

УДК 57.084.1: 57.083.3

**ОЦЕНКА ПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ
ПРОБИОТИКА И ИММУНОТРОПНОГО
ПРЕПАРАТА НА МЕТАБОЛИЗМ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ
ВВЕДЕНИЯ КСЕНОБИОТИКА**

¹Звягинцева О.В., ¹Климова Е.М., ¹Лавинская Е.В.,
²Ленькевич А.С.

¹ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им.
В.Т. Зайцева НАМНУ»,

²НИИ биологии Харьковского национального
университета им. В. Н. Каразина,
Lavinskaya_5@mail.ru

В работе проведена оценка изменения метаболических функций у экспериментальных животных после введения ксенобиотика серноокислой меди, иммуностропного препарата «Фунгидол» и пробиотика. На фоне развития воспалительного процесса после токсического действия серноокислой меди выявлено увеличение концентрации церулоплазмينا и гаптоглобина, снижение индекса завершенности фагоцитоза. Показано, что иммуностропный препарат и пробиотик активизируют иммуностимулирующие процессы в организме животных, направленные на снижение негативного действия серноокислой меди.

Ключевые слова: ксенобиотик, иммуностропный препарат, пробиотики, иммунный ответ.

Введение

Изменения функционирования органов и систем организма на фоне усиления патофизиологических механизмов, вызванных, например, введением ксенобиотиков (серноокислая медь), может приводить как к необратимым последствиям для метаболизма, так и к новым адаптивным состояниям организма. Однако выраженность компенсаторно-адаптивных реакций зависит от многих генетических, возрастных, эндогенных факторов, в том числе от особенностей рецепторных реакций и молекулярного сигналинга факторов первичного и вторичного гуморального звена иммунитета [1]. Эти процессы чрезвычайно сложны и включают множество этапов, на каждом из которых возможно губительное действие токсических веществ. Известно, что ионы меди являются эссенциальным микроэлементом и входят в состав не менее 40 ферментов: при ее недостатке развивается ряд патологий, а при избыточном поступлении этот элемент проявляет ярко выраженную гепатотропную активность [2,3]. Однако при избыточном поступлении в организм медь становится токсичной. У человека и животных известно несколько врожденных патологий, связанных с нарушением процессов транспорта и выведения меди. Механизмы развития адаптивных процессов при действии солей меди и возрастные отличия таких адаптаций в значительной мере остаются неизвестными [4].

Различные патофизиологические состояния характеризуются как индивидуальным, так и

специфическим спектром метаболических нарушений, связанных с изменением ключевых метаболических процессов клеточных популяций, органов и систем. Метаболические нарушения в организме формируются из-за изменения клеточного сигналинга, а это, в свою очередь, влияет на генную экспрессию и пролиферативную активность различных клеточных популяций. Клетки, коммитированные факторами микроокружения организма на фоне изменения метаболических процессов после воздействия экзогенных факторов могут получить активацию направленной коммитации или пролиферации, а в некоторых случаях все фазы клеточного цикла могут быть максимально ингибированы [5]. В связи с этим представляет интерес изучение поведения клеток в культуре и оценка их пролиферативного потенциала, трансформации или ингибирования последовательной смены периодов клеточного цикла в ответ на действие митогена [6].

Оценка функционального состояния гемоклеток в культуре позволит определить их метаболические и пролиферативные резервы при различных патофизиологических воздействиях и их коррекции в организме [7].

Известно, что действие пробиотиков включает конкуренцию с патогенной и условно-патогенной микрофлорой; адгезия к слизистой оболочке кишечника и взаимодействие с эпителиоцитами; иммуномодулирующий эффект [8]. Эти механизмы способствуют повышению резистентности эпителия, усиливая его барьерные функции и защиту. Пробиотические штаммы лактобактерий (*LGG*, *L. acidophilus*), *Ent. faecium*, *Sir. thermophilus* воспринимаются TLR и стимулируют воспалительный ответ, усиливая выработку Th1 и IL-1, INF- α , стимулируют фагоцитарную активность нейтрофилов и выработку SIgA [9, 10].

Имуностропные препараты, представляющие собой продукты физиологического происхождения, микробного происхождения, синтетические препараты, витамины и антиоксидантные комплексы, растительные препараты, энтеросорбенты, иммуносупрессоры и комплексные ферментные препараты могут влиять на различные звенья иммунной системы и, следовательно, изменять силу, характер и направленность иммунных реакций [11,12].

При иммунном ответе происходит взаимодействие различных популяций клеток и образуемых ими продуктов. Специфические ферменты и другие белки участвуют в клеточном узнавании и взаимодействии клеток и играют важную роль в специфических процессах транспорта. Оценка первичного иммунного ответа включает гиперчувствительность замедленного типа к ряду микробных агентов. Для усиления иммунного ответа применяют иммуностропные препараты, большую группу которых составляют препараты микробного происхождения. Такие препараты обеспечивают иммунную защиту от микроорганизмов, раковых клеток, токсических факторов и других антигенных

веществ, способных привести к нарушению физиологических процессов в организме, путем стимуляции различных неспецифических защитных реакций. Активация макрофагов приводит в свою очередь к стимуляции Т-клеточного, а затем и В-клеточного звена иммунитета в связи с индукцией синтеза ИЛ-1 и последующего запуска интерлейкинового каскада. Широкое распространение в клинической практике получили лизаты бактерий рода *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Diplococcus* и др. Также имеется целый ряд других иммунокорректоров микробного происхождения. Однако, с одной стороны, возможные механизмы действия иммуностропных препаратов изучены недостаточно. С другой стороны увеличивается груз неблагоприятных факторов, в том числе воздействие солей тяжелых металлов [6,12].

Актуальным является изучение влияния иммуностропных препаратов на животных, у которых были сформированы длительные адаптивные реакции к действию солей тяжелых металлов. Как известно, достигая определенной концентрации в организме, тяжелые металлы вызывают нарушения физиологических, биохимических процессов, происходит потребление ионов металлов различными органами, что приводит к накоплению токсинов и продуктов жизнедеятельности клеток организма, т.е. самоотравление организма [6].

Цель работы – оценка протекторного действия пробиотика и иммуностропного препарата «Фунгидол» на метаболические и барьерные функции факторов резистентности после введения сернокислой меди экспериментальным животным.

Материалы и методы

Первая серия экспериментов проводили *in vivo* на 6-месячных крысах-самцах линии Вистар. Животные содержались на стандартном рационе вивария, кормление проводили через день. Экспериментальных животных разделили на группы следующим образом: 1 группа – контрольные животные, которым через 48 ч. внутрибрюшинно вводили физиологический раствор из расчета 0,24 мл раствора на 100 г массы тела (n = 5); 2 группа – животные, которым вводили физиологический раствор *per os* и через 48 ч раствор сернокислой меди внутрибрюшинно из расчета 0,24 мл раствора сернокислой меди на 100 г массы тела (n = 5); 3 группа – животные, которым вводили иммуностропный препарат «Фунгидол» *per os* (по 400 мкл) и через 48 ч раствор сернокислой меди внутрибрюшинно из расчета 0,24 мл раствора сернокислой меди на 100 г массы тела (n = 5); 4 группа – животные, которым вводили раствор пробиотиков *per os* (по 400 мкл) и через 48 ч раствор сернокислой меди внутрибрюшинно из расчета 0,24 мл раствора сернокислой меди на 100 г массы тела (n = 5). Раствор сернокислой меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) готовили на физиологическом растворе (0,95% NaCl) непосредственно перед введением. Инъекции раствора CuSO_4 делали в объеме 0,32 мг Cu^{2+} на 1 г

массы печени. Данная доза является токсичной, при которой ухудшается соматическое состояние животных (вялость, потливость, отсутствие активности, потеря веса), но без развития летальных исходов. Препарат «Фунгидол» (производство Украина, форма выпуска – жидкость темно-коричневого цвета для перорального применения) представляет собой гликопротеиновую олигопептидную композитную субстанцию естественного происхождения на базе экзометаболитов микроорганизмов и высших грибов, содержащую микроэлементы, витамины, аминокислоты, ферменты, олигопептиды, липопротеиды, нуклеиновые кислоты, олигонуклеотиды, гликопротеиды низкомолекулярные и высокомолекулярные углеводы. В качестве пробиотика использовали капсулы фирмы Yogurt (животным вводили пробиотик в концентрации $2 \cdot 10^8$ КОЕ/мл), содержащие активные *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*. Животных выводили из эксперимента на пятые сутки путем декапитации. Все экспериментальные манипуляции с лабораторными животными проводили в соответствии с нормами Европейской конвенции по биоэтике [13].

Объектом исследования были цельная кровь и сыворотка крови крыс. Для получения сыворотки кровь поддавалась коагуляции путем инкубации без перемешивания при комнатной температуре на протяжении 30 мин. Коагулянт осаждали путем центрифугирования при 1500g на протяжении 10 мин. После центрифугирования сыворотка отбиралась в пробирки с помощью пипетки Пастера.

Концентрацию гаптоглобина определяли спектрофотометрически за счет образования комплекса гемоглобин – гаптоглобин и осаждение данного комплекса риванолом. Концентрацию церулоплазмينا определяли на спектрофотометре СФ-46 при помощи ферментативной реакции окисления при добавлении п-фенилендиамина к образцам сыворотки крови животных [14].

Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов исследовали методом микроскопии по их способности поглощать нитросиний тетразолий (НСТ-тест) и восстанавливать его до диформаза в виде гранул синего цвета под влиянием супероксиданиона, который образуется в НАДФ-оксидазной реакции, инициирующей процесс стимуляции фагоцитоза (НСТ-тест). Степень антигенной активности неактивированных нейтрофилов рассчитывали путем вычисления процента положительных клеток, поглотивших краситель НСТ (НСТ СП); активность его внутриклеточных ферментных систем (степень активации) путем вычисления среднего цитохимического коэффициента (СЦК СП) по формуле Астальди-Верга. Согласно формуле $\text{СЦК} = (3 \times a + 2 \times b + 1 \times v) / 100$; где цифры в числителе указывают на интенсивность окраски (максимальная – 3, умеренная – 2, следы – 1), а буквы – на процентное содержание подсчитанных клеток с определенной

интенсивностью окраски; цифра 100 в знаменателе – общее количество подсчитанных клеток [15].

Для определения барьерной функции фагоцитирующих клеток методом световой микроскопии проводили оценку активности фагоцитоза нейтрофильных гранулоцитов с последующим определением фагоцитарного индекса (ФИ) – количество клеток участвующих в фагоцитозе, фагоцитарного числа (ФЧ) – среднее количество микробов, поглощенных одним нейтрофилом крови, и индекса завершенности фагоцитоза (ИЗФ) – переваривающая способность нейтрофилов. Нейтрофильные гранулоциты выделяли из лейкоцитарной суспензии периферической крови. В качестве микробного агента использовали взвесь культуры *Saccharomyces cerevisiae*. Окраску препаратов проводили по методу Романовского-Гимзе [16].

Лейкоциты периферической крови культивировали по методике Хангфорда в среде 199 с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки в отсутствие и в присутствии Т-клеточного митогена – фитогемагглютинаина (ФГА) в течение 72 часов при 37°C [17].

Статистический анализ результатов исследований проводили с использованием критерия Wilcoxon-Mann-Whitney ($p \leq 0,05$). Вычисляли среднее арифметическое значение (М), ошибку среднего арифметического значения (m) и представляли в виде (М ± m). Результаты экспериментальных исследований статистически

обрабатывали с использованием пакетов прикладных программ "Excel" и "SPSS Statistics 17.0".

Результаты и обсуждение

В первой серии экспериментов исследовали метаболические изменения в организме экспериментальных животных по изменению биохимических и иммунологических показателей. Для оценки развития возможного воспалительного процесса после введения ксенобиотика $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ определяли концентрацию острофазовых белков – церулоплазмину и гаптоглобину в сыворотке крови. Во всех исследуемых группах животных концентрация церулоплазмину и гаптоглобина была значительно выше контрольных значений. Максимальные значения данных показателей были выявлены в сыворотке животных после совместного введения ксенобиотика и препарата «Фунгидол» – в среднем 1,7 раза по сравнению с контролем и в 1,4 раза по сравнению с группой животных, которым вводили только ксенобиотик и с группой животных, которым вводили ксенобиотик и раствор пробиотика (табл. 1).

Известно, что церулоплазмин инактивирует супероксидные анионные радикалы, образующиеся при воспалении, и тем самым защищает биологические мембраны. А введение иммуностимулирующей субстанции, вероятно усиливает процессы, направленные на защиту биологических мембран от пагубного действия ксенобиотика.

Таблица 1. Содержание церулоплазмину и гаптоглобина в сыворотке крови экспериментальных животных

Показатели	1 группа Контроль	2 группа $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3 группа $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + «Фунгидол»	4 группа $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + Пробиотики
Церулоплазмин, мг/л	240,6±46,9	271,9±74,1	413,31±85,4*	295,18±67,8
Гаптоглобин, г/л	1,23±0,04	1,6±0,7	2,07±0,2*	1,8±0,6

Примечание: * - достоверность различия с контролем $P \leq 0,05$.

Гаптоглобин играет важную роль, как в поддержании резерва железа, так и в контроле местных воспалительных процессов, и являются мощными пероксидазами, которые гидролизуют пероксиды, освобождаясь в процессе действия фагоцитов. Также гаптоглобин модулирует активность и пролиферацию лейкоцитов в участке воспаления.

Т.е., усиление образования гаптоглобина и церулоплазмину при одновременном введении иммуностимулирующего препарата «Фунгидол» сразу приводило к активации процессов, запускающих барьерные функции организма и направленных на развитие иммунного ответа.

Ферментативная активность фагоцитирующих клеток указывала на избыточную спонтанную активацию ферментов гранулоцитов из-за напряженности иммунитета, развивающейся под действием серноокислой меди. Во всех исследуемых группах наблюдали увеличение спонтанного НСТ-теста в среднем в 2 раза по сравнению с контролем за счет активации НАДФ-оксидазной системы

фагоцитов. А в стимулированном (СТ) НСТ-тесте выявили низкие резервы активации ферментов недостаточную степень антигенной активности нейтрофилов после совместного действия серноокислой меди и препарата «Фунгидол» и пробиотика. Вероятно, введение зимозана не вызывало стимуляции фагоцитоза из-за предшествующего негативного влияния ксенобиотика. Введение только серноокислой меди приводило к незначительному повышению стимулированного НСТ-теста на 26% (табл. 2). Индекс стимуляции ИС при кислородзависимом механизме фагоцитоза был ниже контроля во всех группах экспериментальных животных, наименьшие средние значения ИС были после совместного введения серноокислой меди и препарата «Фунгидол». При исследовании фагоцитарной активности нейтрофилов у животных, которым *per os* вводили физиологический раствор и через 48 ч. серноокислую медь было выявлено незначительное повышение фагоцитарного индекса и незначительное снижение

фагоцитарного числа и индекса завершенности фагоцитоза по сравнению с контролем (табл. 3).

Таблица 2. Активность ферментов фагоцитирующих нейтрофилов после введения ксенобиотика, препарата «Фунгидол» и пробиотика

Показатели	1 группа Контроль	2 группа CuSO ₄ ·5H ₂ O	3 группа CuSO ₄ ·5H ₂ O + «Фунгидол»	4 группа CuSO ₄ ·5H ₂ O + Пробиотики
СП	6,33±0,8	15,0±3,3*	12,3±3,9*	10,7±2,1*
СТ	34,0±6,4	43,0±6,1	29,7±1,79	35,0±7,73
СЦК СП	0,14±0,02	0,26±0,05*	0,21±0,08	0,18±0,07
СЦК СТ	0,68±0,05	0,96±0,2	0,55±0,06	0,6±0,15
ИС	5,97±0,65	3,1±0,9*	2,83±0,7*	3,5±0,9*

Примечание: * - достоверность различия с контролем $P \leq 0,05$.

Таблица 3. Эффективность фагоцитирующих нейтрофилов после введения ксенобиотика, препарата «Фунгидол» и пробиотика

Показатели	1 группа Контроль	2 группа CuSO ₄ ·5H ₂ O	3 группа CuSO ₄ ·5H ₂ O + «Фунгидол»	4 группа CuSO ₄ ·5H ₂ O + Пробиотики
ФИ	61,7±12,5	67,7±11,3	59,3±15,3	63,33±45,2
ФЧ	3,11±2,2	3,02±0,4	2,36±0,3	3,1±2,2
ИЗФ	1,62±1,2	1,31±0,2*	1,17±0,8*	1,37±0,98*

Примечание: * - достоверность различия с контролем $P \leq 0,05$.

После совместного введения раствора сернокислой меди и препарата «Фунгидол» выявили максимальное снижение фагоцитарного индекса на 5%, фагоцитарного числа на 32% и индекса завершенности фагоцитоза на 38% по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении переваривающей способности нейтрофилов.

Совместное введение раствора сернокислой меди и пробиотиков приводило к незначительному увеличению фагоцитарного индекса на 3% и снижению индекса завершенности фагоцитоза на 15% относительно контроля. Т.е., введение ксенобиотика независимо от присутствия или отсутствия дальнейшей коррекции вызывало у животных

снижение активности антиинфекционных систем фагоцитов.

Во второй серии экспериментов проводили исследование пролиферативной активности в культуре гемоклеток экспериментальных животных *in vitro*. Максимальное усиление пролиферации иммунокомпетентных клеток выявили после совместного введения препарата «Фунгидол» и ксенобиотика – спонтанный показатель возрастал в 1,8 раза, а индуцированный – в 1,5 раза по сравнению с контролем (табл. 4). Вероятно, усиление пролиферации после действия меди происходит за счет активной элиминации дефектных клеток.

Таблица 4. Показатели уровня пролиферации лимфоцитов в культуре

Показатели	1 группа Контроль	2 группа CuSO ₄ ·5H ₂ O	3 группа CuSO ₄ ·5H ₂ O + «Фунгидол»	4 группа CuSO ₄ ·5H ₂ O + Пробиотики
РБТЛ спон, %	10,67±1,53	14,0±5,57	18,3±5,13*	11,67±2,31
РБТЛ индуц, %	23,33±1,38	27,0±1,0*	34,0±2,65*	28,67±4,04*

Примечание: * - достоверность различия с контролем $P \leq 0,05$.

Введение раствора сернокислой меди на фоне пробиотиков приводило к увеличению ФГА-индуцированной пролиферации в среднем в 1,2 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, введение сернокислой меди запускает в организме животных каскад реакций, направленных на нарушение гомеостаза. Происходит нарушение различных физиологических процессов – пищеварения, дыхания, дифференцировки клеток, водно-солевого обмена, метаболизма углеводов, белков, липидов, детоксикации экзогенных субстратов и метаболитов, продукции биологически активных соединений. Введение препарата

«Фунгидол» и пробиотиков в различной степени приводило к активации защитных механизмов под действием стрессового фактора, направленных на адаптацию и перевод организма в новое функциональное состояние.

Выводы

1. Выявили значительное возрастание концентрации гаптоглобина и церулоплазмينا при одновременном введении препарата «Фунгидол» и ксенобиотика, что свидетельствует об активации процессов, запускающих барьерные функции организма и направленных на развитие иммунного ответа.

2. Во всех исследуемых группах (введение ксенобиотика, препарата "Фунгидол", пробиотика) у экспериментальных животных выявили снижение индекса завершенности фагоцитоза, что указывает на недостаточность процесса эндоцитоза бактериальных антигенов и снижение индекса стимуляции за счет низкой активности НАДФ-оксидазной системы фагоцитов после действия ксенобиотика.
3. Введение ксенобиотика животным приводило к увеличению в 1,2 раза по сравнению с контролем (23,33±1,38)% количества трансформированных клеток на фоне митогенного индуктора пролиферации. Проллиферативная активность гемоклеток после совместного действия ксенобиотика и препарата «Фунгидол» в культуре клеток с митогеном ФГА была максимальной и превышала в 1,5 раза контроль (23,33±1,38)%. После введения сернокислой меди и пробиотика пролиферативная активность гемоклеток также была значительно выше спонтанной.
4. Введение препарата «Фунгидол» в большей степени, чем пробиотики активизируют защитные иммунные процессы, направленные на борьбу с негативным действием ксенобиотика.

References

1. Kolyada T. I. Adaptation syndrome and the immune system [Text] / T. I. Kolyada, Y. L. Volyansky, N. V. Vasiliev, V. I. Maltsev. - Kharkov.: Foundation, 1995. - 268 p.
2. O'Halloran T.V. Metallochaperones: An intracellular shuttle service for metal ions [Text] / O'Halloran T.V., Culotta V.C. // J. Biol. Chem. - 2000. - Vol. 275 (33) - P. 25057 - 25060.
3. Lecic-Tosevski D. Stress and personality [Text] / Lecic-Tosevski D., Vukovic O., Stepanovic J. // Psychiatrike. - 2011. - 22 (4). - P. 290-297.
4. Occurrence and characteristics of cytotoxic necrotizing factors, cytolethal distending toxins and other virulence factors in Escherichia coli from human blood and faecal samples / Kadhum H.J., Finlay D, Rowe M.T. et al. [Text] // Epidemiology And Infection. - 2008. - Vol. 136(6). - P. 752 - 760.
5. Baraulina A. S. Features of the reaction of blast transformation of lymphocytes in Ixodes tick-borne borreliosis [Text] / Baraulina A. S., Pronina N. A., Sviridov V. S. et. al. // In proc. «Science of human»: materials of the VIII Congress of young scientists and specialists under the editorship of L. M. Ogorodova, L. V. Kapilevich. - Tomsk: Siberian State Medical University. - 2007. - 273 p.
6. Drannik G. N. Clinical immunology and allergology: Handbook for students, doctors-interns, immunologists, allergists, doctors medical profile of all specialties [Text] - 4-e edit., Kiev: 2010. - 552 p.
7. Kartashova L. M. Structural and metabolic features of immunocompetent cells in infants with atopic asthma [Text] / L. M. Kartashova, A. A. Savchenko, A. R. Schmidt // Allergology. - N 4, 2003. - P. 28-33.
8. Cunningham-Rundles S. Probiotics and immune response [Text] / S. Cunningham-Rundles // Am. J. Gastroenterol. - 2000. - Vol. 95. - S. 1. - P. 22 - 25.
9. Fitzpatrick L.R. Effects of the probiotic formulation VSL3 on colitis in weanling rats [Text] / L. R. Fitzpatrick // J. Ped. Gastroenterol. Nutr. - 2007. - Vol. 44. - N5. - P. 561 - 570.
10. Biancone L. Cytoskeletal proteins and resident flora [Text] / L. Biancone // Dig. Liver Dis. - 2002. - Vol. 34. - S. 2. - P. 34 - 36.
11. Nesterova I. V. Immunotropic drugs and modern immunotherapy in clinical immunology and medicine [Text] / Nesterova I. V., Sepiashvili R. I. // Allergology and immunology. - 2000. - Vol. 1. - N 3. - P. 18-29.
12. Sepiashvili A. I. Immunotropic drugs: Classification, problems and prospects [Text] / A.I. Sepiashvili // Allergology and immunology. - 2006. - Vol. 2. - N 1. - P. 39-45.
13. The development of the ideas of bioethics in a European context: proceedings of the IV International Symposium on bioethics/ emphasis. S. V. Pustovit, V. L. Kulichenko, A. G. Karagidina. - Kiev: SPHERE, 2006. - 160 p.
14. Kamyshnikov B. C. Handbook of clinical and biochemical research and laboratory diagnosis [Text] - M.: Medpress-inform, 2004. - 920 p.
15. Mayansky D. N. The role of neutrophils in ischemic and reperfusion injury of the myocardium [Text] / D. N. Mayansky, S. D. Mayanskaya // Ter. archive. - 2001. - N 12. - p. 84-88.
16. Dolgushin, I. I. Neutrophil traps and methods of evaluation of the functional status of neutrophils : studies. manual for schools [Text] / I. I. Dolgushin, U. S. Andreeva, A. Y. Savotchikina. - M., 2009.- 204.
17. Kiseleva E. P. The Use of micromethod for blast transformation of lymphocytes of humans and animals [Text] / E. P. Kiseleva, A. S. Zweibach, E. I. Goldman, N.V. Pigarova // Immunology. - 1985. - N 1. - p. 76 - 78. UDC 57.084.1: 57.083.3

CHANGING METABOLIC FUNCTIONS IN EXPERIMENTAL ANIMALS AFTER INTRODUCTION OF THE XENOBIOTIC, IMMUNOTROPIC DRUG AND PROBIOTIC Zvyagintseva OV., Klimova EM., Lavinska OV., Lenkevich AS.

The aim of the study was to evaluate *in vivo* changes in metabolic and barrier function of the resistance factors (activity of enzymes of neutrophils, the efficiency of phagocytosis), some biochemical parameters (concentration of ceruloplasmin and haptoglobin) and proliferate activity *in vitro* cells after introduction of copper sulfate, probiotics and immunostimulant "Fungidol" the experimental animals.

Material and methods. The *in vivo* experiments were performed on 6-month-old male rats of Wistar line. Identified the following groups: group 1 - control animals, which were intraperitoneally injected with saline (n = 5); group 2 - animals that were administered saline *per os* and 48 hours a solution of copper sulphate intraperitoneally (n = 5); group 3 - animals, which were injected with immunotropic drug "Fungidol" *per os* and 48 hours a solution of copper sulphate intraperitoneally (n = 5); group 4 animals, which were injected with a solution of probiotics *per os* and 48 hours a solution of copper

sulphate intraperitoneally (n = 5). As a probiotic used capsules firm Yogurt that contains active *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*. The concentration of haptoglobin and ceruloplasmin were determined spectrophotometrically. Oxygen-dependent metabolism of neutrophils was investigated by microscopy according to their ability to absorb nitroblue tetrazolium (NBT-test) and restore it to deformation in the form of granules blue color under the influence of superoxide anion, which is formed in the NADP-oxidase reaction, initiating the process of stimulation of phagocytosis (NBT-test). To determine the barrier function of phagocytic cells by light microscopy to evaluate the activity of phagocytosis of neutrophilic granulocytes with subsequent determination of phagocytic index, phagocytic number and the index of completeness of phagocytosis. As a microbial agent used is a suspension culture of *Saccharomyces cerevisiae*. The peripheral blood leukocytes were cultured according to the method of Hereford in medium 199 with the addition of fetal calf serum in the absence and in the presence of T-cell mitogen – phytohemagglutinin.

Results and discussion. In all studied groups (introduction of the xenobiotic, "Fungidol", probiotic experimental animals revealed a significant increase in the concentrations of ceruloplasmin and haptoglobin on the average in 1,5 times in comparison with the control, indicating the development of the inflammatory process after the toxic action of copper sulphate.

During administration of sulphate of copper, the experimental animals showed a reduction in the index of completion of phagocytosis, indicating a failure of the process of endocytosis of bacterial antigens and reduced stimulation index due to the low activity of NADP-oxidase system of phagocytes. The introduction of xenobiotic animals was increased 1,2 times compared with the control (23,33±1,38) % the number of transformed cells in the background of mitogenic inducer of cell proliferation. The proliferative activity of hemolytic after the joint action of the xenobiotic and immunotropic drug in cell culture with the mitogen was the highest and exceeded 1,5 times control (23,33±1,38)%. After the introduction of copper sulfate and probiotic proliferative activity of hemolytic was also significantly higher spontaneous.

Introduction biologic response modifier substance to a greater extent than probiotics stimulate a protective immune processes aimed at combating the negative effect of the xenobiotic.

Conclusion. Thus, the introduction of copper sulfate launches in animals a cascade of reactions aimed at the disruption of homeostasis. It is a violation of various physiological processes of digestion, respiration, cell differentiation, water-salt metabolism, metabolism of carbohydrates, proteins, lipids, detoxification of exogenous substrates and metabolites, production of biologically active compounds. Introduction immunostimulant and probiotics, in varying degrees, led to activation of protective mechanisms under the action of stress factors aimed at the adaptation and translation of the body into a new functional state.

Keywords: xenobiotic, immunotropic drug, probiotics, immune response.