

ВПЛИВ ІМУНОТРОПНОГО ПРЕПАРАТУ НА АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВИХ РЕЦЕПТОРІВ Т-ЛІМФОЦИТІВ

Брошков М. М., к.вет.н., e-mail: dolinet@gmail.com
Одеський державний аграрний університет, м. Одеса

Анотація. У статті представлено динаміку змін абсолютної кількості лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій, фагоцитарної активності нейтрофілів та індивідуальної чутливості організму до імунотропних засобів за введення препарату Фоспреніл. Встановлено, що після курсу застосування імунотропного препарату відбувається зниження індивідуальної чутливості до цього препарату, а саме зниження активності поверхневих рецепторів на Т-лімфоцитах. Разом з тим у тварин яким використовували препарат відмічається підвищення абсолютної кількості лейкоцитів, проте в контрольній групі навпаки відмічено зниження цього показника. Встановлені зміни абсолютної кількості лімфоцитів та їх субпопуляцій в дослідній і контрольній групі, відмічено більш виражене збільшення абсолютної кількості лімфоцитів в дослідній групі. При цьому зміни показників субпопуляцій лімфоцитів мають особливості, які виражаються в тому, що в дослідній групі після курсу імунотропного препарату абсолютна кількість Т-хелперних знижується а Т-супресорні клітини навпаки збільшуються, проте в контрольній групі зі збільшенням Т-хелперних клітин відбувається і збільшення Т-супресорних клітин. Оцінка показників гуморального імунітету показала достовірне збільшення субпопуляції В лімфоцитів вдвічі у тварин дослідної групи, що забезпечило більш помірне зниження білкової фракції γ -глобулінів.

Ключові слова: лейкоцити, Т-лімфоцити, В-лімфоцити, фагоцитарна активність нейтрофілів, γ глобуліни, альбуміни, імунорегуляторний індекс.

Актуальність проблеми. Останні десятиріччя позначилися відкриттям більшості образів розпізнавальних рецепторів (pattern recognition receptor, PRR) клітин та інтенсивним їх вивченням. Усі PRR специфічно з'єднуються з різними молекулярними структурами мікроорганізмів, включаючи бактерії, віруси, гриби, одноклітинні найпростіші. PRR специфічно реагують на ряд речовин рослинного походження і складні синтетичні молекули. Вони також специфічно реагують на ряд речовин власного організму, концентрація яких підвищується переважно при стесогенному впливі [4, 5]. Для імунокомпетентних клітин система PRR виражає специфічність реакції вродженого імунітету і специфічно направляє розвиток адаптивної імунної відповіді, визначаючи його тип і інтенсивність [3, 7].

За умов коли для організму необхідним є проведення імунокорекції обов'язковим є визначення чутливості імунокомпетентних клітин цього організму до імунотропного засобу який планується використовувати. Оскільки відсутність поверхневих мембранних (Т-лімфоцитарних) рецепторів на імунокомпетентних клітинах, саме за їх активацією може відбутися адекватна імунна відповідь, знизить ефект від введення в організм імуностимулятора [1, 2, 6].

В попередніх дослідженнях нами було встановлено, що існує індивідуальна чутливість організму собак до різних імунотропних препаратів. В середньому на різні засоби імунокорекції біля 25 % собак мають низьку індивідуальну чутливість, 70% - високу чутливість а 5% - надмірну чутливість (введення тварині препарату, до якого у неї надмірна індивідуальна чутливість, як правило провокує розвиток анафілактичного шоку) [8].

В доступних літературних джерелах відсутні дані щодо впливу введення рекомендованих доз імунотропних препаратів під час їх застосування на зміну індивідуальної чутливості організму а саме активність поверхневих рецепторів Т-лімфоцитів. Тому вважаємо доцільним проведення експериментальних досліджень які дозволять визначити зміну індивідуальної чутливості організму собак до імунотропних препаратів під час їх застосування.

Метою досліджень було встановлення зміни індивідуальної чутливості до імунотропного препарату при його введенні.

Матеріал та методи дослідження. Дослід був проведений на вісьмох безпородних цуценятах 4-х місячного віку які народжені від однієї суки. Тварини розділені на дві групи (контрольна та дослідна) по 4 голови в кожній. У тварин вранці на тещерце відбирали периферичну кров і після стабілізації визначали показники клітинного імунітету (абсолютну та

відносну кількість лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій, фагоцитарну активність нейтрофілів а також індивідуальна чутливість Т-лімфоцитів до імуноотропних препаратів та гуморального (загальний білок та його фракції). При визначення чутливості Т-лімфоцитів дослідних тварин до імуноотропних препаратів було встановлено, що оптимальнішою вона є до препарату «Фоспреніл»- є продуктом фосфорилування поліпептидів хвої. Тваринам дослідної групи цей препарат був призначений у вигляді внутрішньом'язових ін'єкцій в дозі рекомендованої виробником протягом 5 днів. Цуценятам контрольної групи вводили фізіологічний розчин. Після закінчення курсу введення препарату у тварин вдруге відбирали кров і визначали вищевказані показники клітинного та гуморального імунітету. Абсолютний та відносний вміст лімфоцитів та їх субпопуляції визначали в реакції розеткоутворення з еритроцитами барана (Е тф. р.-РУЛ, Етф.ч-РУЛ). Індивідуальну чутливість до імуноотропних препаратів визначали за відсотком інверсії «активних» Т-лімфоцитів в дослідних пробах (з додаванням препарату), вище 10% по відношенню до контрольних проб (з додаванням фізіологічного розчину) оцінювалась як ступінь чутливості висока. Суть даної реакції полягає в тому, що під час попередньої інкубації лейкоцитарно-лімфоцитарної суміші клітин з препаратами частина активних рецепторів на поверхні імунокомпетентних клітин з'єднуються з цим препаратом, що веде до зменшення «активних» розеткоутворюючих клітин. Фагоцитарну активність нейтрофілів визначали використовуючи суспензію клітин пекарських дріжджів. В лунку імунологічної планшети заливаємо 0,05 мл. Суспензію лейкоцитів, потім додаємо 0,06 мл. 0,1 % суспензії пекарських дріжджів вбитих нагріванням. Після інкубації 30 хв. при 37 С в приготування мазків проводимо підрахунок фагоцитуючих клітин. За фагоцитуючу вважали клітину – нейтрофіл який захопив одну і більшу кількість дріжджових клітин.

Фракції білків визначали спектрофотометричним способом за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора LabLine 020 (Австрія) з використанням готових реагентів для визначення білкових фракцій.

Результати дослідження. На першому етапі досліджень визначили основні показники імунограм дослідних і контрольних тварин а також ступінь індивідуальної чутливості до імуноотропних препаратів.

При визначенні основних імунофізіологічних показників клітинного імунітету встановлено, що абсолютна кількість лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій а також фагоцитарна активність нейтрофілів знаходиться у фізіологічних межах. Окрім зниженої абсолютної кількості натуральних кілерів (широкоплазмених лімфоцитів) у тварин контрольної групи. Після визначення індивідуальної чутливості до імуноотропних препаратів (за відсотком інверсії Т-активних лімфоцитів) встановлено, що оптимальною (% інверсії більше 10) вона до препарату «Фоспреніл».

Наступним етапом наших досліджень було співставлення стану імунореактивності організму в дослідній і контрольній групі після п'ятиденного курсу Фоспренілу, а також встановлення змін в індивідуальній чутливості організму до препарату (таблиця1) .

При вивченні показників клітинного імунітету у тварин за введення препарату встановлено підвищення абсолютної кількості лейкоцитів, проте в контрольній групі навпаки відмічено зниження цього показника. Аналізуючи зміни абсолютної кількості лімфоцитів та їх субпопуляцій в дослідній і контрольній групі відмічено більш виражене збільшення абсолютної кількості лімфоцитів в дослідній групі.

При цьому зміни показників субпопуляцій лімфоцитів мають особливості. Так в дослідній групі після курсу імуноотропного препарату абсолютна кількість Т-хелперних знижується а Т-супресорні клітини навпаки збільшуються, проте в контрольній групі зі збільшенням Т-хелперних клітин відбувається і збільшення Т-супресорних клітин. Абсолютна кількість фагоцитуючих клітин більш виражено збільшилась у тварин дослідної групи в порівнянні з контролем.

Таблиця 1.

Зміни показників абсолютної кількості імунокомпетентних клітин та активність поверхневих рецепторів Т-лімфоцитів за введення імуноотропного препарату (M±m)

Показники	Абсолютна кількість імунокомпетентних клітин			
	До введення препарату		Після введення препарату	
	Контрольна	Дослідна	Контрольна	Дослідна
Лейкоцити, $\cdot 10^9/l$	9,9±2,78	8,4±2,75	9,33±2,8	10,93±2,05
Лімфоцити, $\cdot 10^9/l$	2,39±0,98	2,64±1,57	2,53±1,07	3,13±0,23
Т-лімфоцити, кл/мкл	1742±663,90	2078±1607,3	1812±865,9	2094±190
Т-хелпері/індуктори,	1360±631,18	1614±324,0	1373±685,8	1573±238,4

кл\мкл				
Т-супресори\цитотоксичні, кл\мкл	382±38,74	463±93,0	439±262,4	521,0±53,1
В-лімфоцити, кл\мкл	304±181,5	229,6±51,5	309,3±109,9**	463,3±151,6
Імунорегуляторний індекс, Тх\Тс	3,43±1,36	3,23±0,83	3,67±1,59	3,07±0,8
НК-клітини, кл\мкл	85,3±54,0	142,6±112,76	120,3±28,6	210,6±62,5
Фагоцитоз нейтрофілів, кл\мкл	3593±721,3	2366±640,04	3771±124,0*	3935±944,8
Чутливість до препаратів,%	12,7±1,15	15,3±4,16	11,3±1,15	8,7±5,03

Примітка. У цій таблиці статистично вірогідні різниці між тваринами контрольних груп до та після введення: * — $p < 0,01$; ** — $p < 0,001$

При вивченні змін чутливості Т-лімфоцитів до імунотропного препарату до та після його введення відмічається значне зниження активності поверхневих рецепторів Т-лімфоцитів, що виражається у зменшенні відсотку інверсії.

Оцінка показників гуморального імунітету показала достовірне збільшення субпопуляції В-лімфоцитів вдвічі у тварин дослідної групи в той час як у тварин контрольної групи абсолютна кількість цих клітин лишилася майже незмінною.

Таблиця 2.

Зміни показників білкових фракцій за введення імунотропного препарату(M±m)

Показник	Контрольна	Дослідна	Контрольна	Дослідна
Альбуміни,%	51,34±10,72	57,34±7,11	52,7±12,93	54,87±9,37
α1 глобуліни,%	4,98±1,07	4,13±2,18	4,63±0,98	5,93±2,17
α2 глобуліни,%	7,71±4,12	8,39±3,04	8,19±3,86	7,94±2,93
β глобуліни,%	5,82±2,02	7,11±2,19*	5,73±1,84	4,98±1,14
γ глобуліни,%	27,34±3,35	19,81±1,47	11,93±4,12	*12,71±2,18

Примітка. У цій таблиці статистично вірогідні різниці між тваринами дослідних груп до та після введення: * — $p < 0,01$; ** — $p < 0,001$

До показників, що забезпечують гуморальну імунну відповідь також відносять γ-глобуліни. Оцінка показників величин білкових фракцій до та після введення препарату в дослідній та контрольній групі показала, що найбільш вираженим, в обох групах, є зниження фракції γ-глобулінів. При цьому в дослідній групі відбулося зниження в 1,6 рази в той час як в контрольній в 2,3 рази. Більш помірне зменшення γ-глобулінів в дослідній групі імовірно пов'язане з більш вираженим збільшенням абсолютної кількості субпопуляції В-лімфоцитів.

Таким чином, проведений зрівняльний аналіз імунограм при проведенні курсу введення імунотропного препарату до якого встановлена оптимальна індивідуальна чутливість організму собак показав, що під час застосування імунотропних засобів в рекомендованих дозах чутливість лімфоцитів до цих препаратів знижується. Динаміка цих змін має бути врахована при проведенні курсів імунокорекції при різноманітних клінічних станах в клініці дрібних хатніх тварин.

Висновки

1. Встановлено, що використання імунотропних препаратів, до яких відмічена оптимальна чутливість, сприяє підвищенню абсолютної кількості лейкоцитів, фагоцитарної активності нейтрофілів а також абсолютної кількості лімфоцитів переважно за рахунок Т-супресорних та В-лімфоцитів. При цьому активність поверхневих рецепторів Т-лімфоцитів знижується.

2. За використання імунотропного препарату відмічено більш помірне зменшення фракцій γ-глобулінів імовірно пов'язане з більш вираженим збільшенням абсолютної кількості субпопуляції В-лімфоцитів.

Перспектива подальших досліджень. Вивчення впливу малих доз імунотропних препаратів на імунореактивність організму собак з врахуванням індивідуальної чутливості до цих препаратів.

Література

1. Sokolov E.I. *Klinicheskaya immunologiya* [Clinical immunology].- М.: Medicine, 1998.- 272 р. (In Russian)

2. Fedorov Y.N., Verhovskiy O.A., Slugin I.V. *Osnovy immunologii i immunopatologii sobak* [Basics of immunology and immunopathology of dogs] –M.: Inform-12, 2000. – 248 p. (In Russian)
3. Маррак Ф. Т-клетка и ее рецепторы / Ф. Маррак, Дж. Каплер // В мире науки. — 1986. — № 4.
4. Козлов И.Г. Рецепторы контактного взаимодействия/ Козлов И.Г., Горлина Н.К., Чередеев А.Н. // Клеточная иммунология. - 1995. - С. 14-23.
5. Козлов И. Г. Лекарственное воздействие через рецепторы врожденного иммунитета / И. Г. Козлов // Пептек. — Москва, 2005. — С. 6—18.
6. Лебедев К. А. Дозированная иммунотерапия-принцип лечения хронических воспалительных процессов / К. А. Лебедев // Физиол. Человека. — 2005. — Т. 31, № 1. — С. 100-113.
7. Лебедев К. А. Иммунофизиология эпителиальных клеток и образраспознающие рецепторы / К. А. Лебедев, И. Д. Понякина // Физиол. Человека. — 2006. — Т. 12, № 2. — С. 224—233.
8. Брошков М. М. Оцінка впливу імуномодельючих препаратів на імунологічну реактивність організму собак / Брошков М.М., Смолянінов Б.В. // Біологія тварин. - 2012. – Т. 14, № 1-2.

ВЛИЯНИЕ ИММУНОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВНОСТЬ ПОВЕРХНОСТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Брошков М. М.

Одесский государственный аграрный университет, г. Одесса

e-mail: dolinavet@gmail.com

Аннотация. В статье представлена динамика изменений абсолютного количества лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций, фагоцитарной активности нейтрофилов и индивидуальной чувствительности организма к иммунотропным средствам при введении препарата Фоспренил. Установлено, что после курса применения иммунотропных препаратов происходит снижение индивидуальной чувствительности к препарату, а именно снижение активности поверхностных рецепторов на Т-лимфоцитах. Вместе с тем у животных которым использовали препарат отмечается повышение абсолютного количества лейкоцитов, однако в контрольной группе наоборот отмечено снижение этого показателя. Установлены изменения абсолютного количества лимфоцитов и их субпопуляций в опытной и контрольной группе, отмечено более выраженное увеличение абсолютного количества лимфоцитов в опытной группе. При этом изменения показателей субпопуляций лимфоцитов имеют особенности, которые выражаются в том, что в опытной группе после курса иммунотропных препаратов абсолютное количество Т-лимфоцитов снижается а Т-супрессорные клетки наоборот увеличиваются, однако в контрольной группе с увеличением Т-лимфоцитов происходит и увеличение Т-супрессорных клеток. Оценка показателей гуморального иммунитета показала достоверное увеличение субпопуляции В- лимфоцитов вдвое у животных опытной группы, что обеспечило более умеренное снижение белковой фракции γ - глобулинов.

Ключевые слова: лейкоциты, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, фагоцитарная активность нейтрофилов, γ глобулины, альбумины, иммунорегуляторный индекс.

INFLUENCE ON THE ACTIVITY OF IMMUNE PREPARATIONS TO SURFACE RECEPTOR OF T-LYMPHOCYTES

Broshkov M.M.

Odessa State Agrarian University, Odessa

Summary. The article presents the dynamics of absolute number of leukocytes, lymphocytes and their subpopulations, phagocytic activity of neutrophils and individual sensitivity of the organism to immunotropic means for the treatment of Fosprenil. It is established that, after application rate reduction occurs immunotropic preparations of individual sensitivity to the drug, namely the decrease in activity of surface receptors on T lymphocytes. However, animals which used the preparation marked increase in the absolute number of leukocytes, but in the control group this index decreased. Changes of the absolute number of lymphocytes and their subpopulations in the experimental and control group increase in the absolute number of lymphocytes in the experimental group. Thus changes in the indices of lymphocyte subpopulations have features that are expressed in the fact that in the test group after the course of immune preparations absolute number of T lymphocytes decreased and T-suppressor cells increased, however, the control group with the increase of T-lymphocytes occurs and increased T - suppressor cells. Evaluation of humoral immunity showed a significant increase in the subpopulation of B-lymphocytes doubled in the treated group, which provided a more moderate decrease in the protein fraction γ - globulin.

Key words: white blood cells, T-lymphocytes, B-lymphocytes, phagocytic activity of neutrophils, γ globulin, albumin, immunoregulatory index.