

5. *Дубинина В.Г.* Прогнозування і рання діагностика пухлинних захворювань ендометрія. / Дубинина В.Г. - /Автореферат на здобуття ступеня доктора мед наук.- Київ, 2007.
6. *Дубинина В.Г.* Спонтанная хромосомная нестабильность лимфоцитов периферической крови у больных раком эндометрия / Дубинина В.Г., Бубнов В.В., Боброва В.Н., Ануфриев М.Г. //Репродуктивное здоровье женщины. - 2005. - N 3. - С. 187-190.
7. *Дубинина В.Г.* Иммуно-эндокринные взаимоотношения у женщин репродуктивного возраста с различными видами трансформации эндометрия/ Дубинина В.Г., Рыбин А.И. // Буковин. мед. вісн. - 2002. - Т. 6: - С. 214 - 219.
8. *Запорожан В.Н.* Современная диагностика и лечение гиперпластических процессов эндометрия / Запорожан В.Н., Татарчук Т.Ф., Дубинина В.Г., Косей Н.В. //Репродуктивная эндокринология. – 2012. –№ 1 (3). – С. 5-12.
9. Personalized treatment strategy for atypical endometrial hyperplasia with regards to age, comorbidities and endometrial receptor status [електронний ресурс] / Beniuk V., Vyniarsky Y., Goncharenko V. // EPMA Journal 2014, 5 (Suppl 1):A40. Режим доступу до журн. <http://www.epmajournal.com/content/5/S1/A40/abstract>.
10. Assessment of endometrial receptor systems for PPPM approach for endometrial hyperplasia in reproductive age women [електронний ресурс] // Vasyly A Beniuk, Yaroslav M Vyniarskyi, Sergiy M Bashynskyi and Rostyslav V Bubnov:. EPMA Journal 2014, 5 (Suppl-1): A40. Режим доступу до журн. <http://www.epmajournal.com/content/5/S1/A39/abstract>
11. *Sherman M.E.* Benign diseases of the endometrium / Sherman M.E., Mazur M.T., Kurman R.J. // Kurman R.J., ed. Blaustein's pathology of the female genital tract / Kurman R.J., ed. – 5th ed. – NY: Springer-Verlag. – 2002. – P. 421–466.
12. *Van Bogaert L.-J.* Clinicopathologic findings in endometrial polyps / Van Bogaert L.-J. // Obstet. Gynecol. – 1988. – Vol. 71. – P. 771–773.

УДК 616.211/232.616-056

## **МОДУЛЯЦІЯ ІММУННОГО ОТВЕТА НА ГЕМАГГЛЮТИНИНИ ВИРУСА ГРИППА ПРОБИОТИКОМ В ЕКСПЕРИМЕНТЕ**

*МЕЛЬНИКОВ О.Ф., САМБУР М.Б., СИДОРЕНКО Т.В.,  
ПЕЛІШЕНКО Н.А., РЫЛЬСКАЯ О.Г.*

ГУ « Інститут отоларингології ім. проф. А.І. Коломійченко НАМН України»

Ранее было показано, что первичная иммунизация крыс Wistar вирусными и бактериальными антигенами *per nasi* или *per os* в сравнении с парентеральным введенным антигеном сопровождается достоверно более высоким уровнем содержания специфических антител в экстрактах из трахеи, чем в сыворотке крови и экстрактах из селезенки и также приводит к достоверному повышению в крови относительно содержания полипотентных иммуноцитов с рецептором к Fc-фрагменту иммуноглобулина класса G (О.Ф.Мельников е.а.,2013; О.Ф. Мельников и соавт.,2014).

Учитывая современные тенденции в проведении мукозальной вакцинации в сторону локального использования вакцин против инфекций, передающихся воздушно-капельным и оральным путями ( А.Г. Дьяченко,2012, О.Ф. Melnykov е.а.,2013; Salzman е.а.,2007), пред-

ставлялось целесообразным определить эффективность иммунизации на гуморальном и клеточном уровнях при локальном и системном первичном введении антигенов вирусов гриппа ( A1 ,A2), как одной из наиболее частых инфекций дыхательных путей, а также исследовать модулирующее влияние на эффективность иммунизации антигенами вирусов предварительного применения лактобацилл, входящих в состав пробиотиков.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Исследования проведены на 35 белых лабораторных крысах Wistar массой 180-220 г разводки вивария Института отоларингологии НАМН Украины.

В первой серии экспериментов (19 животных) были представлены оптимальные условия иммунизации для получения максимальных

значений титров антител в трахее, селезёнке и сыворотке крови. На основе предварительных исследований было предложено использовать две схемы иммунизации животных: 1- интраназально 5 мг гемагглютинаина (ГА) однократно и через неделю 5 мг ГА внутривнутрибрюшинно и еще через неделю проводился забор материала (селезёнка, трахея и периферическая кровь); 2- вместо первичного интраназального введения первичная иммунизация проводилась внутривнутрибрюшинно, второе введение ГА было также внутривнутрибрюшинным. В качестве источника ГА использовали противогриппозную вакцину Инфлувак (Франция), серии которой предварительно титровали на содержание ГА, используя эритроциты человека 4 –ой группы (AB). Из ткани селезёнки и трахеи приготавливали водно-солевые экстракты (100 мг ткани на 1 мл раствора Хэнкса) в соответствии с рекомендациями О.Ф. Мельникова (1981). Содержание антител в сыворотке крови и экстрактах из тканей определяли в реакции торможения гемагглютинации (Kabat, Mayer, 1968). Титры антител переводили в логарифмические значения и обрабатывали в соответствии с рекомендациями В.И. Левенсон (1968).

Кроме того из периферической крови животных выделяли мононуклеары в градиенте плотности фиколл-верографина (1.077) и среди них определяли число клеток с рецептором к Fc- фрагменту иммуноглобулина класса G (FcR+ -клетки) в соответствии с методическими рекомендациями В.П Лескова и соавт., (1981). Данные исследований обрабатывали статистически с применением критерия «U» (Е.В. Гублер, 1978).

Во второй серии экспериментов было исследовано влияние пробиотика БиоГая продентис (БГП), содержащего 2 штамма *Lac. reuteri* DSM 17938 , *Lac. reuteri* ATCCPTA 5289 ( БиоГая АБ, Швеция). БГП вводили 8 крысам опытной группы в дозе 10 мг/кг массы в виде 1 %-ого раствора в 0,9 %-ому NaCl перорально 1 раз в день на протяжении 5-и дней перед интраназальным примириванием ГА. Групп сравнения составили 8 животных, которые получали физиологический раствор хлористого натрия. Через неделю животных иммунизировали повторно внутривнутрибрюшинным введением ГА и ещё через неделю выводили из опыта согласно правил поведения с лабораторными животными. Как и в первой серии экспериментов определяли титры антител к ГА в сыворотке крови и экстрактах из трахеи и селезёнки, а также содержание в периферической крови FcR+ клеток.

При сравнении двух схем иммунизации животных ГА было показано (табл.1.), что интраназальное примиривание животных сопровождается большим содержанием антител в ткани

трахеи, чем парентеральное (  $p < 0,02$ ). Титры антител к ГА в крови были практически одинаковыми при обеих схемах иммунизации, а преимущественное образования антител в селезёнке было выявлено только при двухкратном внутривнутрибрюшинном введении.

Кроме того только при интраназальном примиривании животных ГА вируса гриппа А наблюдалось достоверное увеличение в периферической крови FcR+-клеток ( $p < 0,01$ ), что свидетельствует о вовлечении в иммунизаторный процесс клеточных реакций неспецифического характера.

Далее было установлено, что предварительный приём локального пробиотика БГП существенно не изменял уровень антител к ГА вируса в экстрактах трахеи, но существенно (  $p < 0,05$ ) повышал уровень антител в сыворотке крови, т.е. стимулировал системный гуморальный специфический иммунный ответ ( рис. 2).

Исследование содержания в периферической крови FcR+ - клеток и определение массы вилочковой железы (ВЖ) у всех групп животных данной серии показало, что масса ВЖ существенно не изменялась как у животных с приемом пробиотика, так и без него. В то же время относительное содержание FcR+ клеток было достоверно больше при приеме БГП и иммунизации ГА, чем только при иммунизации ( таблица 2 ).

Таким образом проведенные исследования свидетельствуют о том, что первичное локальное, интраназальное и последующее парентеральное введение вирусных антигенов более эффективно для продукции протективных антител как местно, так и системно, чем двукратное парентеральное введение ГА вирусов. При этом неспецифически увеличивается и популяция в крови полипотентных лимфоцитов крови, какими являются лимфоциты с рецептором к Fc-фрагменту иммуноглобулинов класса G (FcR+).

Установлено также, что иммунизация животных ГА вирусов гриппа А после локального применения пробиотика типа БиоГая продентис приводит к достоверному увеличению в сыворотке крови животных уровня привогриппозных антител по сравнению с иммунизацией без применения пробиотика, а также к увеличению у них в крови числа FcR+-клеток, т.е. приём локального пробиотика до начала вакцинации вирусными антигенами по схеме локально-системной иммунизации можно рассматривать как способ повышения антивирусной резистентности не только слизистых оболочек дыхательных путей, но и организма в целом. Полученные данные экспериментально подкрепляют высказанную авторами концепцию о локальной этиологически адекватной вакцинации ( О.Ф. Melnykov e.a., 2013).

Логарифмы титров антител против ГА вирусов гриппа при различных схемах иммунизации

Способ примирования	log2 титров антител		
	Сыворотка крови	Трахея	Селезёнка
	I	II	III
	M±m	M±m	M±m
Интактные (контроль)	3,2±0,6 (n = 6)	2,7±0,1 (n = 6)	0 (n = 5)
Интраназально	6,8±0,20 (n = 7)	8,7±0,21** (n = 6)	0 (n = 5)
Внутрибрюшинно	7,0±0,2 (n=6)	4,0±0,1 (n=6)	4,5 ±0,3** (n=6)

Обозначения : \*) p<0,05; \*\*)p<0,02 между группами «интраназально» и «внутрибрюшинно».

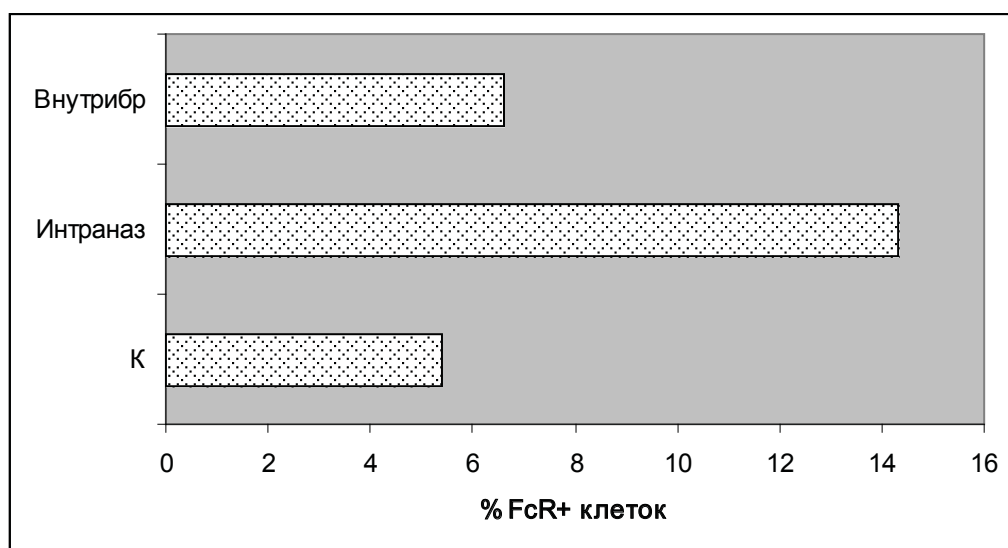


Рис.1. Относительное содержание FcR<sup>+</sup>- клеток в периферической крови крыс Wistar при различных вариантах первичной иммунизации ГА вирусов группы А.

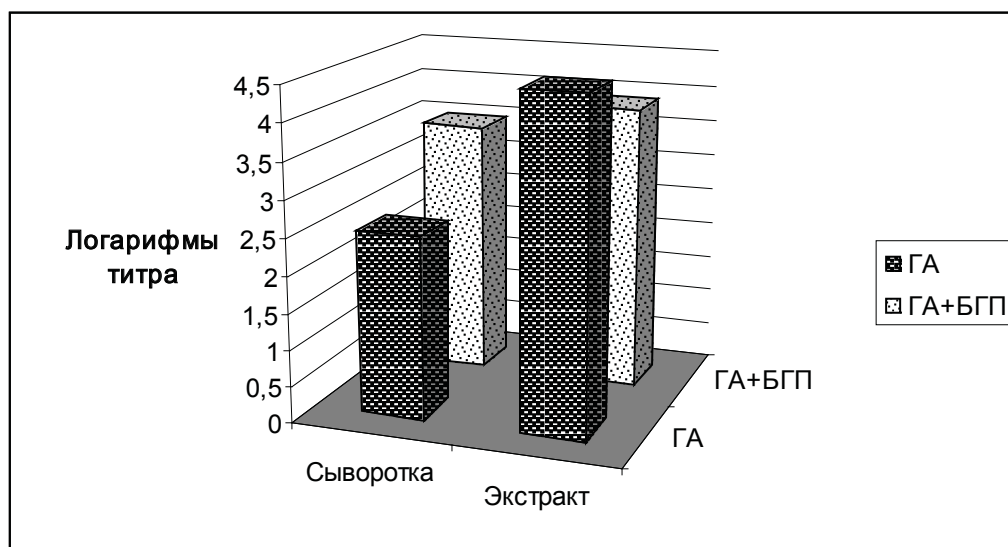


Рис.2. Влияние приема пробиотика на эффективность локально-системной иммунизации ГА

Таблиця 2

**Влияние приема пробиотика на неспецифические реакции клеточного типа при локально-системной иммунизации ГА**

Показатели	Группы животных	
	ГА+БГП n=8	ГА n=8
FcR+- клетки, %	10,9* + (7,0-14,0)	7,6 (3,0-10,0)
Масса ВЖ	145,0 (100,0-180,0)	133,8 (76,0-180,0)

Обозначения: p<0,05 в скобках указаны пределы колебаний

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Гублер Е.В. Математические методы анализа и распознавания патологических процессов. - Л.: Медицина, 1978. -294 с.
2. Дьяченко А.Г. Сучасні вакцини для сучасної людини // Клінічна імунологія. Алергологія. Інсектологія. - 2012. -№ 7(56). -С.20-28.
3. Левенсон В.И. Способ статистической обработки результатов титрования антител: Тр. Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии / В.И. Левенсон.- М.- 1968-1969.- Т.ХІІ.- С.72.
4. Лесков В.П. Структура и функции рецептора для Fc –фрагмента /В.П. Лесков, Н.А. Халтаян, И.С. Гущин // Иммунология. -1981.-№1.-С.17-
5. Melnykov O.F., Zabolotna D.D., Peleshenko N.A., Rylska O.G. Concept of local ethiologically appropriate vaccination // Proc. of 8<sup>th</sup> Intern. Symposium of Tonsils and Mucosal Barriers of the Upper Airways.- Zurich,2013.- abstr.16.-P.32. (a).
6. Мельников О.Ф., Самбур М.Б., Сидоренко Т.В. Вплив імунізації вірусними та бактеріальними антигенами за різними схемами на вміст FcR+ клітин крові у дослідних тварин // Журнал вушних, носових та горлових хвороб.-2014.-№3с.-С110-112.
7. Kabat A., Mayer M. Экспериментальная иммунохимия / Кебот А., Майер М.- М.:Мир.(пер. с англ.)- 1968.- 683 с.
8. Salzman N., Underwood M.A., Bevins C.L. Paneth cells,defisins,&commensal microbiota: hypothesis on intimate interplay at the intestinal mucosa //Semin.Immunol.-2007.-3 19.- P. 70-83.

**РЕЗЮМЕ**

**МОДУЛЯЦІЯ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ НА ГЕМАГГЛЮТИНИНИ ВІРУСУ ГРИПУ ПРОБІОТИКОМ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

*Мельников О.Ф., Самбур М.Б., Сидоренко Т.В., Пелешенко Н.А., Рильська О.Г.*

ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. А.І. Коломійченко НАМН України»

В умовах експерименту на крисах Вістар було показано, що первинна імунізація гемагглютинінами вірусів А1 і А2 достовірно ефективніша для створення локального специфічного імунітету в органах дихання та активації клітинних системних механізмів імунітету, ніж парентеральне первинне введення антигенів вірусів грипу. Встановлено також, що попереднє використання локального пробіотика для ротової порожнини типу БіоГая прудентіс суттєво стимулює активність специфічних гуморальних ( до антигенів вірусу типу А) і клітинних неспецифічних факторів системного імунітету.

**SUMMARY**

**MODULATION OF THE IMMUNE RESPONSE TO INFLUENZA VIRUS HAEMAGGLUTININS BY PROBIOTIC IN EXPERIMENT**

*O. F. Melnikov, M. Sambur, T. Sidorenko, N. Peleshenko, O. Rylska*

State Institution "Prof. A.I. Kolomyichenko Otholaringology Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv

In the experiment on rats (Wistar) it was shown that primary immunization by influenza A1 and A2 hemagglutinins significantly more effective in creating local specific immunity in the respiratory tract and activation of mechanisms of the cellular immunity system than parenteral administration of primary influenza virus antigens. It was also found that the pre-use of a local probiotic type BioGaia Prodentis for oral cavity significantly stimulates the activity of specific humoral (to antigens of influenza A virus) and cellular nonspecific factors of systemic immunity.