

порушеного обміну речовин. Свідченням останнього є зростання при алкогольному гепатиті вмісту МСМ обох класів [4].

ВИСНОВКИ 1. При експериментальному алкогольному гепатиті у білих щурів відбувається посилення перекисного окислення ліпідів з розвитком синдрому цитолізу печінкових клітин, що супроводжується зростанням ендогенно інтоксикації організму і порушенням обміну білірубину та білків.

2. У тварин з гострим алкогольним гепатитом пригнічується транспортна функція сироваткового альбуміну залежно від тяжкості патологічного процесу, що пов'язано із зниженням концентрації цього білка у крові та підвищенням рівня ендогенно інтоксикації організму, зокрема зі збільшенням вмісту МСМ₁ та МСМ₂.

ЛІТЕРАТУРА

1. Титов В.Н. Патфизиологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени // Клини. лабор. диагностика. – 2004. – № 1. – С. 3-9.
 2. Алейник С.И., Лео М.А., Алейник М.К., Либер Ч.С. Алкоголь-индуцированный печеночный окислительный стресс: защита путем

фосфолипидного насыщения // Биол. мед. свободн. радик.. – 1999. – № 26. – С. 609 – 619.

3. Буеверов А.О., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. Алкогольная болезнь печени // Рос. мед. журнал. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 61-65.

4. Хазанов А.И. Современные проблемы вирусных и алкогольных болезней печени // Рос. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2002. – № 2. – С. 6 – 15.

5. Ивашкин В.Т., Комаров Ф.И.. Состояние и перспективы развития гастроэнтерологии // Тер. архив. – 2003. – № 2. – С. 5-8.

6. Подымова С.Д. Болезни печени. – М.: Медицина, 2003. – 480 с.

7. Вірстюк Н.Г., Гурик З. Л. Ультраструктурні зміни гепатоцитів при алкогольній хворобі печінки // Буковин. мед. вісник. – 2001. – Т. 5, № 1. – С. 208-211.

8. Effect of chronic ethanol treatment on peroxisomal acyl-cooxidase activity and lipid peroxidation in rat liver and heart/ L. F. Panchenko, S. V. Pirozhkov, S. V. Popova, V. D. Antonencov// Experimentia. – 1997. – V. 43, № 5. – P. 580-581.

9. Демида Е.П. Клініко-біохімічні особливості перебігу холестеролу жовчного міхура // Лікувальна справа. – 2003. – № 1. – С. 49-52.

10. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excel. – К.: Морион, 2001. – 410 с.

**Волянський А.Ю., Кучма І.Ю., Симиренко Л.Л.,
 Никитченко Ю.В., Іщенко Т.І., Цейтлін Н.А.**

**ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ТИРОКСИНУ НА РІВЕНЬ
 СПЕЦИФІЧНОГО АНТИТИЛОГЕНЕЗУ ЗА УМОВ ІМУНІЗАЦІ АДП-АНАТОКСИНОМ**

ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМНУ", Харків

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ТИРОКСИНУ НА РІВЕНЬ СПЕЦИФІЧНОГО АНТИТИЛОГЕНЕЗУ ЗА УМОВ ІМУНІЗАЦІ АДП-АНАТОКСИНОМ – Досліджено вплив екзогенного тироксину на процес специфічного антитіло генезу у 3-місячних самців щурів лінії Вістар в динаміці формування імунно відповіді на АДП-анатоксин. Гіпертиреоїдний стан щурів негативно впливав на активність синтезу специфічних антитоксинів у продуктивну фазу імунно відповіді. Зміни концентрації протидифтерійних і протиправцевих антитіл сироватки крові щурів у динаміці процесу формування імунно відповіді на тлі гіпертиреоїдного стану організму описано за допомогою емпіричних функцій регресії.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ТИРОКСИНА НА УРОВЕНЬ СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИТЕЛОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ ИМУНИЗАЦИИ АДС-АНАТОКСИНОМ – Исследовано влияние экзогенного тироксина на процесс специфического антителогенеза у 3-месячных самцов крыс линии Вистар в динамике формирования иммунного ответа на АДС-анатоксин. Гипертиреоидное состояние крыс негативно влияет на активность синтеза специфических антитоксина в продуктивную фазу иммунного ответа. Изменения концентрации противодифтерийных и противостолбняковых антител сыворотки крови крыс в динамике процесса формирования иммунного ответа на фоне гипертиреоидного состояния организма описано с помощью эмпирических функций регрессии.

INFLUENCE OF EXOGENOUS THYROXIN ON THE SPECIFIC AN-TIBODY GENESIS LEVEL OF RATS UNDER ADT-ANATOXIN IMMUNIZATION – The influence of exogenous thyroxin on specific antibody genesis at 3-month old male Wistar rats in the dynamics of immune response formation under ADT-anatoxin immunization was investigated. The hyperthyroid state of rats negatively influenced on specific antitoxins synthesis activity in the productive phase of immune response. The changes of antidiphtherial and antitetanic antibodies concentration in rat blood serum in dynamics of immune response formation on a background of organism hyperthyroid state are described by means of empirical function of regression.

Ключові слова: експериментальний гіпертиреоз, АДП-анатоксин, антитілогенез, щури.

Ключевые слова: экспериментальный гипертиреоз, АДС-анатоксин, антителогенез, крысы.

Key words: experimental hyperthyroidism, ADT-anatoxin, antibody genesis, rats.

ВСТУП Гормональні дисфункції є однією з найпоширеніших причин зміни імунореактивності організму. Однак ефект тиреоїдних гормонів на гуморальну імунну відповідь залишається нез'ясованим. Є повідомлення, що показують збільшення гуморально імунно відповіді під впливом гормонів щитоподібно залози [1, 2] та пригнічення за умов тирео-

дектомії [2]. В інших дослідженнях визначено або пригнічено відповідь антитіл при впливі тиреоїдних гормонів [3, 4], або підвищено гуморальну імунну відповідь при дії антитиреоїдних препаратів [5]. Отримано також дані про відсутність ефекту тиреоїдних гормонів на відповідь антитіл за умов імунізації [6].

Гіпертиреоз є загальносвітовою проблемою. Більшість гіпертиреозних станів у людини є аутоімунного генезу. Потенціювання або супресія гуморально імунно відповіді гормонами щитоподібно залози за умов патологічного процесу може підсилювати або пригнічувати аутоімунний стан організму, тому проблема вивчення імунного статусу при порушеннях функції щитоподібно залози давно вже звертає на себе увагу дослідників, однак ця проблема значно ширша і далеко ще не вирішена. Щорічне погіршення екологічної ситуації, неправильне харчування й постійні стреси у сучасному суспільстві негативно відбиваються на стані імунно системи людини, що має наслідком також зниження ефективності імунізації населення згідно з Національним календарем щеплень. Вакцинація проти дифтерії та правця має охоплювати не тільки групи ризику (молодого та старшого віку), а також доросле населення, і проходити кожні 10 років. За даними сучасних досліджень, зниження імунітету до цих інфекцій спостерігається і у дорослого населення США. Ситуація ускладнюється ще й рекомендаціями застосування для профілактики асоційованих вакцин, наприклад, АДП-анатоксину, АДПм-анатоксину. Проведені нами дослідження дають підставу вважати, що за сучасних умов докілька факторів спричиняють зниження адаптаційних можливостей організму, імуногенні властивості дифтерійного анатоксину у складі АДС-вакцини не реалізуються належним чином через приховану недостатність функції щитоподібно залози [7]. Цікаві результати отримано нами при вивченні особливостей процесу формування поствакцинальної гуморально імунно відповіді на моделі щурів з перенесеним у період раннього постнатального онтогенезу (період молочного вигодовування). У цих щурів встановлювався шляхом включення механізму імпринтингу підвищений рівень функціональної активності щитоподібно залози на весь період онтогенезу. У 3-місячних щурів дано моделі спостерігали більш значну активність синтезу дифтерійних антитоксинів

на АДП-вакцину, ніж у інтактних щурів. Наведені результати свідчать про важливість урахування тирео дного стану системи гіпоталамус-гіпофіз-щитоподібна залоза для формування імунно відповіді.

При еутирео дному стані організму важко відокремити ефект тирео дних гормонів на імунну відповідь через існування взаємодії та впливу багатьох гормонів та інших факторів, які залучені в цю регуляцію і спроможні справляти на не модулюючий ефект. Отже, визначення ефекту гормонів щитоподібно залози (наприклад, L-тироксину) на імунну відповідь в експерименті на тваринах може надати важливу інформацію відносно спрямованості змін гуморально імунно відповіді за умов гіпертиреодного стану організму.

Важлива роль гормонально регуляції в процесах імуногенезу, особливо за умов порушення окремих ланок гормонально системи, має істотне значення для розробки методів корекції імунно відповіді, забезпечення підвищення ефективності щеплень населення та вдосконалення схем застосування вакцинних препаратів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експеримент проводили на двох групах 3-місячних самців щурів лінії Вістар, контрольній та дослідній. Щурам контрольної групи вводили фізіологічний розчин внутрішньочеревно один раз на добу в об'ємі 0,25 мл на 100 г маси тіла. Гіпертиреодний стан у тварин дослідної групи викликали тривалим введенням екзогенного тироксину: щурам протягом всього експерименту вводили внутрішньочеревно L-тироксин (фірма Reanal, Угорщина), розчинений у 0,4 мл 0,9 % NaCl (фізрозчин), один раз на добу у дозі 50 мкг на 100 г маси тіла. Після третього введення гормону щурам дослідної групи вводили АДП-анатоксин (Anatoxinum diphthericotentanicum purificatum adsorptum fluidum, міжнародна непатентована назва: Diphtheria and Tetanus Toxoids Adsorbed (DT Adsorbed)). Вакцина складається із суміші очищених дифтерійного та правцевого анатоксинів, адсорбованих на гідроксиді алюмінію. Препарат містить в 1 мл шістьдесят флокулюючих одиниць дифтерійного та двадцять антитоксинзв'язуючих одиниць правцевого анатоксинів. Код за АТС: J07A M51. АДП-вакцину вводили підшкірно одноразово у дозі 15 ЛФ дифтерійного та 5 ОЗ правцевого анатоксинів у 0,25 мл препарату. Ця доза як мінімально ефективна була визначена раніше при розробці моделі імунно відповіді на АДП-анатоксин [8]. Концентрацію антитіл сироватки крові досліджували у динаміці розвитку імунно відповіді через 3, 7, 14, 21 та 28 діб після щеплення. Контрольна та дослідні групи кожного строку включали три-чотири тварини. Кров для аналізів відбирали шляхом декапітації тварин. Сироватку крові зберігали в холоді до використання у досліді. При проведенні досліджень дотримувалися рекомендацій Європейсько конвенції з питань етики із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей (Страсбург, 1986 р.) [9].

Антитіла (АТ) до дифтерійного та правцевого анатоксинів у складі АДП-вакцини визначали у сироватці крові в реакції пасивно гемаглютинації за допомогою стандартного комерційного "Діагностикума еритроцитарного дифтерійного антигенного рідкого", з активністю 1:3200, та "Діагностикума еритроцитарного правцевого антигенного рідкого", з активністю 1:1280, 1:2800, виготовлених АОВТ "Біомед" ім. І.І. Мечникова. Статистичну обробку результатів дослідження виконували на ПК за допомогою пакета прикладних програм "Excel" та "Statistika V. 6".

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ Введення екзогенного тироксину протягом експерименту привело до створення гіпертиреодного стану організму щурів. На час імунізації концентрація тироксину сироватки крові підвищувалася у 4,3 раза (від $(66,95 \pm 1,55)$ нмоль/л у тварин контрольної групи до $(288,2 \pm 14,8)$ нмоль/л у дослідних), рівень трийодтироніну підвищувався у 3,9 раза (від $(1,61 \pm 0,08)$ нмоль/л у тварин контрольної групи до $(6,29 \pm 0,19)$ нмоль/л у дослідних). Рівень тиреотропіну сироватки крові знижувався у середньому від $(0,36 \pm 0,03)$ мМО/л до

$(0,25 \pm 0,01)$ мМО/л. Шестидобове введення щурам L-тироксину призводило до невеликого зменшення маси тіла (на 8,2 %), збільшення маси серця на 35,3 % ($P \leq 0,05$) та підвищення масового коефіцієнта серця на 32,6 % ($P \leq 0,05$). Ректальна температура тіла підвищилася на 1,9 °C ($P \leq 0,05$) (табл.1).

Формування специфічно імунно відповіді на АДП-анатоксин у щурів, які були під впливом екзогенного тироксину, характеризувалося суттєвими особливостями активності синтезу специфічних антитіл (табл. 2). Наявність протидифтерійних та протиправцевих антитіл у сироватці крові було визначено з 14 доби після імунізації.

Концентрація протидифтерійних АТ сироватки крові виявилася вищою на 0,096 МО/мл, ніж у інтактних тварин, лише в індуктивній фазі реакції (на 14 добу після щеплення); на 21 добу вона підвищувалася на 0,147 МО/мл відносно рівня на 14 добу, але складала 25 % ($P \leq 0,001$) від рівня у тварин контрольної групи. На 28 добу експерименту рівень АТ у щурів дослідної групи знижувався на 0,1 МО/мл відносно рівня на 21 добу, і достовірно не відрізнявся від кількості АТ в цей період у інтактних тварин. Концентрація правцевих антитоксинів у сироватці крові щурів, які були під впливом екзогенного тироксину, була достовірно вищою від визначено у щурів контрольної групи на 14 добу (на 0,27 МО/мл; $P \leq 0,05$), а на 21 добу – вдвічі його перевищувала. Цей рівень підтримувався до 28 доби і не відрізнявся від визначеного у інтактних тварин.

Короткочасну активацію синтезу специфічних антитоксинів можна пояснити позитивним впливом підвищеного рівня тироксину, що компенсував приховану недостатність функції щитоподібно залози, що і визначено за умов імунізації у інтактних тварин [7, 10]. Але вже у продуктивній фазі реакції відповіді гіпертиреодний стан щурів негативним відбивався на рівні специфічних АТ у кровотоці: кількість протидифтерійних АТ достовірно знижувалася. На зниження активності синтезу дифтерійних антитоксинів могла вплинути і наявність у складі асоційовано АДП-вакцини правцевого анатоксину, який є провідним за антигенними властивостями. За умов стимулювального впливу екзогенного тироксину вказане сприяло підвищенню активності синтезу правцевих антитоксинів і підсилювало його супресорний вплив на протидифтерійний антилітогенез. Можливість прояву за сучасних умов довкілля супресорного впливу правцевих антигенів на дифтерійні при імунізації щурів АДП-анатоксином нами доведено у дослідженні порівнянного впливу дифтерійного та АДП анатоксинів на протидифтерійний антилітогенез [11]. Визначено, що незалежно від віку (3- та 20-місячні щури) імунізація дифтерійним анатоксином супроводжувалася більш значним рівнем протидифтерійного антилітогенезу, ніж у тварин під впливом АДП-анатоксину.

Особливості розвитку специфічно імунно відповіді до АДП-анатоксину на тлі гіпертиреодного стану організму описано емпіричними функціями регресії (ЕФР) за допомогою методу лінійного регресійного аналізу.

Як показали дослідження, зміни концентрації протидифтерійних антитіл (АТД) та протиправцевих антитіл (АТП) сироватки крові в період від 14 до 28 доби після щеплення АДП-анатоксином характеризувалися коливальним процесом (табл. 2). Рівнів варіювання факторів, що розглядали, для дози препарату (А) було два (контрольна та дослідна групи), фактора t (термін після імунізації) – шість (до імунізації, через 3, 7, 14, 21 та 28 діб після щеплення). Тому досліджувані залежності можна приблизно апроксимувати поліномом відносно А – першого ступеня й відносно t – п'ятого ступеня з парними взаємодіями:

$$Y = b_0 + b_1 t + b_2 t^2 + b_3 t^3 + b_4 t^4 + b_5 t^5 + (b_6 + b_7 t + b_8 t^2 + b_9 t^3 + b_{10} t^4 + b_{11} t^5) A, \quad (1)$$

де Y – відгук (логарифм концентрації одного з антитіл);
b_i – емпіричні коефіцієнти.

Як відгуки (ендогенних змінних) Y в ЕФР було обрано логарифми сум Lg(АТД+0,1) та Lg(АТП+0,1) для того, щоб відгук був завжди позитивним. Коефіцієнт 0,1 додано для ви-

Таблиця 1. Деякі показники фізіологічного стану щурів за умов введення L-тироксину протягом шести діб

Показник	Контрольна група	Дослідна група
Маса тіла (а)	207±7	190±6
Маса серця (в)	0,634±0,024	0,858±0,010*
Масовий коефіцієнт серця, в/а x100 %	3,06±0,06	4,54±0,19*
Ректальна температура, С°	37,1±0,3	39,0±0,1*

Примітка: * – P≤0,05

Таблиця 2. Концентрація специфічних антитіл сироватки крові щурів за умов імунізації АДП-анатоксином на тлі введення екзогенного тироксину (M±m, МО/мл)

Термін після імунізації, t доба	Протидифтерійні АТ		Противрацеві АТ	
	Контрольна група	Дослідна група	Контрольна група	Дослідна група
14	0,007±0,001	0,103±0,07	0,150±0,001	0,42±0,08*
21	1,000±0,01	0,25±0,03***	1,000±0,01	2,0±0,012*
28	0,125±0,001	0,15±0,025	2,000±0,012	2,0±0,012

Примітка: * – P<0,05; *** – P<0,001; P – рівень значущості t-критерія Стьюдента для різниці середніх рівнів між контрольною та дослідною групами.

падку, коли АД=0 та АТП=0, щоб Lg(АТД) та Lg(АТП) при цьому не дорівнювали мінус нескінченності [наприклад, при АД=0 отримуємо Lg(АТД+0,1)=Lg(0,1)=-1].

Обробка даних методом лінійного регресійного аналізу з виключенням недостовірних коефіцієнтів регресії дозволила одержати такі ЕФР:

$$Lg(АТД+0,1) = -1,021 + 0,0783At; R^2 = 74\%; S_{lg(АТД+0,1)} = 0,176, \quad (2)$$

$$Lg(АТП+0,1) = -1,025 - 0,474(t/10)^2 + 0,622(t/10)^3 - 0,154(t/10)^4 + 0,1222At; R^2 = 92\%; S_{lg(АТП+0,1)} = 0,14, \quad (3)$$

де: R² – коефіцієнт детермінації; S_y – середньоквадратичне відхилення відгуку.

Всі коефіцієнти регресії високовірогідні (P<0,001); якість отриманих ЕФР характеризується дуже великими значеннями коефіцієнтів детермінації R², наближеними до 100 %. Отримані в результаті обробки спостережуваних даних поліноми (2) і (3) набувають властивість інтерполюючих функцій.

Як видно з ЕФР (2) і (3), 74 % (P≤0,001) змін кількості протидифтерійних антитіл та 92 % (P≤0,001) противрацевих пов'язано з терміном після імунізації; коливання рівня протидифтерійних та противрацевих антитіл визначено в області 14<t<28 доби (табл. 2) і описуються параболою першого та четвертого порядку відповідно.

Таким чином, динаміку змін концентрації протидифтерійних та противрацевих антитіл сироватки крові гіпертиреодних щурів протягом формування поствакцинально гуморально імунно відповіді на АДП-анатоксин описано рівняннями регресії, що дозволяє кількісно визначити x середнє значення у будь-який період (від 14 до 28 доби) після щеплення. Отримані регресійні функції доцільно використовувати як емпіричні математичні моделі для розрахунку рівня специфічних антитіл у щурів в експерименті при розробці методів медикаментозно корекції вакцинального процесу на тлі гіпертиреозного стану організму.

ВИСНОВКИ 1. Введення щурам лінії Вістар L-тироксину в дозі 50 мкг на 100 г маси тіла супроводжується підвищенням концентрації T₄ та T₃ та зниженням концентрації ТТГ сироватки крові щурів протягом експерименту, що створює гіпертиреодний стан організму.

2. Гіпертиреодний стан щурів впливає на розвиток гуморально імунно відповіді за умов щеплення АДП-анатоксином.

3. Гіпертиреодний стан щурів негативно впливає на активність протидифтерійного антитілогенезу у продуктивній фазі імунно відповіді на АДП-анатоксин.

4. Зміни концентрації протидифтерійних та противрацевих антитіл сироватки крові щурів у динаміці процесу формування імунно відповіді на тлі гіпертиреодного стану організму можна контролювати за допомогою означення емпіричних функцій регресії.

ЛІТЕРАТУРА

- Klecha A.J., Genaro A.M., Lysione K.A.M. et al. Experimental evidence pointing to the bidirectional interaction between the immune system and the thyroid axis // *Int. J. Immunopharmacol.* – 2000. – V. 22. – P. 491-500.
- Chandel A.S., Chatterjee S. Immunomodulatory role of thyroid hormones: effect on humoral immune response to *Salmonella typhi* anti-gen // *Indian J. Exp. Biol.* – 1989. – V. 27. – P. 1013-1016.
- Wall J.R., Twohog P., Chartier B. Effect of experimental hyper- and hypothyroidism on number of blood mononuclear cells and immune function in rats and guinea-pigs // *J. Endocrinol.* – 1981. – V. 91. – P. 61-67.
- Hassman R., Weetman A.P., Gunn C. et al. The effect of hyperthyroidism on experimental autoimmune thyroiditis in the rats // *Endocrinology.* – 1985. – V. 116. – P. 1253-1258.
- Duarte C.G., Azzolini A.E., Assis-Pondochi A.I. Effect of the period of treatment with a single dose of propylthiouracil on the antibody response in rats // *Int. Immunopharmacol.* – 2003. – N 3. – P. 1419-1427.
- Williamson R.A., Davison T.F., Payne L.N. Effects of thyroid hormones on humoral and cell-mediated immune responses in domestic fowl (*Gallus domesticus*) // *Dev. Comp. Immunol.* – 1990. – V. 14. – P. 305-308.
- Волянський А.Ю., Симиренко Л.Л., Палій І.Г., Кучма І.Ю., Никитченко Ю.В. Вікові особливості тиреоидного статусу щурів за умов імунізації АДП-анатоксином // *Biomedical and Biosocial Anthropology.* – 2006. – № 7. – P. 159-164.
- Волянський А.Ю., Симиренко Л.Л., Кучма І.Ю., Никитченко Ю.В. та ін. Моделювання процесу специфічного антитілогенезу за умов імунізації щурів АДП-анатоксином // *Інфекційні хвороби.* – 2006. – № 4. – С. 62-66.
- Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // *Ланимало-гия.* – 1993. – № 1. – С. 29-30.
- Патент № 59798 А, UA, МПК G01N33/48, A61K31/00. Спосіб визначення резервів імунізації / Бабкін М.В., Стегній Б.Т., Симиренко Л.Л., Стеценко В.І., Кучерявенко Р.О. // *З. № 20021210247; Заявл. 18.12.2002; Опубл. 15.09.2003.*
- Волянський А.Ю., Симиренко Л.Л., Кучма І.Ю., Никитченко Ю.В., Давиденко М.Б., Мізін В.В. Вплив дифтерійного та АДП-анатоксином на антитілогенез щурів різного віку // *Аналі Мечни-ківського інституту.* – 2007. – № 3. – Web: <http://hniimi.da.ru.-Journal>.