УДК 61:612.017:615.371

Волянський А.Ю., Кучма І.Ю., Симиренко Л.Л., Нікітченко Ю.В., Цейтлін Н.А.

АНТИТІЛОГЕНЕЗ ЗА УМОВ ІМУНІЗАЦІ ЩУРІВ НА ТЛІ ГІПОТИРЕО ДНОГО СТАНУ ОРГАНІЗМУ

ДУ «Інститут мікробіологі та імунологі ім. І.І. Мечникова АМНУ», Харків

АНТИТІЛОГЕНЕЗ ЗА УМОВ ІМУНІЗАЦІ ЩУРІВ НА ТЛІ ГІПОТИРЕО ДНОГО СТАНУ ОРГАНІЗМУ – Досліджено процес формування специфічно імунно відповіді на АДП-анатоксин у 3-місячних самців щурів ліні Wistar на тлі гіпотирео дного стану організму під впливом 1-метил-2-меркаптоімідазолу. Гіпотирео дний стан щурів, що контролювали за допомогою фізіологічних та гормональних показників, чинив негативний вплив на активність синтезу специфічних антитоксинів у процесі формування імунно відповіді. Зміни сироватково концентраці протидифтерійних і протиправцевих антитіл у динаміці імунно відповіді на тлі гіпотирео дного стану організму описано за допомогою емпіричних функцій регресі .

АНТИТЕЛОГЕНЕЗ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ КРЫС НА ФОНЕ ГИПОТИРЕОИДНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА – Исследовали процесс формирования специфического иммунного ответа на АДС-анатоксин у 3-месячных самцов крыс линии Wistar на фоне гипотиреоидного состояния организма, вызванного влиянием 1-метил-2-меркап-тоимидазола. Гипотиреоидное состояние крыс, которое контролировали с помощью физиологических и гормональных показателей, оказывало отрицательное влияние на активность синтеза специфических антитоксинов в процессе формирования иммунного ответа. Изменения сывороточной концентрации противодифтерийных и противостолбнячных антител в динамике иммунного ответа на фоне гипотиреоидного состояния организма описаны с помощью эмпирических функций регрессии.

ANTIBODY GENESIS AT RATS IMMUNIZATION UNDER HYPOTHYROID STATE – The process of specific immune answer forming under ADT-anatoxin immunization at 3-months male Wistar rats against a background of organism hypothyroid state induced by 1-methyl-2-mercaptoimidazol was investigated. The rat's hypothyroid state controlled by physiologic and humoral markers negatively influenced on specific antitoxins synthesis activity in dynamics of the immune answer. The changes of antidiphtherial and antitetanic antibodies concentration in rat blood serum in dynamics of immune answer formation against a background of organism hypothyroid state was described by empirical function of regression.

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

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

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

ВСТУП Захворювання щитоподібно залози є однією з провідних хвороб ендокринно системи, що має наслідком первинну інвалідізацію дорослого населення Укра ни [1, 2]. Найбільш розповсюдженим є дифузний нетоксичний зоб, що виявляється в період гормонально перебудови і підвищено потреби в тирео дних гормонах, наприклад, у пубертатний період, у період вагітності і годування груддю [3-5]. В епідеміологі ендемічного зобу йодна теорія займає провідне місце. У більшості регіонів Укра ни спостерігається дефіцит йоду в ґрунті, воді, продуктах харчування [6, 7]. Встановлено, що у дітей, які проживають в Харківській, Дніпропетровській, Донецькій областях та Автономній Республіці Крим спостерігається недостатнє надходження йоду в організм. Вказані області можуть бути оцінені як місцевості з наявністю слабкого та помірного ступеня йодно недостатності [8]. Виявлено значні зміни у системі імунітету за умов гіпотирео дного стану організму. Показано, що гіпотирео дний стан робить негативний біологічний вплив на здатність організму в цілому генерувати сильну імунну реакцію. Гіпотиреоз у людей, експериментально викликаний гіпотиреоз або тирео дектомія в експериментальних тварин зменшують тимусну активність, що повністю відновлюється при лікуванні тирео дними гормонами [9]. Гіпотирео дні експериментальні умови приводять до інволюці селезінки й лімфатичних вузлів, а також до пригнічення гуморальних і клітинних імунних реакцій [10-12]. Описано супресію клітинного імунітету при важкому гіпотиреозі у людини з поліпшенням функцій лімфоцитів під час поступового повернення до еутирео дного стану [13].

Згідно з Національним календарем щеплень вакцинація проти дифтері та правця має охоплювати не тільки групи ризику (молодого та старшого віку), а також доросле населення, і відбуватися кожних 10 років. Функціональні порушення в щитоподібній залозі внаслідок розвитку гіпотирео дного стану організму відбиваються на ефективності щеплень населення. Дослідження ефекту порушення функціонально активності щитоподібно залози на імунну відповідь в експерименті на тваринах може надати важливу інформацію для подальшого використання при розробці способів підвищення ефективності імунізаці .

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експеримент проводили на чотирьох групах 3-місячних самців щурів ліні Wistar. Щурам першо групи (контрольна група, 7 особин) вводили фізіологічний розчин внутрішньочеревно один раз на добу в об'ємі 0,25 мл на 100 г маси тіла. У щурів друго та третьо груп (по 15 особин в кожній) викликали гіпотирео дний стан довготривалим (протягом всього експерименту) введенням внутрішньочеревно 1 раз на добу 1-метил-2-меркаптоімідазолу (ММІ) в дозі 1,0 мг на 100 г маси тіла. Тварини друго групи були групою контролю гіпотирео дного стану організму протягом експерименту. Щурів третьо групи на десяту добу після первинного введення ММІ та щурів четверто групи, що знаходилися в еутирео дному стані (15 особин), імунізували АДП-анатоксином. Вакцину вводили підшкірно одноразово в дозі 15 ЛФ дифтерійного й 5 ОЗ правцевого анатоксинів в 0,25 мл препарату. Цю дозу, як мінімально ефективну, було визначено при розробці моделі імунно відповіді на АДП-анатоксин [14]. Щурів виводили з досліду шляхом декапітаці під легким ефірним наркозом на 13-ту добу після введення фізіологічного розчину (перша група) та через 3, 7, 14, 21 й 28 діб після імунізаці (2–4 групи). Одержували сироватку крові й зберігали у холоді до використання у досліді. При проведенні досліджень дотримувалися рекомендацій Європейсько конвенці з питань етики захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей (Страсбург, 1986 р.) [15].

Антитіла (АТ) до дифтерійного та правцевого анатоксинів АДП-вакцини визначали у сироватці крові в реакці пасивно гемаглютинаці за допомогою стандартного комерційного "Діагностикуму еритроцитарного дифтерійного антигенного рідкого" (з активністю 1:3200) та "Діагностикуму еритроцитарного правцевого антигенного рідкого" (з активністю 1:1280, 1:2800), виготовлених АОВТ "Біомед" ім. І.І. Мечникова. Концентрацію тироксину та трийодотироніну визначали радіоімунологічним методом з використанням стандартних наборів реактивів "Total T4 RIA", "Total T3 RIA" виробництва IMMUNOTECH (Чеська республіка) та установки для радіоімунохімічних досліджень "Наркотест". Контроль гіпотирео дного стану організму здійснювали шляхом визначення деяких фізіологічних показників до імунізаці та сироватково концентраці тирео дних гормонів протягом експерименту. Статистичну обробку результатів дослідження виконували на ПК за допомогою пакету прикладних програм "Excel" та "Statistika V. 6".

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ Введення щурам ММІ протягом 10 діб приводило до зменшення маси тіла щурів на 15,5 % ($P \leq 0,05$) та маси серця

на 23,5 % (Р ≤ 0,05). Масовий коефіцієнт серця знижувався на 9,2 % (Р ≤ 0,05), а ректальна температура тіла на 0,9 градуса (табл. 1). Формування імунно відповіді до АДП-анатоксину під впливом введення 1-метил-2-меркаптоімідазолу відбувалося на тлі знижено сироватково концентраці тироксину у середньому на 30,7 % (від (66,95 ± 1,55) нмоль/л в еутирео дних тварин до (20,53± 1,38) нмоль/л у гіпотирео дних) та трийодотироніну у середньому на 64 % (від (1,61 ± 0,08) нмоль/л у тварин контрольно групи до (1,03±0,25) нмоль/л у гіпотирео дних). Визначені зміни фізіологічних та гормональних показників вказують на адекватність тривалості й дози використаного впливу 1-метил-2-меркаптоімідазолу для створення гіпотирео дного стану організму щурів і оцінки його ефектів на імунітет.

Таблиця 1. Деякі показники фізіологічного стану щурів за умов введення 1-метил-2-меркаптоімідазолу протягом 10 діб (M ± m)

Показник	Еутирео дні щури	Гіпотирео дні щури
Маса тіла, г (а)	233 ± 50	197 ± 10*
Маса серця, г (в)	0,763 ± 0,018	0,584 ± 0,036*
Масовий коефіцієнт серця, в/а х 10^3	3,27 ± 0,03	2,97 ± 0,09*
Ректальна температура, СЪ	37,2 ± 0,3	36,3 ± 0,2

Примітка: * - Р ≤ 0,05; де Р – рівень значущості t-критерію Стьюдента для різниці середніх рівнів між групами щурів.

Визначено суттєві особливості гуморально імунно відповіді на щеплення за умов гіпотирео дного стану організму (табл. 2). У тварин під впливом ММІ активність синтезу дифтерійних та правцевих антитоксинів була значно знижена відносно рівня в еутирео дних тварин. Протидифтерійні антитіла з'являлися у сироватці крові на 14-ту добу після імунізаці АДП-анатоксином, підвищувалися на 21-шу добу на 0,112 МО/мл (Р ≤ 0,01) і залишалася на досягнутому рівні до 28- доби. Сироватковий рівень дифтерійних антитоксинів у гіпотирео дних тварин на 21-шу добу після щеплення був у 8 разів (Р ≤ 0,01) нижчим за рівень в еутирео дних щурів. На 28-му добу сироваткова концентрація протидифтерійних антитіл була практично однаковою у щеплених тварин обох груп.

Таблиця 2. Концентрація специфічних антитіл сироватки крові щурів за умов імунізаці АДП-анатоксином на тлі введення 1-метил-2-меркаптоімідазолу (M ± m, МО/мл)

Термін після імунізаці , t доба	Протидифтерійні АТ		Протиправцеві АТ	
	Еутирео дні щури	Гіпотирео дні щури	Еутирео дні щури	Гіпотирео дні щури
14	0,007 ± 0,001	0,013 ± 0,009	0,150 ± 0,001	0
21	1,000 ± 0,01	0,125 ± 0,00**	1,000 ± 0,01	0,225 ± 0,052*
28	0,125 ± 0,001	0,123 ± 0,002	2,000 ± 0,012	0,123 ± 0,032**

Примітки: * – Р < 0,05; ** – Р < 0,01; Р – рівень значущості t-критерію Стьюдента для різниці середніх рівнів між групами еутирео дних та гіпотирео дних щурів.

Протиправцеві антитіла у гіпотирео дних щурів визначалися у кровотоці з 21- доби після імунізаці на рівні у 4 рази (Р ≤ 0,01) нижчому від визначеного в еутирео дних щурів. На 28-му добу сироваткова концентрація протиправцевих антитіл знижувалася на 45,34 % відносно рівня на 21-шу добу і складала тільки 6,2 % (Р ≤ 0,01) від рівня в еутирео дних тварин.

Зміни специфічно імунно відповіді за умов щеплення АДП-анатоксином на тлі гіпотирео дного стану організму описано емпіричними функціями регресі (ЕФР) за допомогою методу лінійного регресійного аналізу. Оскільки зміни сироватково концентраці протидифтерійних (АТД) та протиправцевих антитіл (АТП) в період від 14- до 28-доби після щеплення АДП-анатоксином мали коливальний характер (табл. 2). Рівнів варіювання факторів, що розглядали, для дози препарату (А) було два (контрольна та дослідна групи), фактора t (термін після імунізаці) – шість (до імунізаці , через 3, 7, 14, 21 та 28 діб після щеплення). Тому шукані залежності можна приблизно апроксимувати поліномом відносно А - першого ступеня й відносно t - п'ятого ступеня з парними взаємодіями:

$$Y = b_0 + b_1t + b_2t^2 + b_3t^3 + b_4t^4 + b_5t^5 + (b_6 + b_7t + b_8t^2 + b_9t^3 + b_{10}t^4 + b_{11}t^5)A, \quad (1)$$

де Y – відгук (логарифм концентраці одного з антитіл); b_1 – 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 добавлено для випадку, коли АТД = 0, та АТП= = 0, щоб Lg(АТД) та Lg(АТП) при цьому не дорівнювали мінус нескінченності (наприклад, при АТД = 0 отримаємо Lg(АТД + 0,1) = = Lg(0,1) = - 1).

Обробка даних методом лінійного регресійного аналізу з виключенням недостовірних коефіцієнтів регресі дозволила одержати наступні ЕФР:

$$Lg(АТД + 0,1) = -2,02 + 0,00747t^2 + 1,16A + 0,000001t^4 - 0,0883t \quad (2)$$

$R^2 = 0,74$ %; $S_{lg(АТД+0,1)} = 0,18$,

$$Lg(АТП + 0,1) = -2,05 + 0,00869t^2 - 0,00001A - 0,0735t^4 - 0,0578t \quad (3)$$

$R^2 = 0,92$ %; $S_{lg(АТП+0,1)} = 0,14$,

де R^2 – коефіцієнт детермінаці ; S_Y – середньоквадратичне відхилення відгуку.

Всі коефіцієнти регресі високо вірогідні (Р < 0,001); якість отриманих ЕФР характеризується великими значеннями коефіцієнтів детермінаці R^2. Як видно з ЕФР (2) і (3), 74 % (Р ≤ 0,001) змін сироватково кількості протидифтерійних антитіл та 92 % (Р ≤ 0,001) протиправцевих пов'язано з терміном після імунізаці . Зміни сироваткового рівня специфічних антитіл за умов імунізаці на тлі гіпотирео д-

ного стану щурів (рівняння (2), (3)) визначено в межах 14 < t < 28 діб (табл. 2) і означуються параболами четвертого порядку. Отримані в результаті обробки спостережуваних даних поліноми (2) і (3) набувають властивості інтерполюючих функцій, що дозволяє кількісно визначити середнє значення сироватково концентраці протидифтерійних та протиправцевих антитіл гіпотиреодних щурів протягом формування імунно відповіді на АДП-анатоксин у будь-який період (від 14- до 28- доби) після щеплення. Отримані регресійні функці доцільно використовувати як емпіричні математичні моделі для розрахунку рівня специфічних антитіл у щурів в експерименті при розробці методів медикаментозно корекці вакцинального процесу на тлі гіпотиреодного стану організму.

ВИСНОВКИ 1. Введення щурам ліні Wistar 1-метил-2-меркаптоімідазолу протягом експерименту в дозі 1 мг на 100 г маси тіла супроводжується зниженням сироватково концентраці тироксину та трийодотироніну, зменшенням маси тіла, маси серця та масового коефіцієнта серця, ректально температури тіла, що відповідає створенню гіпотиреодного стану організму.

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

3. Зміни концентраці протидифтерійних та протиправцевих антитіл сироватки крові щурів у динаміці процесу формування імунно відповіді на тлі гіпотиреодного стану організму можна контролювати за допомогою розроблених емпіричних функцій регресі .

ЛІТЕРАТУРА

1. Іпатов А.В. Інвалідність внаслідок хвороб ендокринно системи: стан, тенденці та медико-соціальні проблеми // Ендокринологія. –2003. – № 2. – С. 150–157.

2. Тронько М.Д. Скринінгове обстеження – вірогідний метод оцінки впливу Чорнобильсько катастрофи на стан щитовидно залози у дітей та підлітків Украни // Ендокринологія. – 2006. – Т. 11, № 1. – С. 80–92.

3. Левченко И.А., Фадеев В.В. Субклинический гипотиреоз // Пробл. эндокринол. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 13–22.

4. Шелестова Л.П. Субклінічний гіпотиреоз у юних вагітних жінок // Ендокринологія. – 2004. – Т. 9, № 1. – С. 53–59.

5. Кравченко В.І., Миронюк Н.І., Турчин В.І. та ін. Динаміка йодного статусу в північних областях Украни, що були забруднені внаслідок Чорнобильсько аварі // Ендокринологія. – 2006. – Т. 11, № 1. – С. 124–133.

6. Тронько М.Д., Кравченко В.І., Бертолліні Р. та ін. Йодне забезпечення та ендемія зоба у дітей північного регіону Украни // Журн. АМН Украни. – 2003. – Т. 9, № 1. – С. 52–61.

7. Паньків В.І. Поширеність патологі щитоподібно залози в йододефіцитних районах Західно Украни // Ендокринологія. – 2006. – Т. 11, № 1, С. 134–137.

8. Лузанчук І.А., Кравченко В.І., Турчин В.І. Ендемія зоба серед дітей Харківсько , Дніпропетровсько , Донецько областей та Автономно Республіки Крим // Ендокринологія. – 2004. – Т. 9, № 1. – С. 46–52.

9. Fabris N. et al. Pituitary-thyroid axis and immune system: a reciprocal neuroendocrine-immune interaction // Hormone Research. – 1995. – V. 43. – P. 29–38.

10. Chatterjee S., Chandel A.S. Immunomodulatory role of thyroid hormones: in vivo effect of thyroid hormones on the blastogenic response to lymphoid tissue //Acta Endocrinologica. –1983. – V. **103.** – **P.** 95–100.

11. Ohashi H., Itoh M. Effects of thyroid hormones on lymphocyte phenotypes in rats: changes in lymphocyte subsets related to thyroid function // Endocrine Regulations. – 1994. – V. 28. – P. 117–123.

12. Klecha A.J., Genaro A.M., Lysione K.A. 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.

13. Schoenfeld P.S., Myers J.W., Myers L., LaRocque J.C. Suppression of cell-mediated immunity in hypothyroidism // Southern Med. J. – 1995. – V. 88. – P. 347–349.

14. Моделювання процесу специфічного антитілогенезу за умов імунізаці щурів АДП-анатоксином / А.Ю. Волянський, Л.Л. Симиренко, І.Ю. Кучма та ін. // Інфекційні хвороби. – 2006. – № 4. – С. 62–66.

15. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Ланималогия. – 1993. – № 1. – С. 29–30.

УДК 591.147.1«46»

Фоміна К.А., Ющак М.В.

МІКРОАНАТОМІЯ ЩИТОПОДІБНО ЗАЛОЗИ БІЛИХ ЩУРІВ У ВІКОВОМУ АСПЕКТІ

Луганський державний медичний університет

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

МІКРОАНАТОМІЯ ЩИТОПОДІБНО ЗАЛОЗИ БІЛИХ ЩУРІВ У ВІКОВОМУ АСПЕКТІ – Вивчали щитоподібну залозу щурів у різні вікові періоди (статевонезрілі, статевозрілі та старі) на мікроскопічному рівні організаці . Узагальнено інформацію щодо особливостей будови щитоподібно залози. Встановлено, що виразність змін залежить від віку тварин.

МИКРОАНАТОМИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ – Изучали щитовидную железу крыс в разные возрастные периоды (половонезрелые, половозрелые и старые) на микроскопическом уровне организации. Обобщено информацию о особенностях строения щитовидной железы. Установлено, что выраженость изменений зависит от возвраста животных.

MICROANATOMY THYROID GLAND WHITE RAT'S FROM ASPECTS AGE – Studied thyroid gland white rat's in different age groups (immature, mature and old) on microscopic levels structure. We summarise and revise information about peculiarities thyroid gland structure. It was revealed that a manifestation changes depends upon age animals.

Ключові слова: щитоподібна залоза, білі щури, вікові зміни.

Ключевые слова: щитовидная железа, белые крысы, возрастные изменения.

Key words: thyroid gland, white rat's, age changes.

ВСТУП Ендокринна система виконує важливу роль в координаці і регуляці діяльності різних органів і систем людського організму. На даний час в сучасній літературі з'являється чимало відомостей про структурні і функціональні перебудови як центральних, так і периферичних ланок ендокринно системи в умовах ді різних ендогенних і екзогенних чинників [1-3]. Для адекватно оцінки морфофункціональних змін в органах ендокринно системи білих щурів в умовах ді на організм летючих компонентів епоксидних смол проведено ряд експериментальних досліджень із вивчення морфогенезу гіпофіза, щитоподібно залози і надниркових залоз інтактних щурів в різні вікові періоди.

Мета дослідження – вивчення в експерименті на білих лабораторних щурах різного віку особливостей мікроанатомі щитоподібно залози (ЩЗ).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експериментальне дослідження проведено на 90 білих лабораторних щурах-самцях, одержаних з віварію ЛугДМУ. Впродовж всього дослідження тварин утримували на типовому раціоні в стандартних умовах віварію, не більше 6 особин в одній клітці. Щоденний нагляд за поведінкою і загальним станом щурів яких-небудь відхилень не виявив. Забій проводили під ефірним наркозом шляхом декапітаці . ЩЗ виділяли разом з трахеогортанним комплексом, препарували і фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну. Гістологічну оброб-