живого вируса IDCDC-RG2. ЛД₅₀ определяли в предварительном опыте, по летальности мышей СВА после введения разведений вируса IDCDC-RG2 от 2 lg до 7 lg. Одновременно с инфицированием иммунным мышам вводили внутрибрюшинно антигистаминные препараты – смесь блокаторов H1 и H2 гистаминовых рецепторов (супрастина (Эгис, Венгрия) и кваматела (Гедеон Рихтер, Венгрия), каждого по 6,7 мг/кг веса, в объеме 0,1 мл, или ЗФР в таком же объеме. Группы животных (все n=12): 1) иммунизация; IDCDC-RG2 + блокаторы H1 и H2; 2) иммунизация; IDCDC-RG2 + ЗФР; 3) ЗФР; IDCDC-RG2 + блокаторы H1 и H2; 4) ЗФР; IDCDC-RG2 + ЗФР. Наблюдение вели в течение 14 дней после инфекции. Определяли массу тела и летальность. На 3-и сутки производили отбор образцов легких для оценки репродукции заражающего вируса.

Результаты и обсуждение. Через 13 дней после иммунизации в сыворотках крови иммунизированных мышей определялся незначительный прирост антигемагглютинирующих антител к вирусу A/H5N1 в среднегеометри-

ческом титре 6,3, в то время как у контрольных животных этот показатель был на уровне порогового значения – 5,0.

На рис. 1 представлены предварительные данные по репродукции заражающего вируса в легких мышей, инокулированных вирусом IDCDC-RG2. Показатели репродукции не отличались в разных группах. Уровень репродукции у мышей, получавших блокаторы H1 и H2 гистаминовых рецепторов одновременно с заражением, был практически таким же, как у мышей, инфицированных, но не получивших антигистаминные средства.

Рис. 2 представляет изменения массы тела у мышей разных групп. По этому показателю не выявлено достоверных различий между группами. В течение первых 6 дней масса тела падала во всех группах, начиная с 4 дня после заражения, наблюдалась гибель животных, продолжавшаяся до 7 дня, затем масса тела выживших животных восстанавливалась. Средняя масса тела мышей, зараженных и получивших антигистаминные препараты, достоверно не отличалась от массы мышей, получивших живой вирус и плацебо (ЗФР). Т. о., блокада гистаминовых рецепторов существенно не влияла на вес животных.

Результаты свидетельствуют о том, что блокада гистаминовых рецепторов не оказывает существенного влияния на динамику массы тела животных и репродукцию инфекционного вируса в легких.

Наблюдение над летальностью показало, что заражение иммунных мышей через 2 не-

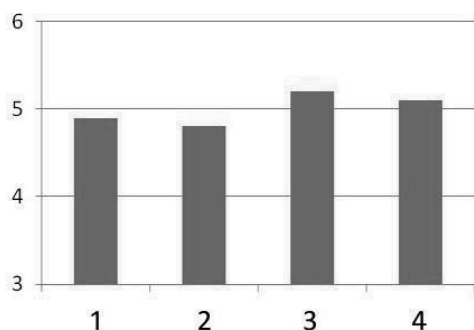


Рис. 1. Репродукция заражающего вируса IDCDC-RG2 в легких мышей

По оси x: 1 – вакцина, IDCDC-RG2 + блокаторы H1 и H2; 2 – вакцина, IDCDC-RG2 + ЗФР; 3 – ЗФР, IDCDC-RG2 + блокаторы H1 и H2; 4 – ЗФР, IDCDC-RG2 + ЗФР. По оси y – lg ЭИД/0,1 мл

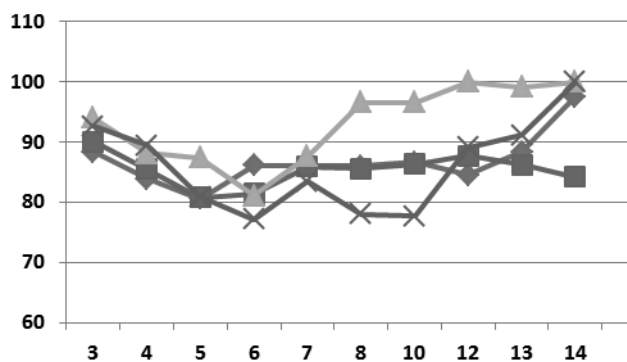


Рис. 2. Изменение массы тела вакцинированных мышей в ходе инфекционного процесса

По оси x – дни после заражения, по оси y – масса тела, % от исходной (до заражения). Группы: 1 – вирус IDCDC-RG2 + ЗФР, 2 – вирус IDCDC-RG2 + блокаторы H1 и H2 рецепторов, 3 – ЗФР + ЗФР, 4 – ЗФР + блокаторы H1 и H2.

дели после иммунизации, то есть до пика выработки вирус-специфических антител, приводило к гибели от 20 до 30% животных.

Как известно, ТК являются основным источником гистамина в организме. Для блокирования действия гистамина мы использовали смесь H1 и H2 блокаторов (хотя основным типом рецепторов на клетках, ответственным за анафилактические эффекты гистамина, являются рецепторы H1). Как показывают рис. 1 и 2, смесь антигистаминных препаратов не оказывала достоверного влияния ни на массу тела, ни на уровень репродукции вируса в легких. Вместе с тем, в группе вакцинированных животных, инфицированных живым вирусом IDCDC-RG2 и получивших смесь блокаторов гистаминовых рецепторов, летальность была на 10% ниже по сравнению с теми, кто получил вместо препаратов физиологический раствор: 20 против 30%. Т.о., введение антигистаминных препаратов значительно снижало летальность при инфицировании иммунных мышей по сравнению с контрольными невакцинированными животными ($P < 0,05$).

Полученные нами предварительные данные указывают на то, что выделяемый ТК гистамин вносит ощутимый негативный вклад в патогенез вирусной инфекции, придавая течению инфекционного процесса более тяжелый характер. Роль гистамина подтверждается снижением летальности животных при введении блокаторов гистаминовых рецепторов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Boonnak K., Slike B. M., Burgess T. H., Mason R. M. et al. Role of dendritic cells in antibody-dependent enhancement of dengue virus infection. *J. Virol.* 2008, 82(8), 3939–3951.
2. Takada A., Feldmann H., Ksiazek T. G., Kawaoka Y. Antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection. *J. Virol.* 2003, 77(13), 7539–7544.
3. Halstead S. B. Biologic evidence required for Zika disease enhancement by Dengue antibodies. *Emerg. Infect. Dis.* 2017, 23(4), 569–573.
4. Gorlani A., Forthal D. N. Antibody-dependent enhancement and the risk of HIV infection. *Curr. HIV Res.* 2013, 11(5), 421–426.
5. Ding J., Fang Y., Xiang Z. Antigen/IgG immune complex-primed mucosal mast cells mediate antigen-specific activation of co-cultured T cells. *Immunology* 2015, 144(3), 387–394.
6. Кутукова Н. А., Назаров П. Г. Тучные клетки: роль в воспалении, восстановлении тканей и развитии фиброза. *Цитокины и воспаление* 2014, 13(2), 11–20.
7. Мамонтов А. С., Назаров П. Г., Дешева Ю. А., Руденко Л. Г. Антигенспецифические реакции тучных клеток. *Медицинский академический журнал* 2016, 16(3), 428–431.
8. Gautier G., Launay P. Les mastocytes aggravent le choc septique chez la souris en inhibant la phagocytose des macrophages péritonéaux. *Med. Sci. (Paris)* 2015, 31(20), 127–128.
9. Wang S., Wu B., Xue J., Wang M., Chen R. et al. Nizatidine, a small molecular compound, enhances killed H5N1 vaccine cell-mediated responses and protects mice from lethal viral challenge. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2014, 10(2), 461–468.

THE POSSIBLE ROLE OF MAST CELLS IN THE PATHOGENESIS OF SEVERE EXPERIMENTAL INFECTION IN MICE VACCINATED AGAINST INFLUENZA

Mamontov A. S.¹, Desheva Yu. A.¹, Nazarov P. G.^{1,2}, Rudenko L. G.¹

¹*Institute of Experimental Medicine;* ²*The I. P. Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia*

CBA mice were immunized parenterally with the NIBRG-14 vaccine strain of A/H5N1 influenza virus, and after 2 weeks they were infected with a high dose of the live IDCDC-RG2 strain of the A/H5N1 influenza virus. The course of the infection was severe and accompanied by high mortality. The injection of antihistamines (a mixtures of H1 and H2 histamine receptors blockers), at the time of infection, resulted in a 10% reduction in mortality ($p < 0.05$). Data indicate that the severe course of influenza infection in vaccinated animals at least partially depends on the mast cells and histamine they release presumably upon activation by IgG antibodies and the virus.

Key words: Influenza H5N1, mast cells, antihistamines, mortality