2. Циммеран Я. С. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника и / или «синдром избыточного бактериального роста» / Я. С. Циммеран // Клиническая медицина. – 2005. – № 4. – С. 14–22.

3. Поспелова В. Эубиотики – эффективное средство нормализации микрофлоры – и вклад МНИИЭМ в их разработку / В. Поспелова, Н. Грачева, Г. Ханина и др. // Врач. – 1997. – №4. – С. 30–32.

4. Апатенко В. М. Проблема паразитоценозов и задачи паразитоценологии / В. М. Апатенко // Проблемы и перспективы паразитоценологии: Материалы 5 межсъездовской конференции паразитоценологов Украины (29-30 октября 1997 г.). –Харьков–Луганск. – 1997. – С. 4–10.

5. Руденко П. А. Взаємовідносини між ініціаторами хірургічної інфекції в гнійній рані у котів / П. А. Руденко // Аграрний вісник Причорномор'я. – № 41(1). – Одеса. – 2008. – С. 186–190.

6. Дементеева С. Ю. История открытия антибиотиков / С. Ю. Дементеева // Клиническая антибиотикотерапия. – 2005. – № 1. – С. 39–40.

7. Шапіро А. В. Мікробіологічний контроль за раціональним застосуванням антибіотиків при інфекційних ускладненнях, які розвиваються при соматичних захворюваннях / А. В. Шапіро, О. В. Покас // Клиническая антибиотикотерапия. – 2000. – №5-6. – С. 26–30.

8. Пинегин Б. В. Дисбактериоз кишечника./ Б. В. Пинегин, В. Н. Мальцев, В. М. Кошунов. – М.: Медицина, 1984. – 144 с.

9. Oh S. Characterization and purification of bacteriocin produced by a potential probiotic culture, Lactobaccillus acidophilus 30SC / S.Oh, S. H. Kim, R. W. Worobo // J. Dairy Sci Dec. – 2000. – Vol. 83. – p. 2747–2752.

10. Коршунов В. М. Изучение антагонистической активности бифидобактерий in vivo и in vitro с использованием гнотобиологической технологии / В. М. Коршунов, З. А. Уртаева, В. В. Смеянова и др. // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1999. – № 5. – С. 72–77.

УДК 612.017.132

Брошков М.М.

ПРОГНОЗУВАННЯ ТРИВАЛОСТІ ПРОВЕДЕННЯ ІМУНОКОРЕКЦІЇ У СОБАК НА ПІДСТАВІ ВИЗНАЧЕННЯ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ АДРЕНЕРГІЧНОЇ ІМУНОРЕАКТИВНОСТІ

Одеський державний аграрний університет

Рецензент –кандидат біологічних наук, доцент Бублик В.М.

Ключові слова: *імунокорекція, рівень сенсибілізації, адреналін, Т-лімфоцити, фагоцитоз нейтрофілів, імунорегуляторний індекс.*

Встановлено, що вплив стресових агентів на розвиток імунної відповіді залежить не тільки від стресу (його характеристик), але й від чутливості до нейромедіаторів та гормонів (зокрема до катехоламінів) тих клітин нервової та імунної систем, які безпосередньо приймають участь в реалізації імунної реакції організму на вплив стресового чинника[1]. В теперішній час доведено можливість абсорбції катехоламінів поверхнею активованих імунокомпетентиних клітин, що свідчить про експресію або афініcть адренорецепторів на поверхню цих клітин в процесі імунізації або інших процесів [2]. Мішенями імунної

системи для впливу нейромедіатору адреналіну є Т-лімфоцити. Встановлено, що рівень Т-адренорецепції відображає ступінь активності симпатоадреалової (САС) системи у відповідь на дію стресорного фактору [3,4]. Є підстави вважати, що рецепція активних Т-лімфоцитів до нейромедіатору адреналіну дозволяє оцінити, за відсотком інверсії, стресорну реакцію організму, оскільки характеризує ступінь участі САС в реактивних змінах адаптативних механізмів імунного гомеостазу.

Загально визначеною в теперішній час є нейроімуно-ендокринна теорія виникнення, розвитку та регуляції стресової реакції організму на дію стресового подразника будь-якого ґенезу. Стресор через активацію функціонування нейроструктур емоційного мозку (гіпокампово-гіпоталамічне збудження) сигналізує нейроструктурам кори великих півкуль мозку про небезпеку, яка виникла і це обумовлює мобілізацію нореадреналіну у нейроструктурах неокортексу, (асоціативних та проекційних зонах кори), елементах лімбіко-ретикулярної системи, підкоркових морфофункціональних утворень мозку, що призводе до збудження центрів симпатичної нервової системи і внаслідок цього підсилюється діяльність симпато-адреналової системи і відбувається збагачення крові сумішшю норадреналіну та адреналіну з мозкового шару наднирникових залоз. Кров збагачується на 80-90 % норадреналіном та адреналіном, що обумовлює подальший розвиток стресової реакції в організмі [5]. Результати експериментальних досліджень які були проведені в НДІ ім.. Філатова на моделі стрес-індукованої імуносупресії, дозволили визначити, що в динаміці розвитку стресової реакції організму відбувається підвищення рівня адренорецепції тимусзалежних лімфоцитів [4]. Ці дослідження показали, що розвиток адреналін-індукованої імуносупресії починається вже після трьох внутрішньовенних ін'єкцій адреналіну і її прояв позначається на зниженні вмісту абсолютної кількості лімфоцитів, зниження кількості Т, і В-лімфоцитів і фагоцитарної активності нейтрофілів.

Хатні тварини, на відміну від сільськогосподарських, піддаються набагато частіше впливу стресорів, оскільки частіше змінюють місце перебування, умови існування та годівлі та інш. В зв'язку з цим актуальним є визначення особливостей імунофізіологічного статусу собак залежно від індивідуальної стрес реактивності лімфоцитів, що необхідно враховувати під час проведення заходів імунокорекції.

Метою наших досліджень було визначення можливості прогнозування тривалості проведення імунокорекції та особливостей імунофізіологічного стану собак залежно від адренорецепції «активних» Т-лімфоцитів.

Матеріали та методи досліджень. Об'єктом дослідження були хатні собаки від 1-го до 6-ти років, які мали аналогічні умови існування та догляду. Матеріалом слугувала периферична кров, яку вранці відбирали на тщесерце в кількості 0,5 мл та виділяли лейкоцитарно-лімфоцитарну суміш. Розкапували лейкоцитарно-лімфоцитарну суміш клітин по 0,05 мл у лунки імунологічних планшет. Додавали в дослідні лунки 0,05 мл адреналіну (1:1000), а в контрольні лунки – 0,05 мл фізіологічного розчину.

Інкубацію лейкоцитарно-лімфоцитарної суміші клітин проводили у термостаті протягом 30 хвилин при t°=37°C. Після інкубації додавали у лунки імунологічної плати до всіх проб 0,05 мл еритроцитів барана (ЕБ) в стандартній концентрації 0,02%. Інкубували 5 хв. при кімнатній температурі, відразу готували мазки, забарвлюємо за Романовським-Гімзою. Підрахували відносну кількість «активних» Е-РУЛ на 100 клітин лімфоїдного ряду в контрольних і дослідних зразках, різниця у відсотку «активних» Т-клітин у дослідних і контрольних зразках відображає рівень супресованості організму тварини. Результати оцінюють на підставі порівняння % інверсії «активних» Е-РУЛ в дослідних і контрольних пробах. Відсоток інверсії «активних» Т-лімфоцитів в дослідних пробах (з додаванням адреналіну) до 10% по відношенню до контрольних проб (з додаванням фізіологічного розчину)

оцінювалась як легка ступінь супресованості; від 10 до 16% - як середня ступінь; якщо інверсія «активних» Т-лімфоцитів була 17% і вище, ступінь супресованості розцінювалась як тяжка. Суть даної реакції полягає в тому, що під час попередньої інкубації лейкоцитарно-лімфоцитарної суміші клітин з адреналіном частина активних рецепторів на поверхні імунокомпетентних клітин з'єднюються з цим нейромедіатором, що веде до зменшення «активних» розеткоутворюючих клітин. Кількість лейкоцитів визначали в камері Горєва, загальну кількість лімфоцитів визначали в пофарбованому за Романовським-Гімзою мазку крові. У крові визначали абсолютний та відносний вміст лімфоцитів та їх субпопуляції в реакції розеткоутворення з еритроцитами барана (Е тф. р.-Рул, Етф.ч-Рул), а інтенсивність фагоцитозу нейтрофілів за здатністю фагоциту вати пекарські дріжджі в перерахунку на 50 клітин. За розеткоутворюючу вважали клітину яка приєднала три і більше еритроцитів. За фагоцитуючий вважався нейтрофіл який поглинув одну і більше дріжджову клітину. Клініко-імунологічні дослідження проведені в умовах ветеринарної клініки «Одеський амулет» у 60 собак середньою живою вагою 17-22. До досліду підбирали тварин які мали клінічний прояв хронічних захворювань з тривалим, часто рецидивуючим, перебігом, резистентним до традиційної стандартної терапії, приєднанням ускладнень (клінічних ознак алергії). Для проведення імунокорекції призначали наступний курс фармакологічних засобів: «Імунофан» - синтетичний гексапептид аргинил-альфа-аспартил-лізил-валіл-тірозил-аргінін, має імунорегулюючий вплив, нормалізує продукцію медіаторів імунітету. Вводили внутрішньом'язово по 1 мл 1 раз на день 5 днів; «Дибазол» - відноситься до групи загально тонізуючих та адаптогенів. Підвищує синтез нуклеїнових кислот і білків, стимулює імунну систему (активатор фагоцитозу та синтезу інтерферону), задавали перорально по 1 табл.(4 мг) двічі на день від 7 до 14 днів; «Глюконат кальцію 500 мг» - знижує проникненність судин, чинить протиалергійну дію та інш. Застосовували перорально в середньому по 1 табл. Двічі на день 7-14 днів. Ефективним курсом імунокорекції вважали той, після проведення якого зникали ознаки хронічних захворювань Після відбору проб та визначення % інверсії з додаванням адреналіну у дослідних тварин, їх поділили на три групи залежно від відсотку інверсії 1 група - 20 голів, 2-га група – 21 голови, 3-тя група 19 голів.

Результати досліджень та обговорення. Аналіз результатів спостереження за ефективністю імунокорекції залежно від рівня адренорецепції (визначення у навантажувальному тесті «активних» Е-РОК з адреналіном Т-лімфоцитів) у дослідних тварин показав, що в першій групі (де рівень Т-адренорецепції був до 10%) лише дві собаки потребували повторення курсу імунокорекції протягом місяця. А за весь період спостереження клінічного прояву рецидивів не виявлено. Тривалість курсу склала 11,5±2,41 день. При іншому рівні Т-адренорецепції, коли % інверсії складав 10-16% відмічалось збільшення тривалості курсу імунокорекції. При такому, менш сприятливому рівні Т-адренорецепції, характерним було наявність у майже половини тварин повторних курсів імунокорекції протягом місяця, і 19% (4 гол) потребували ще декількох повторень протягом послідуючих 6-ти місяців спостереження.

Таблиця 1

Тривалість імунокорекції залежно від рівня адренорецепції

«активних» Т-лімфоцитів

Групи тварин залежно від % інверсії.	Кількість тварин у групі, гол	Тривалість курсу імунокорекції, днів	Наявність повторних курсів протягом місяця, гол/%	Повторення курсів імунокорекції протягом 6 місяців, гол/%
До 10%	20	11,5±2,41	2/10	-
10 – 16 %	21	21,14±2,07	10/48	4/19
17 і вище	19	31,0±2,16	16/84	8/42

У собак з високим рівнем Т-адренорецепції (% інверсії 17 і вище), тривалість курсу імунокорекції становила в середньому місяць. При такому % інверсії більшість тварин (84 %) цієї групи потребувала повторення цих курсів протягом місяця, а 42% мала необхідність у продовженні імунокорекції ще протягом шести місяців.

Виходячи з отриманих даних можна припустити, що у частини другої та третій групі тварин відбувається уповільнене включення симпатоадреалової системи з послідуючим зростанням її активності, що супроводжується значним порушенням індивідуальної реактивності організму, а це призводить до вираженої сенсибілізації організму до адреналіну і як наслідок збільшення тривалості курсів імунокорекції та необхідності їх повторення.

За даними Чаланової Р.І. (2009) у людини при опіковій травмі ока індивідуальна адренергічна імунореактивність може змінюватися протягом лікувальних заходів, і розвиток ускладнень і тривалість лікування залежать від типу динаміки змін Т-адренорецепції в процесі розвитку патологічного стану. Також цим автором виявлена залежність тривалості лікування від первинної індивідуальної стресреактивності організму людей.

Оцінка показників абсолютної кількості НК-клітин, Т-хелперів та Т-супресорів у собак (Рис1), залежно від % інверсії Т-«активних» лімфоцитів в навантажувальному тесті з додаванням адреналіну показала, що по мірі збільшення відсотку інверсії збільшується абсолютна кількість Т-хелперних клітин. Так в групі тварин у яких відсоток інверсії складав більше 17, абсолютна кількість Т-хелперів дорівнювала 1891 кл/мкл, це на 1069 кл/мкл (на 56%) більше в порівняні з групою тварин, де % інверсії складав менше 10. На відміну від Т-хелперних клітин, абсолютна кількість Т-супресорів та НК-клітин зменшується за умов збільшення % інверсії. Собаки, у яких % інверсії Т-«активних» лімфоцитів з нейромедіатором адреналіном складав 17 і вище, абсолютна кількість Т-супресорів та НК-клітин становила 349 та 196 кл/мкл відповідно, проте 479 і 216 кл/мкл в групі тварин з відсотком інверсії до 10. За даними Лебедева К.А. (1996) підвищення кількості Т-хелперів на фоні зменшення Т-супресорів зазвичай характерно для перших етапів запального процесу.

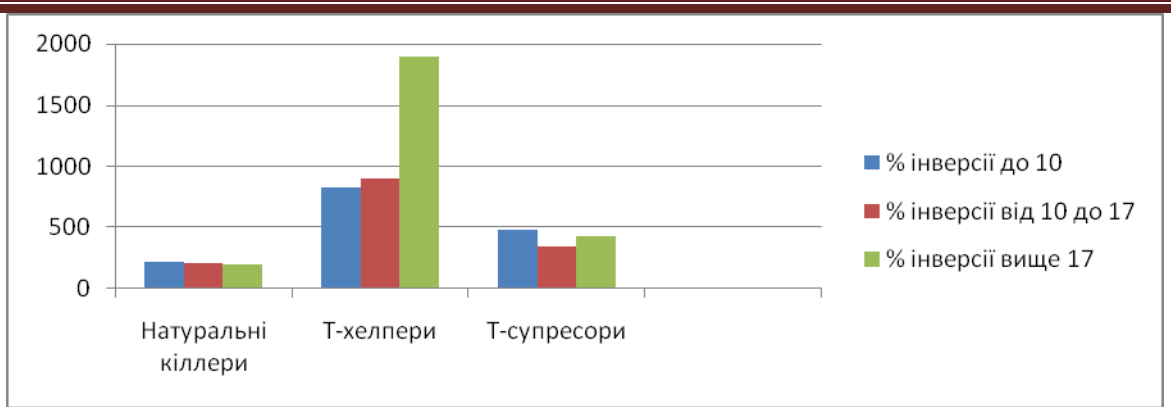

Рис.1. Показники абсолютної кількості НК-клітин, Т-хелперів та Т-супресорів у собак залежно від % інверсії Т-«активних» лімфоцитів у навантажувальному тесті з адреналіном кл/мкл.

Оцінка показників абсолютної кількості НК-клітин, Т-хелперів та Т-супресорів у собак (Рис.1), залежно від % інверсії Т-«активних» лімфоцитів в навантажувальному тесті з додаванням адреналіну показала, що по мірі збільшення відсотку інверсії збільшується абсолютна кількість Т-хелперних клітин. Так в групі тварин у яких відсоток інверсії складав більше 17, абсолютна кількість Т-хелперів дорівнювала 1891 кл/мкл, це на 1069 кл/мкл (на 56%) більше в порівняні з групою тварин, де % інверсії складав менше 10. На відміну від Т-хелперних клітин, абсолютна кількість Т-супресорів та НК-клітин зменшується за умов збільшення % інверсії. Собаки, у яких % інверсії Т-«активних» лімфоцитів з нейромедіатором адреналіном складав 17 і вище, абсолютна кількість Т-супресорів та НК-клітин становила 349 та 196 кл/мкл відповідно, проте 479 і 216 кл/мкл в групі тварин з відсотком інверсії до 10. За даними Лебедева К.А. (1996) підвищення кількості Т-хелперів на фоні зменшення Т-супресорів зазвичай характерно для перших етапів запального процесу. Виходячи з цього можна припустити, що високий рівень адренорецепції на Т-«активних» лімфоцитах, обумовлює стан при якому організм тривалий час знаходиться у стані субклінічного або клінічного запалення, при цьому блокується можливість переходу до закінчення запалення при якому має відбутися збільшення Т-хелперних лімфоцитів.

При аналізі середніх показників імунограми (таблиця 2) у собак з різними типами Т-адренорецепції було встановлено, що у тварин з усіх дослідних груп відносна кількість лімфоцитів знаходилась в межах фізіологічної норми. Різниця у відносній кількості між групами знаходилась в межах 2-4 %.

При аналізі відносної кількості субпопуляцій лімфоцитів, у собак з різними ступенями адренорецепції відмічено вища за норму кількість Т-лімфоцитів у тварин другої та третьої групи, де % інверсії складав 10-16 і 17 і вище відповідно. Порівнюючи відносну кількість Т-хелперних/індукторних клітин відмічалась тенденція до збільшення цієї субпопуляції разом зі збільшенням ступеню сенсибілізації організму собак до адреналіну. Тобто чим більше відносна кількість цих клітин, тим більший % інверсії. Також відмічена тенденція, але до зменшення, у відносній кількості Т-супресорних/цитотоксичних клітин. Тобто разом зі зменшенням цих клітин у тварин разом з різним ступенем сенсибілізації до адреналіну збільшується % інверсії.

При аналізі відсотку субпопуляції НК-клітин не відсіченр суттєвої залежності між їх відносною кількістю та рівнем адренорецепції «активних» Т-лімфоцитів. Тобто група тварини з високим % інверсії (17 і більше) мали 10,14±1,9% цих клітин

проти 10,29±1,25% у тварин з низьким % інверсії (до 10%).

Оцінка стану фагоцитарної активності нейтрофілів у собак різних груп, залежно від ступеня сенсибілізації до адреналіну показала, що зі збільшенням % інверсії підвищується і нейтрофільна активність до фагоцитозу.

Таблиця 2

Відносна кількість показників імунограми у собак залежно від рівня адренорецепції «активних» Т-лімфоцитів

Показники	Стан клітинного імунітету залежно від % інверсії			Фізіологічні межи
	1-а група – до 10%	2-га група – 10-16%	3-я група – 17 % і вище	
Лімфоцити, %	25,0±15,56	23,25±12,45	27,14±14,9	19-37
Т-лімфоцити, %	69,43±10,75	73,33±7,12	76,6±6,9	46-72
Т-хелпери/індуктори, %	44,0±5,66	53,33±8,33	55,89±10,37	27-33
Т-супресори/цитотоксичні, %	25,43±7,3	22,0±7,32	19,75±6,25	17-18
В-лімфоцити, %	10,43±1,9	10,29±2,44	9,92±2,63	7-30
НК-клітини, %	11,29±1,25	10,79±1,7	10,14±1,9	10-20
Фагоцитоз нейтрофілів, %	52,3±7,61	62,7±16,8	64,9±12,7	40-95

Так в групі тварин, де % інверсії складав 17 і вище, рівень фагоцитарної активності нейтрофілів складав 64,9±12,7, це на 12,6% більше, ніж в першій групі тварин з % інверсії до 10.

Висновки:

1. Встановлено, що підвищення ступеня сенсибілізації організму до нейромедіатору адреналіну, в реакції «активних» Т-лімфоцитів більше ніж на 10% в більшості випадків обумовлює необхідності повторення курсів імунокорекції та збільшенням їх тривалості.

2. Аналіз показників відносної кількості імунокомпетентних клітин за умов різного ступеня сенсибілізації організму показав, що більш високий рівень Т-адренорецепції відмічається на фоні збільшення Т-хелперів/індукторів та зменшення Т-супресорів/цитотоксичних, а також підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів.

Література.

1. Чаланова Р.И. Механизмы ожоговой болезни глаз и патогенетическое обоснование целесообразности применения ферментативной некрэктомии для предупреждения осложнений ожогового процесса : дис. доктор. мед. наук: 14.03.04 «Патологическая физиология» / Р.И. Челанова.-Одесса, 2009.-355с.

2. De Blasi A. Regulation of beta adrenergic receptor on the mononuclear leucocytes by stress: receptor redistribution and down-regulation aer altered with aging/ A. De Blasi, M. Fradelli, M. Wielosz, M. Lapartini// J. Pharmacol. Exp. Ther.-1987.-V.240.-1.-P. 228-233.

3. Дегтяренко Т.В. Особенности иммунологического статуса организма при начальных диабетических изменениях глазного дна и их прогностическое значение/ Т.В. Дегтяренко, Л.Т. Кишенчева, А.В. Байбарза// Офатальм. журнал.-1994.-№3.-С.145-149.

4. Дегтяренко Т.В, Биогенные стимуляторы и иммунореактивность/ Т.В. Дегтяренко, Р.Ф. Макулькие.-Одесса:Маяк,1997.-190 с.

5. Корнева Е.А. Вегетативная нервная система и иммунный гомеостаз / Е.А. Корнева, Г.В. Гущин, В.М. Клименко, Б.А. Марат // Центральные и периферические механизмы вегетативной нервной системы [сб. научн. трудов]. – Ереван, 1980. С. 6-8.