

ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России
ФГБОУ ВПО МГАВМиБ им. К.И.Скрябина

Разработка безадьювантной модели хронической бронхиальной астмы у лабораторных животных

Научные руководители: к.б.н., н.с. Шиловский И.П.
к.в.н, профессор Брылина В.Е.

Выполнила: студентка 4 курса Прозорова М.С.

Москва 2014

Актуальность

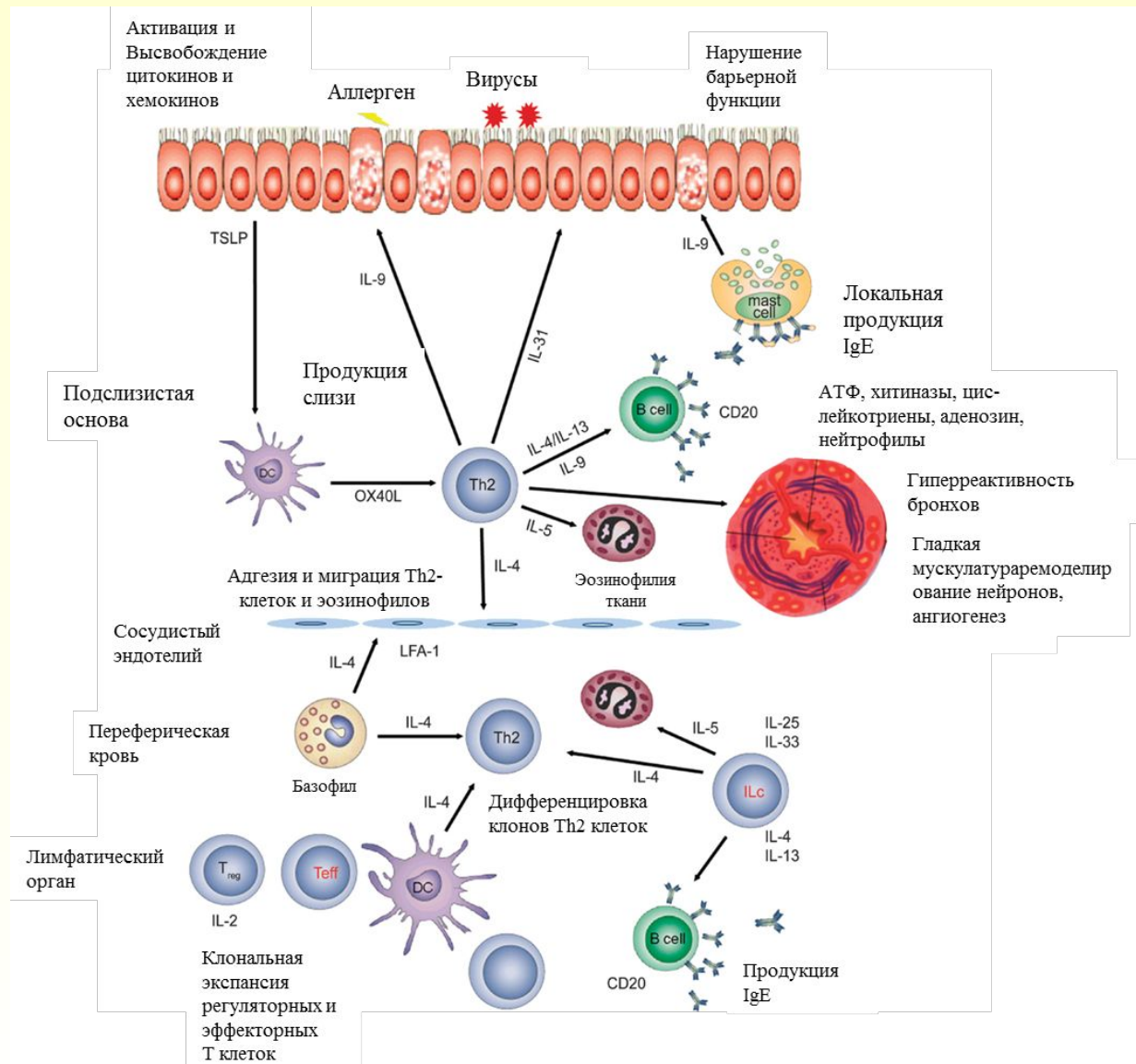
БА – это хроническое заболевание дыхательных путей, характеризующееся:

1. приступами удушья
2. экспираторной одышки
3. кашля
4. свистящими хрипами
5. эмфиземой легких

По данным ВОЗ на 2011 год, в мире около **300 миллионов** человек, страдающих БА, а смертность составляет порядка **250 тысяч человек** в год. (*GINA, 2011*)

Стоимость лечения одного больного в США составляет **1907\$**, а общие расходы **18 млрд \$** в год. В Евросоюзе стоимость лечения одного пациента составляет **1583 €**, а общие затраты **17,7 млрд €** ежегодно (*Masoli et al, 2004; Chipps et al, 2012*).

Патогенез бронхиальной астмы



Особенности острой и хронической моделей БА

| | Острая модель | Хроническая модель |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Воспроизводимые признаки БА | Морфологические изменения ткани легких, характер антительного ответа, развитие аллергического воспаления за счет эффекторных клеток (преимущественно эозинофилов), гиперреактивность дыхательных путей. | Ремоделирование дыхательных путей, включающее гипертрофию гладких мышц, гиперплазию бокаловидных клеток, утолщение субэпителиальной базальной мембраны, увеличение толщины стенок дыхательных путей. |
| Длительность модели | Краткосрочные (несколько дней) | Долгосрочные более 6 недель |
| Сложность моделирования | Менее трудоемкие | Более трудоемкие |

Цели и задачи

- **Цель:** создать безадьювантную хроническую модель БА, отражающую основные клинические признаки заболевания, для последующего применения в исследованиях противоастматической терапии.
- **Задачи:**
 1. Изучить проявление клинических признаков БА
 2. Изучить изменение уровней специфических антител в сыворотке крови
 3. Изучить удельную сопротивляемость бронхов
 4. Изучить клеточный состав бронхоальвеолярного лаважа
 5. Изучить гистологическую картину ткани легких
 6. Изучить уровень экспрессии провоспалительных цитокинов при хроническом моделировании БА.

Протокол моделирования хронической бронхиальной астмы

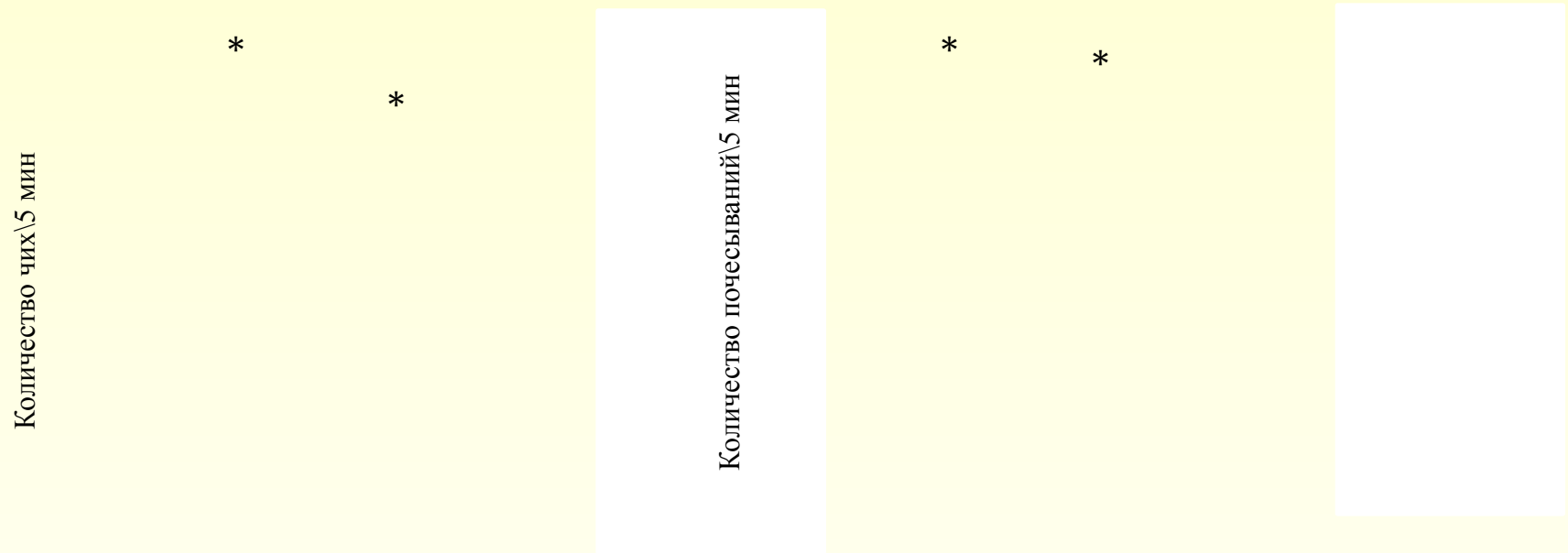


ЗК – забор крови, ФВД – функция внешнего дыхания,
БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж

| Группы | Сенсибилизация | Провокация |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| БА в.б.+А1 | OVA (20 мкг/мышь)+ 2 мг/мышь Al(OH) ₃ ,в/б в дни 0 и 14 OVA (10мкг/мышь)+ 2 мг/мышь Al(OH) ₃ ,в/б в день 28 | OVA (500 мкг), и/н |
| БА п.к. | OVA (20 мкг/мышь), п/к в дни 0 и 14 OVA (10мкг/мышь, п/к в день 28 | OVA (500 мкг), и/н |
| Интактные | ---- | ---- |

БА – бронхиальная астма, в/б – внутривенно, п/к – подкожно, и/н – интраназально,
OVA – овальбумин.

Проявление клинических признаков у мышей после проведения вторичной провокации

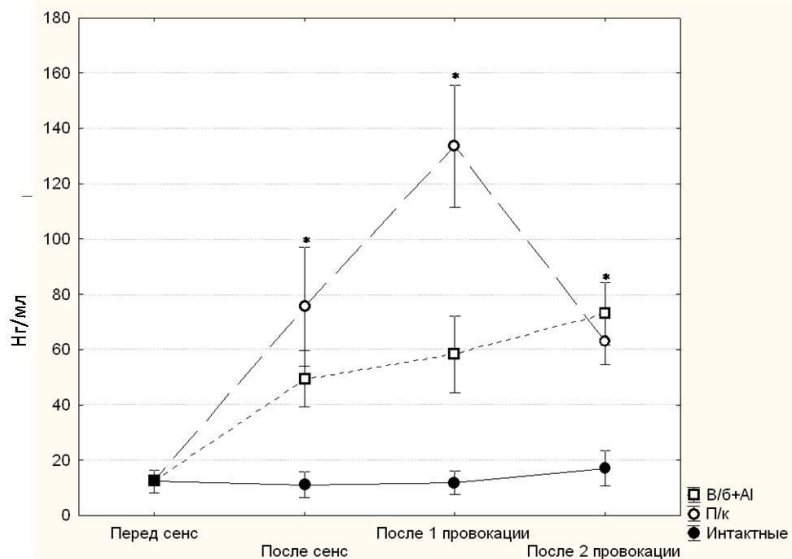


* достоверно отличается от интактной группы (N = 8)

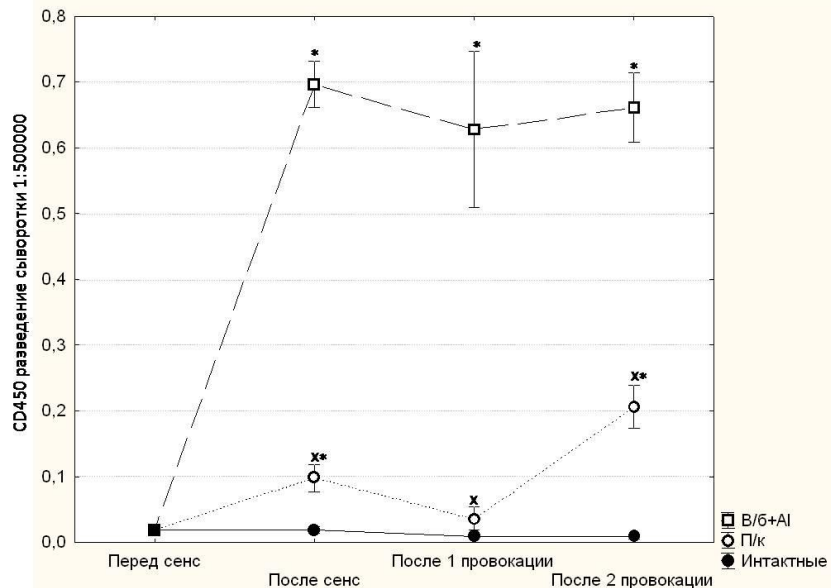
Наблюдение за проявлением клинических признаков осуществлялось после проведения второй провокации. Длительность наблюдения 5 минут.

Содержание аллерген-специфических антител в сыворотке крови экспериментальных животных

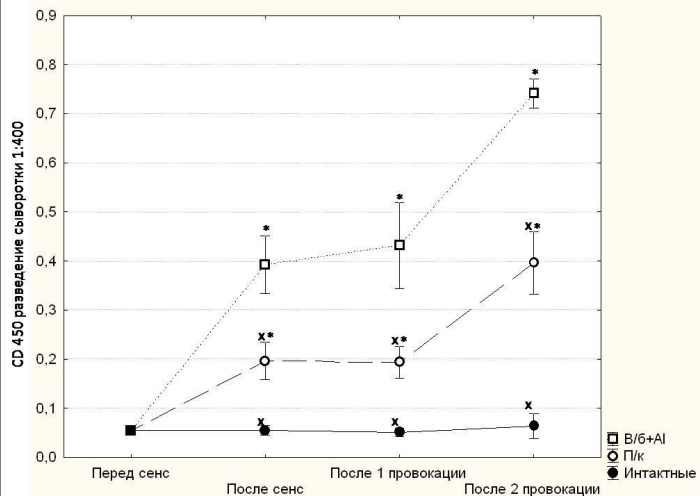
IgE



IgG1



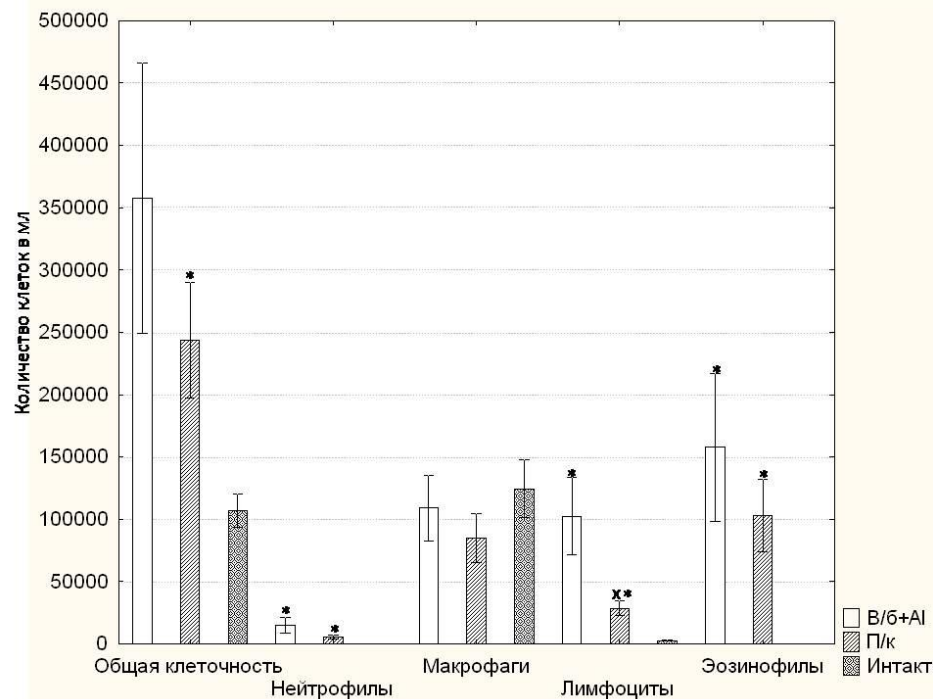
IgG2



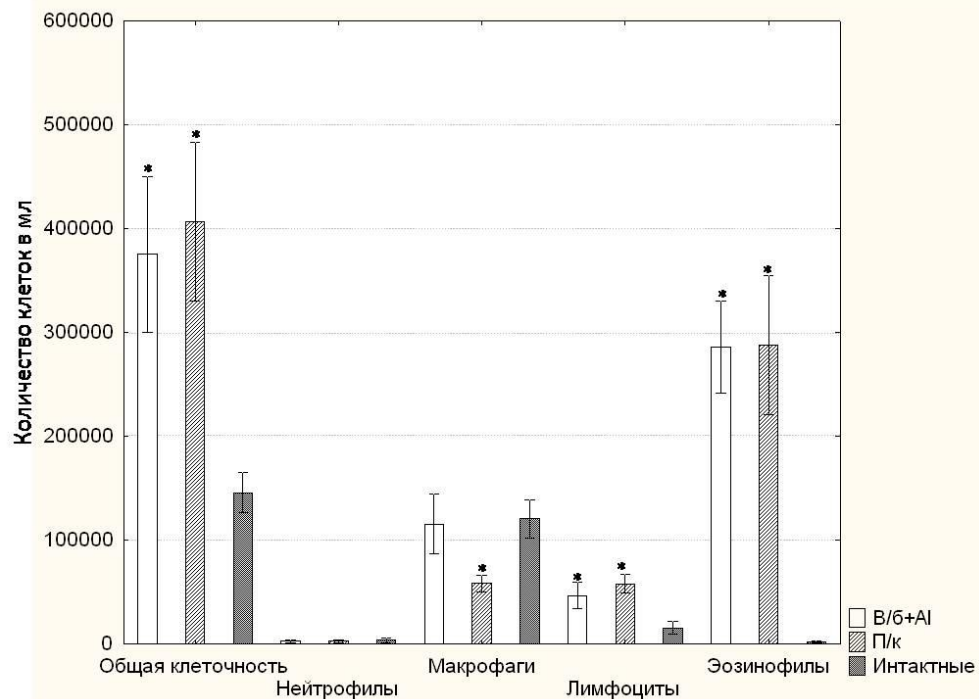
* - достоверно отличается от интактной группы (N = 8)
 x - достоверно отличается от группы «V/б+Al»

Клеточный состав бронхо-альвеолярного лаважа (БАЛ)

После первичной провокации



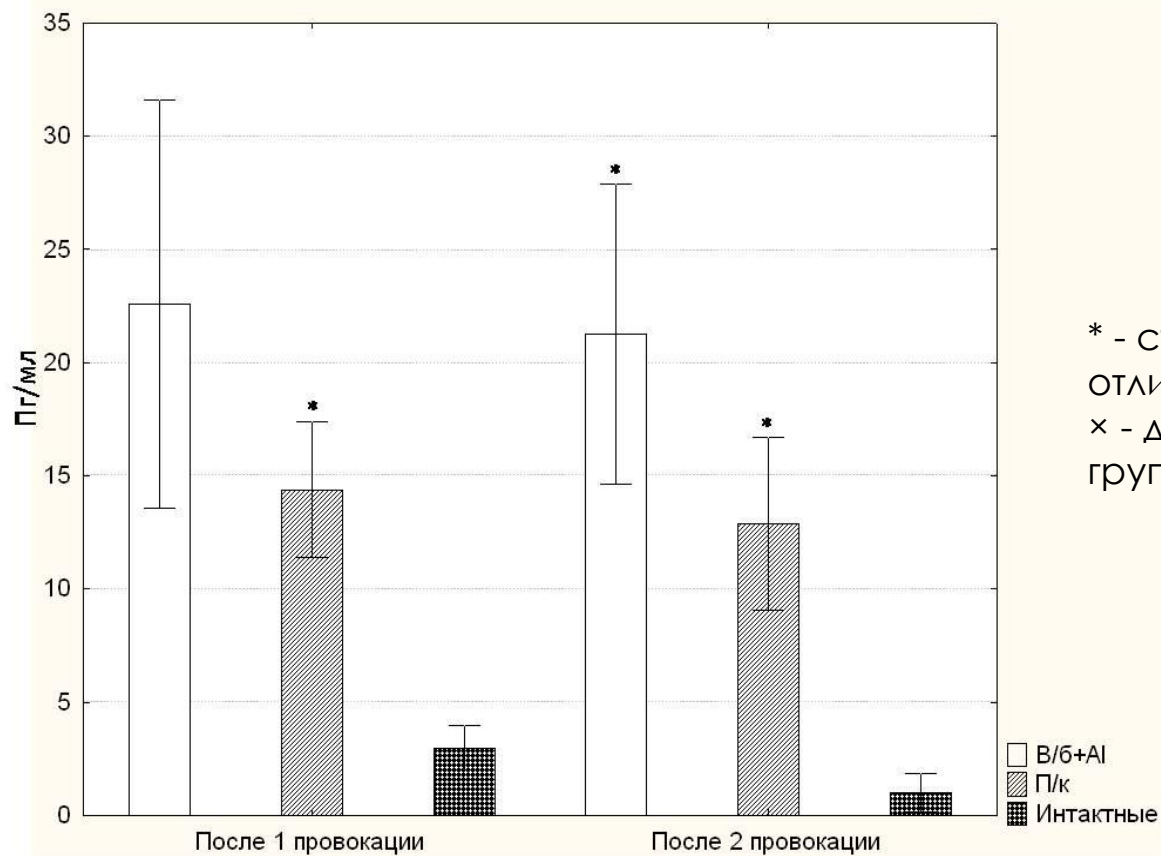
После вторичной провокации



× - группа «В/б+АI» статистически значимо отличается от группы «Интактные»

* - группа «П/к» статистически значимо отличается от группы «Интактные»

Изменение уровня IL-5 в БАЛ после первичного и вторичного челленжа

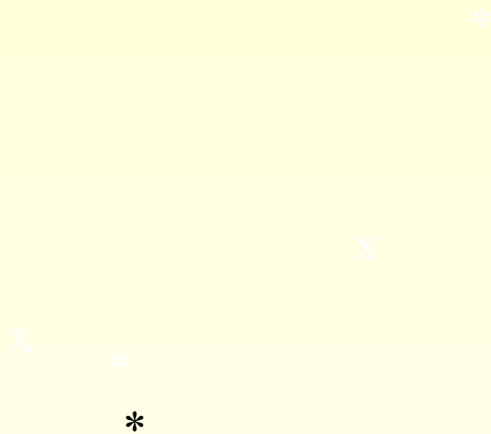


* - статистически значимо
отличается от группы «Интактные».
x - достоверно отличается от
группы «V/б+AI».

Экспрессия IL4 и IFNg в клетках БАЛ

IL-4

IFNg



Экспрессия генов у интактных животных принята за 100%

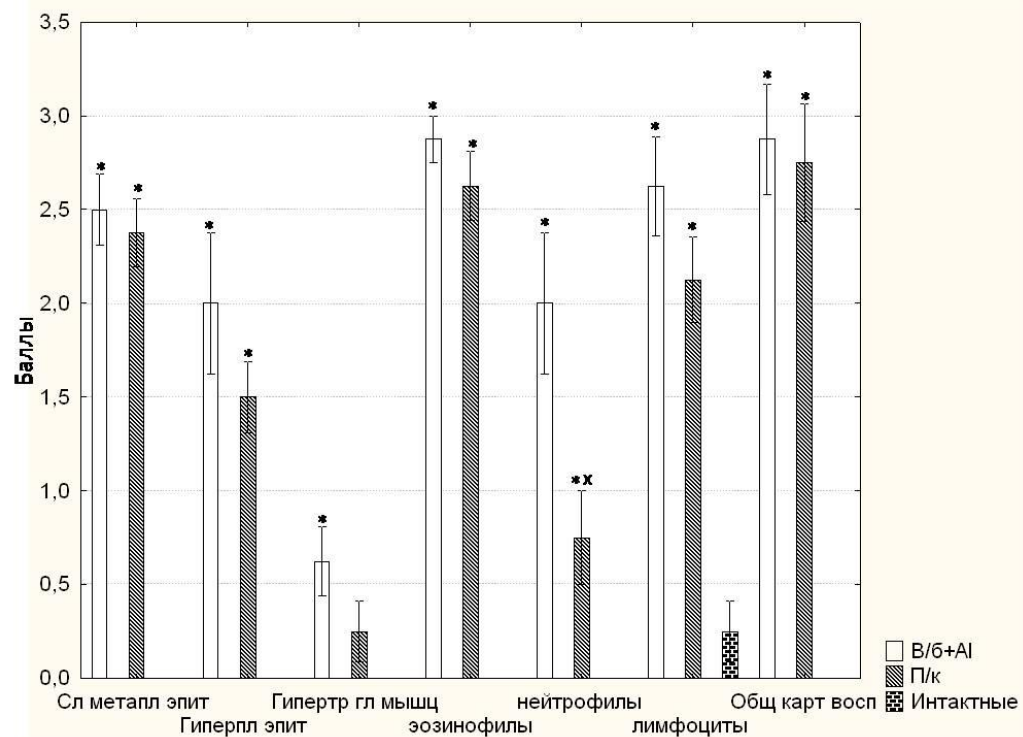
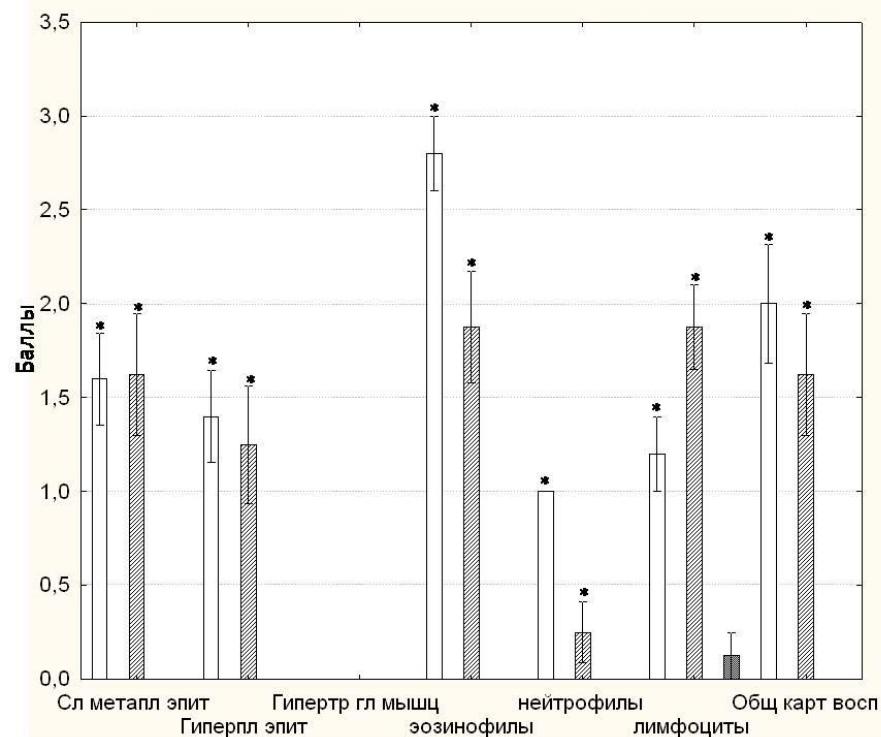
× - группа «В/б+А1» статистически значимо отличается от группы «Интактные»

* - группа «П/к» статистически значимо отличается от группы «Интактные»

Гистологические изменения в ткани легких

После первичной провокации

После вторичной провокации

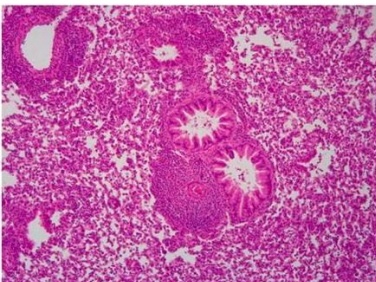


*-статистически значимо отличается от группы интактных

x - статистически значимо отличается от группы «B/б+Al»

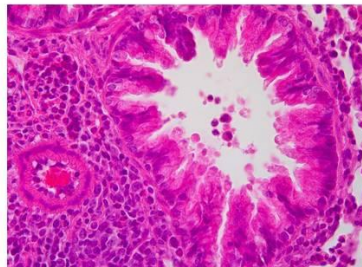
Гистологические изменения ткани легких

Увеличение в 100 раз

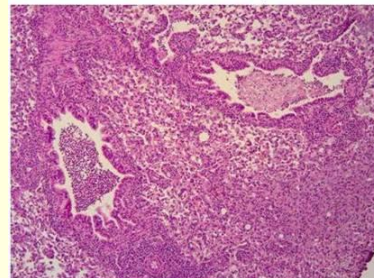


(В/б+Al)

Увеличение в 400 раз

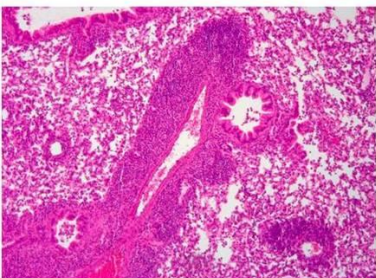
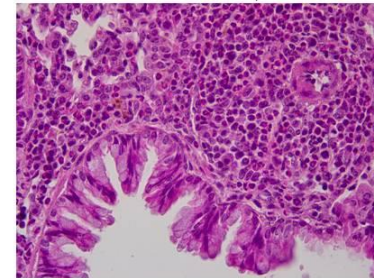


Увеличение в 100 раз

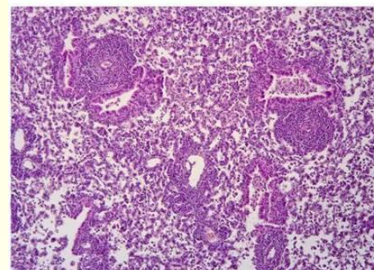
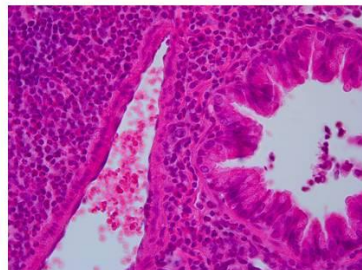


В/б+Al

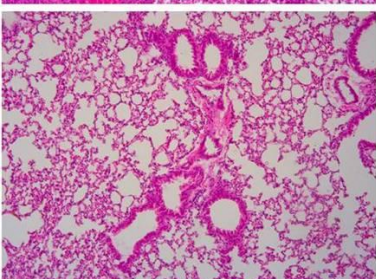
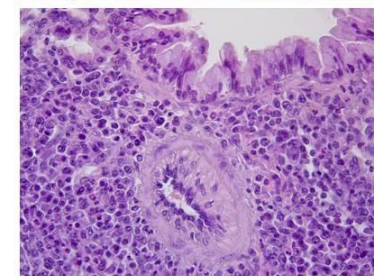
Увеличение в 400 раз



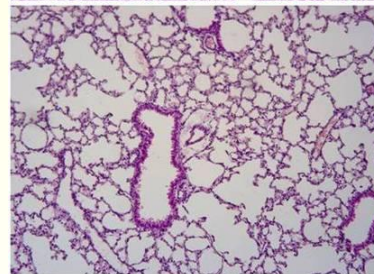
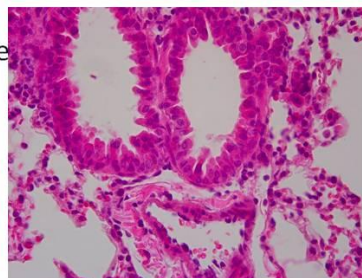
(П/к)



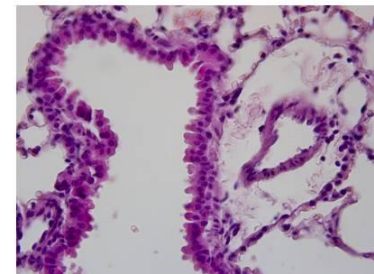
П/к



Интактные



Интактные



После первичной провокации

После вторичной провокации

Выводы

1. Была разработана безадыювантная модель хронической бронхиальной астмы у мышей, отражающая основные клинические признаки заболевания.
2. Показано трехкратное увеличение выраженности клинических признаков бронхиальной астмы у животных как при адьювантном и безадыювантном моделировании.
3. При безадыювантном моделировании БА происходит более выраженное профилирование иммунного ответа на аллерген в сторону Th2, о чем свидетельствует увеличение продукции специфических IgE антител, и снижение IgG2a антител в сыворотке крови, а также увеличенная экспрессии гена IL-4.
4. У мышей, подвергшихся адьювантному и безадыювантному моделированию БА обнаружены сходные повышенные уровни гиперреактивности бронхов в ответ на аэрозольное введение метахолина.
5. Продемонстрировано статистически значимое увеличение инфильтрации провоспалительных клеток (эозинофилов, нейтрофилов, лимфоцитов) в БАЛ у мышей как при адьювантном, так и безадыювантном моделировании.
6. Обнаружены выраженные патоморфологические изменения в ткани легких, свидетельствующие о ремоделировании дыхательных путей у мышей, подвергшихся как адьювантному, так и безадыювантному моделированию БА.
7. Выявлена повышенная экспрессия IL-4 и IL-5 в клетках БАЛ, что свидетельствует о Th2-зависимом механизме развития признаков БА у экспериментальных животных.

Благодарности

- Зав. лаб., д.м.н. Хаитов М.Р.
- Вед.н.с., к.м.н. Бабахин А.А.
- Вед.н.с. к.б.н. Шершакова Н.Н.
- Лаборант, Гайсина А.Р.
- Лаборант, Ласкин А.А.

**Спасибо за
внимание**