

УДК 616.24-002.5:612.017.1:615.37.001.5

**ВПЛИВ СУМІШІ ОМЕГА-3
ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ТА
МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ РНК-
ТИЛОРОН НА ФОРМУВАННЯ
ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОГО ІМУНІТЕТУ У
ТВАРИН З Т-КЛІТИННИМ
ІМУНОДЕФІЦИТОМ**

І.Ф. Ільїнська

**ДУ «Національний інститут фізичної та пульмонології імені Ф.Г. Яновського АМН України»,
Київ**

**03680 Київ, вул. М. Амосова, 10;
<http://www.ifp.kiev.ua/>; immunol@ifp.kive.ua**

Складна епідемічна ситуація з туберкульозу (ТБ) та стрімке поширення хіміорезистентності збудника, яке спостерігається в усьому світі, обумовлює актуальність удосконалення патогенетичної терапії хворих, в першу чергу імуноотропної. Відомо, що клінічні форми захворювання виникають або внаслідок реактивації латентної туберкульозної інфекції у осіб з імунологічною (преморбідною) недостатністю [5, 12] або при реінфікуванні надмірною кількістю мікобактерій туберкульозу (МБТ), коли існуючих ресурсів нормальної імунної системи виявляється замало для їх знешкодження. Раніше нами було продемонстровано, що у хворих з преморбідною імуносупресією найчастіше має місце недостатність Т-клітинної та моноцитарно-макрофагальної ланок імунітету [7] і доведена ефективність застосування суміші омега-3 поліненасичених жирних кислот (ω -3 ПНЖК) та молекулярного комплексу (МК) РНК-тилорон в комплексному лікуванні тварин, інфікованих вірулентними МБТ на фоні макрофагального імунодефіциту [2].

Суміш омега-3 ПНЖК – вітчизняний препарат “Теком” був розроблений в Інституті фізичної та пульмонології в 90-х роках, там же були проведені його доклінічні та клінічні випробування, після яких він був запущений у виробництво на Київському вітамінному заводі. Тепер цей препарат відомий під торговою маркою “Епадол”. Молекулярний комплекс РНК-тилорон утворюється при взаємодії одноланцюгової дріжджової РНК з 2,7-біс[2-(діетиламіно-етокси)-флуорен]-9-он дигідрохлоридом (тилороном) і вважається одним з перспективних індукторів ІФН- α/β напівприродного походження завдяки наявності в його складі рибози та утворенню в структурі одноланцюгової РНК чисельних дволанцюгових ділянок під дією тилорону [9].

Під впливом цих імуномодуляторів відбувалося значне поліпшення функціонування макрофагів (Мф), тому виникла ідея використати ці препарати і в лікуванні експериментального ТБ у тварин з преморбідною недостатністю Т-клітин з огляду на те, що роль останніх в протитуберкульозному захисті, в основному, полягає саме в стимуляції макрофагів [5, 6]. З'ясування доціль-

ності застосування суміші омега-3 ПНЖК та МК РНК-тилорон в комплексному лікуванні тварин, інфікованих мікобактеріями туберкульозу на фоні преморбідної недостатності Т-клітинної ланки імунітету, і стало метою даного дослідження. Для її досягнення були поставлені такі задачі:

–вивчити особливості перебігу експериментального туберкульозу у тварин з преморбідним Т-клітинним імунодефіцитом;

–оцінити у них ефективність етіотропної терапії;

–дослідити характер імунологічних змін у імунодефіцитних тварин з експериментальним туберкульозом, в комплексному лікуванні яких використовувалися суміш омега-3 ПНЖК та МК РНК-тилорон та оцінити ефективність запропонованих схем імунокорекції.

Матеріали та методи досліджень.

Дослід за кошти держбюджету і при дотриманні вимог Закону України № 3447-IV і Європейської конвенції із захисту хребетних тварин був проведений на 165 мишах (90 Balb/c та 75 безпородних), яких було розподілено на 7 груп (рис. 1): по 10 мишей Balb/c було включено в дві контрольні групи – 0 (інтактних тварин) та групу тварин з Т-клітинним імунодефіцитом (Т-ІД); І дослідна група тварин з експериментальним ТБ складалася із 10 мишей Balb/c та 15 безпородних тварин; із 30 мишей (15 Balb/c та 15 безпородних) сформували ІІ групу тварин, інфікованих вірулентними МБТ на фоні Т-ІД; по 15 мишей Balb/c та по 15 безпородних мишей, інфікованих вірулентними МБТ на фоні Т-ІД, було включено в 3 інші дослідні групи: тварини ІІІ групи з другого дня після зараження отримували лише етіотропну терапію, мишам груп ІV та V крім туберкулопатика ще через тиждень проводили імунотерапію – відповідно сумішшю ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон.

В роботі використовувалися комерційні препарати “Епадол” виробництва Київського вітамінного заводу ЗАО, Україна, Київ, препарат дріжджової РНК (рибосомальна фракція) виробництва НПО „Біохіміреактив”, Олайн, Латвія, який був додатково очищений потрібною фенольною депротейнізацією з подальшим осадженням етанолом за стандартною методикою [9], та тилорон - 2,7-біс[2-(діетиламіно-етокси)-флуорен]-9-он дигідрохлорид („Sigma”, США). Приготування розчину МК РНК-тилорон потрібної концентрації здійснювали *ex tempore* шляхом прямого змішування відповідної кількості тилорону і дріжджової РНК у співвідношенні 1:10 (М:М) та їх розчинення в буфері 0,01 М трис-НСІ (рН 6,8) і 0,05 М NaCl.

Експериментальну ізольовану недостатність Т-клітин відтворювали за способом Т.Х. Кондратьєвої та співавт., 1992 [10], у власній модифікації. Він полягає в елімінації циклофосфаном Т-клітин, попередньо активованих мітогеном – фітогемаглютиніном (ФГА). ФГА (Підприємство “ПанЕко”, Москва, Росія) вводили двічі підшкірно (в холку тварини): у дозі 100 мкг в 0,2 мл фізіологічного розчину та через 5 днів у дозі 50 мкг в 0,1 мл фізіологічного розчину.

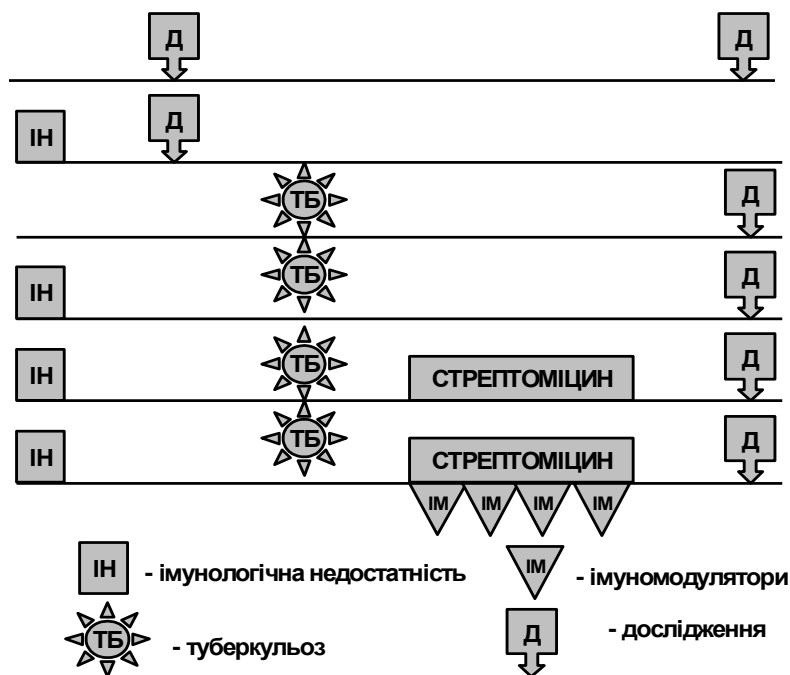


Рис. 1. Схема проведення досліджень з вивчення особливостей формування протитуберкульозного імунітету у тварин з преморбідний Т-клітинним імунодефіцитом та оцінки ефективності запропонованих схем імунокорекції

Циклофосфан (ВАТ “Київмедпрепарат”, Україна) вводили внутрішньочеревно через 2 доби після другої ін’єкції ФГА в дозі 200 мг/кг (10 мг/мишу). Через 2 доби після цього тварин інфікували внутрішньочеревним введенням сухої 2-тижневої культури вірулентних МБТ типу Humanus штаму H37Rv в дозі 0,25 мг/мишу в 0,5 мл фізіологічного розчину. З огляду на швидку загибель тварин, введення стрептоміцину (щоденні внутрішньом’язові ін’єкції в дозі 100 мкг) розпочинали на другий день після зараження. Імунокорекцію розпочинали на 8 день туберкульозного процесу: суміш ω-3 ПНЖК в дозі 5 мкл/тварину вводили перорально тричі на тиждень, МК РНК-тилорон вводили також перорально в дозі 12,5 мг/кг двічі на тиждень. Дози препаратів були рекомендовані розробниками. Тварини утримувалися в стандартних умовах віварію на стандартному раціоні харчування.

Імунологічні дослідження тварин контрольних груп проводили перед введенням МБТ, дослідних - на 30 день розвитку експериментального туберкульозу (див. рис. 1). Для цього по 8 тварин Balb/c з кожної групи виводили з досліду шляхом передозування ефірного наркозу та визначали індекси маси селезінки та тимусу [14], питомий вміст тимоцитів та спленоцитів, підраховували лейкограму (в т.ч. чисельність великих гранулярних лімфоцитів – ВГЛ), вміст клітин в перитонеальному екссудаті та його клітинний склад. Оцінку функціональної активності фагоцитуючих клітин проводили за їх поглинальною здатністю, рівнями кисеньзалежного метаболізму в НСТ-тесті [11], інтенсивністю погли-

нання нативних МБТ та МБТ, опсонізованих свіжою та декомплементованою аутосерваткою [8]. Також досліджували інтенсивність апоптозу нейтрофілів (Нф) периферичної крові та перитонеальних Мф і вплив аутосерватки на апоптоз Мф [1]. Напруженість специфічного протитуберкульозного імунітету оцінювали *in vitro* за проліферативною відповіддю Лф крові на туберкулін [3]. Ефективність лікування оцінювали за індексами ураження МБТ внутрішніх органів мишей Balb/c [4], а також за середньою тривалістю життя та кількістю загиблих безпородних мишей протягом 45 днів спостереження.

Результати та їх обговорення.

Наявність преморбідної Т-клітинної імунологічної недостатності підтверджувалася достовірним зменшенням індексів маси тимусу та селезінки, скороченням питомого вмісту в них клітин, зниженням вмісту Лф в периферичній крові, а також виразним пригніченням їх проліферативної відповіді на Т-клітинний мітоген - конканавалін А (рис. 2).

Це супроводжувалося компенсаторним збільшенням чисельності ВГЛ – до $0,80 \pm 0,12$ Г/л (у інтактних мишей воно складало $0,33 \pm 0,04$ Г/л; $p < 0,05$).

Введення вірулентних МБТ тваринам з Т-клітинним імунодефіцитом призводило до загибелі усіх 30 тварин II групи протягом перших 20 днів після інфікування (рис. 3), що повністю співпадає з результатами експериментів, проведених іншими дослідниками [13].

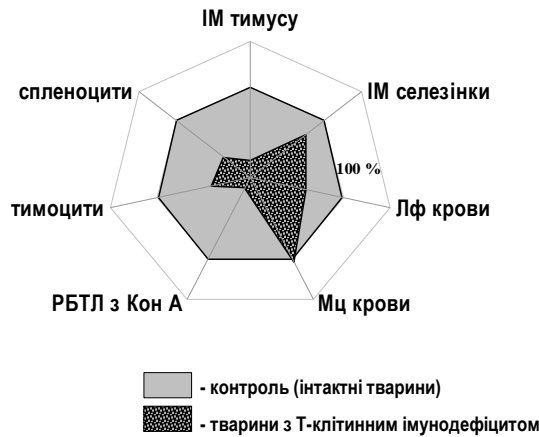


Рис. 2. Деякі особливості імунного статусу тварин з Т-клітинним імунодефіцитом

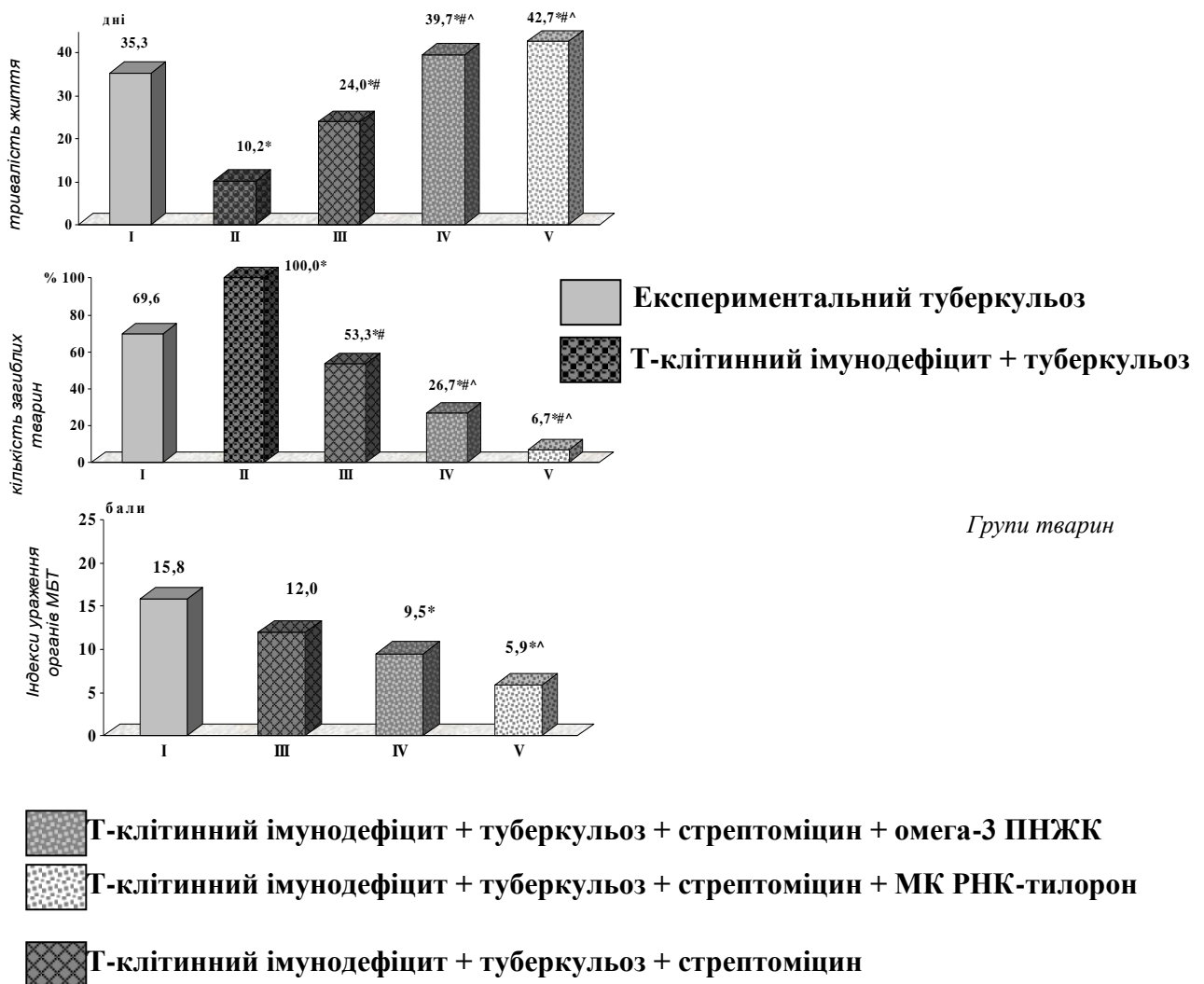


Рис. 3. Ефективність лікування тварин з Т-клітинним імунодефіцитом, інфікованих вірулентними мікобактеріями туберкульозу, де – різниця показника в порівнянні з: * – показником I групи; # – з показником II групи; ^ – з показником III групи статистично підтверджена ($p < 0,05$).

У зв'язку з цим імунологічні дослідження і оцінка індексів ураження МБТ внутрішніх органів в цій групі не проводилися.

Призначення стрептоміцину мишам III групи з Т-клітинним імунодефіцитом, інфікованих МБТ, забезпечило виживання майже половини тварин, але тривалість їхнього життя виявилася меншою, ніж у мишей з експериментальним ТБ, які не отримували ліків, що

свідчило про низьку ефективність етіотропної терапії (див. рис. 3). Преморбідні порушення Т-клітинного імунітету обумовлювали затримку лімфоїдних клітин в центральних органах імунітету що у тварин цієї групи проявлялося істотним зростанням питомого вмісту тимочитів та спленоцитів (табл. 1) і призводило до суттєвого скорочення кількості Лф в периферичній крові та перитонеальному ексудаті (табл. 2).

Таблиця 1 – Індекси маси тимусу та селезінки та питомий вміст в них клітин у тварин з Т-клітинним мунодефіцитом, інфікованих вірулентними МБТ (M ± m)

Групи тварин (n = 8)	Індекси маси (у.о.)		Питомий вміст клітин (10 ⁹ /г) в:	
	- тимусу	- селезінки	- тимусі	- селезінці
0 (інтактні)	0,26 ± 0,02	0,72 ± 0,03	51,2 ± 9,1	4,2 ± 0,6
Т-ІД	0,05 ± 0,01	0,53 ± 0,12	22,2 ± 1,4*	1,5 ± 0,4
I	0,13 ± 0,01*	2,42 ± 0,26*	35,1 ± 1,2*	11,5 ± 0,8*
III	0,10 ± 0,01* [∇]	1,24 ± 0,29 ^{∇•}	86,6 ± 9,2* ^{∇•}	Групи тварин 9,8 ± 1,4* [∇]
IV	0,09 ± 0,02*	1,04 ± 0,04* ^{∇•}	22,8 ± 9,6* ^{♦♦}	5,2 ± 0,6* ^{∇♦♦}
V	0,13 ± 0,01* [∇]	1,01 ± 0,07* ^{∇•}	64,4 ± 13,7 ^{∇•}	5,7 ± 0,9* ^{∇♦♦}

Примітки:

- * - різниця показника в порівнянні з показником інтактних тварин (0 групи) Групи тварин
- статистично підтверджена (p < 0,05).
- [∇] - різниця показника в порівнянні з показником групи тварин з Т-клітинним імунодефіцитом статистично підтверджена (p < 0,05).
- [•] - різниця показника в порівнянні з показником тварин I групи з експериментальним туберкульозом статистично підтверджена (p < 0,05).
- [♦] - різниця показника в порівнянні з показником тварин III групи, інфікованих МБТ H37Rv на фоні Т-клітинного імунодефіциту та пролікованих стрептоміцином, статистично підтверджена (p < 0,05).

Таблиця 2 – Вміст клітин в крові та перитонеальному ексудаті тварин з Т-клітинним імунодефіцитом, інфікованих вірулентними МБТ (M ± m; n = 8)

Групи тварин	Вміст клітин (10 ⁹ /л)			
	лейкоцитів	лімфоцитів	моноцитів	нейтрофілів
<i>Периферична кров</i>				
0 (інтактні)	7,1 ± 0,2	5,13 ± 0,22	1,02 ± 0,11	1,04 ± 0,13
Т-ІД	8,0 ± 0,8	3,08 ± 0,34*	1,07 ± 0,10	3,41 ± 0,36*
I	11,5 ± 0,8	9,62 ± 0,67* [∇]	0,19 ± 0,02*	1,72 ± 0,30
III	7,6 ± 0,6 [•]	3,17 ± 0,37* [•]	3,15 ± 0,30* ^{∇•}	1,25 ± 0,28 [∇]

IV	$8,9 \pm 0,8^*$	$4,36 \pm 0,26^{*\vee\blacklozenge}$	$2,84 \pm 0,16^{*\vee\blacklozenge}$	$1,65 \pm 0,53^{\vee}$
V	$8,0 \pm 0,9^*$	$5,40 \pm 0,64^{*\vee\blacklozenge}$	$1,44 \pm 0,13^{*\vee\blacklozenge}$	$1,17 \pm 0,27^{\vee}$
<i>Перитонеальний ексудат</i>				
0 (інтактні)	$1,04 \pm 0,06^*$	$0,51 \pm 0,03^*$	$0,48 \pm 0,03^*$	$0,05 \pm 0,00^*$
T-ІД	$0,46 \pm 0,02$	$0,20 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,00$
I	$1,20 \pm 0,16^*$	$1,00 \pm 0,14^{*\bullet}$	$0,05 \pm 0,01^{*\bullet}$	$0,15 \pm 0,03^{*\bullet}$
III	$1,20 \pm 0,16^*$	$1,00 \pm 0,14^{*\bullet}$	$0,05 \pm 0,01^{*\bullet}$	$0,15 \pm 0,03^{*\bullet}$
IV	$0,85 \pm 0,03^{*\bullet}$	$0,59 \pm 0,02^{*\blacklozenge}$	$0,13 \pm 0,01^{*\blacklozenge}$	$0,10 \pm 0,02^{*\bullet}$
V	$0,64 \pm 0,04^{*\blacklozenge}$	$0,47 \pm 0,02^{*\blacklozenge}$	$0,07 \pm 0,01^{*\bullet}$	$0,10 \pm 0,02^{*\bullet}$

П р и м і т к и :

1. * - різниця показника в порівнянні з показником інтактних тварин (0 групи) статистично підтверджена ($p < 0,05$).
2. \vee - різниця показника в порівнянні з показником групи тварин з T-клітинним імунодефіцитом (T-ІД) статистично підтверджена ($p < 0,05$).
3. \bullet - різниця показника в порівнянні з показником тварин I групи з експериментальним туберкульозом статистично підтверджена ($p < 0,05$).
4. \blacklozenge - різниця показника в порівнянні з показником тварин III групи, інфікованих МБТ H37Rv на фоні T-клітинного імунодефіциту та пролікованих стрептоміцином, статистично підтверджена ($p < 0,05$).

В крові також спостерігалось достовірне зменшення до контрольних значень вмісту ВГЛ ($0,33 \pm 0,04 \cdot 10^9/\text{л}$) та Нф, компенсаторне зростання яких мало місце при модуляції T-клітинної недостатності (див. табл. 2). Це супроводжувалося збільшенням кількості моноцитів в крові та Мф і Нф в перитонеальному ексудаті (там же). Кількісне скорочення вмісту лімфоїдних клітин у тварин з T-клітинним імунодефіцитом, поєднувалося з виразним пригніченням їх проліферативної активності (рис. 4), що при інфікуванні їх вірулентними МБТ обумовлювало у тварин III групи туберкулінову анергію та дисфункцію Мф перитонеального ексудату, яка характеризувалася достовірним збільшенням поглинальної здатності цих клітин (табл. 3), зростанням інтенсивності поглинання ними нативних та опсонізованих МБТ (табл. 4) і відсутністю посилення їх кисеньзалежного метаболізму (див. табл. 3), що опосередковано свідчить про незавершеність фагоцитозу. Дисфункція перитонеальних Мф у тварин цієї групи, поглиблювалася внаслідок інтенсифікації спонтанного апоптозу цих клітин, а відсутність апоптогенної дії аутосерватки (рис. 5) свідчила про глибокі порушення функціонування та кооперації лімфоїдних та макрофагальних клітин, про гальмування розвитку імунної відповіді на збудник та брак прозапальних цитокінів, які індукують процеси програмованої смерті. Пригнічення головних специфічних та неспецифічних механізмів, які спрямовані на елімінацію МБТ та здійснюються сенсibiliзованими Лф та активованими ними Мф, призводило до надмірної

активації кисеньзалежного метаболізму Нф і зростання інтенсивності апоптозу цих клітин (див. рис. 5). Застосування суміші ω -3 ПНЖК в комплексному лікуванні тварин IV групи, інфікованих вірулентними МБТ на фоні T-клітинного імунодефіциту, сприяло збільшенню вмісту Лф в периферичній крові та перитонеальному ексудаті, але їх кількість та проліферативна активність залишалися меншими, ніж у тварин з експериментальним ТБ (див. табл. 2, рис. 4), і формування повноцінної адаптивної імунної відповіді на збудник не відроджувалося. Це підтверджувалося відсутністю реакції T-лімфоцитів крові на туберкулін в реакції бластоутворення. Втім, функції перитонеальних Мф у тварин цієї дослідної групи покращилися: зростання поглинальної здатності цих клітин супроводжувалося виразною активацією кисеньзалежного метаболізму (див. табл. 4). Зростання вмісту Мц в крові та Мф в перитонеальному ексудаті було меншим, ніж у тварин III групи (див. табл. 2), також мало місце виразне зниження інтенсивності апоптозу Мф в присутності аутосерватки (див. рис. 5).

Покращення функціонування мононуклеарних фагоцитів в цій групі відбувалося на фоні подальшої активації Нф і посилення їх апоптозу (там же). Саме цим можна пояснити несуттєве зменшення індексів туберкульозного ураження МБТ внутрішніх органів при скороченні вдвічі кількості загиблих тварин цієї групи і подовженні тривалості їхнього життя до $39,7 \pm 2,8$ днів (див. рис. 2).

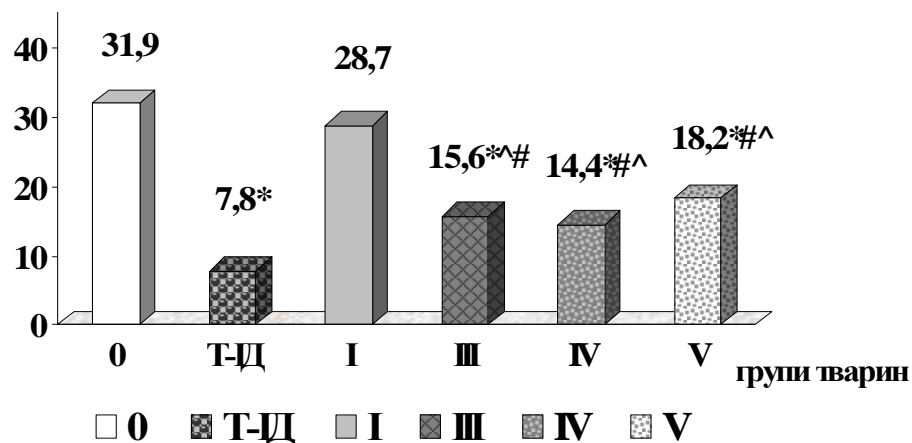


Рис. 4. Проліферативна відповідь на конканавалін А лімфоцитів крові тварин з Т-клітинним імунодефіцитом, інфікованих вірулентними мікобактеріями туберкульозу, де: різниця показника статистично підтверджена ($p < 0,05$) в порівнянні з: * – показником інтактних тварин 0 групи; # – з показником групи тварин з Т-клітинним імунодефіцитом; ^ – з показником I групи мишей з експериментальним туберкульозом

Таблиця 3 – Фагоцитоз та НСТ-тест фагоцитуючих клітин у тварин з Т-клітинним імунодефіцитом, інфікованих вірулентними МБТ (M ± m; n = 8)

Групи тварин	Поглинання латексу		НСТ-тест	
	ПФ (%)	ФЧ (y.o.)	(%)	ЦХП (y.o.)
<i>Макрофаги перитонеального ексудату</i>				
0	20,5 ± 0,5	6,0 ± 0,2	28,2 ± 1,2	0,43 ± 0,02
I	22,0 ± 0,6*	6,6 ± 0,2	38,5 ± 1,3*	0,54 ± 0,03*
VII	25,0 ± 1,4*	5,5 ± 0,2*•	28,1 ± 2,2*	0,34 ± 0,03*•
VIII	30,6 ± 1,7*••	5,5 ± 0,1*•	37,6 ± 4,0*•	0,43 ± 0,06*
IX	32,8 ± 1,8*••	5,3 ± 0,2*•	35,8 ± 3,5*	0,37 ± 0,04*
<i>Нейтрофіли крові</i>				
0	23,4 ± 1,4	5,8 ± 0,3	31,5 ± 2,2	0,45 ± 0,04
I	31,4 ± 0,9*	6,2 ± 0,3	31,3 ± 1,7	0,39 ± 0,04
VII	30,4 ± 2,2*	6,0 ± 0,4	51,1 ± 3,6*•	0,65 ± 0,05*•
VIII	35,9 ± 1,3*	7,2 ± 0,4*	67,9 ± 4,0*••	1,01 ± 0,13*••
IX	36,8 ± 1,7*••	6,1 ± 0,2	57,4 ± 5,8*•	0,79 ± 0,09*•

Примітки:

- * - різниця показника в порівнянні з показником інтактних тварин (0 групи) статистично підтверджена ($p < 0,05$).
- - різниця показника в порівнянні з показником тварин I групи з експериментальним туберкульозом статистично підтверджена ($p < 0,05$).
- ♦ - різниця показника в порівнянні з показником тварин III групи, інфікованих МБТ H37Rv на фоні Т-клітинного імунодефіциту та пролікованих стрептоміцином, статистично підтверджена ($p < 0,05$).

Таблиця 4 – Інтенсивність поглинання нативних та опсонізованих БЦЖ макрофагами перитонеального ексудату тварин з Т-клітинним імунодефіцитом, інфікованих вірулентними мікобактеріями туберкульозу (M ± m; n = 8)

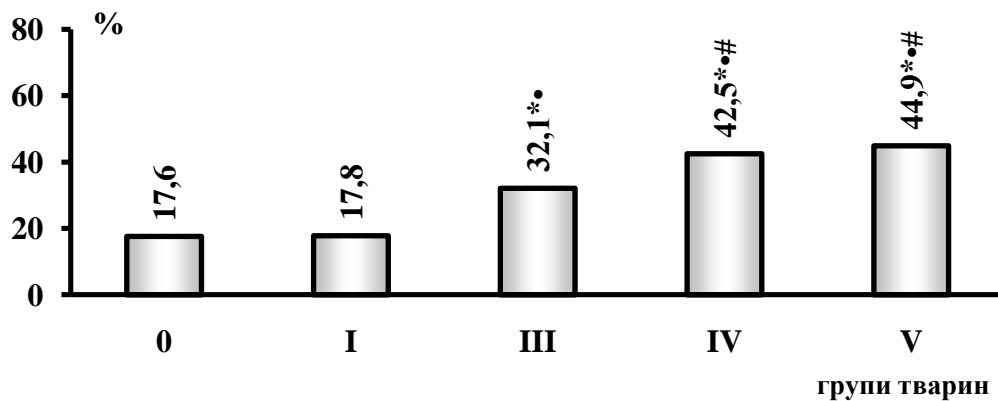
Групи тварин	Інтенсивність поглинання БЦЖ (%):			
	- нативних	- опсонізованих:		
		- аутосерваткою	- антитілами	- комплексом
0	19,7 ± 0,7	22,8 ± 0,4	19,6 ± 0,4	3,1 ± 0,4

I	22,1 ± 0,9	29,3 ± 1,7*	20,8 ± 0,8	8,5 ± 1,4*
VII	33,3 ± 3,3*	35,8 ± 3,7*	24,6 ± 1,1*	11,1 ± 2,9*
VIII	21,1 ± 2,8*	38,1 ± 2,7*	23,3 ± 2,1	14,9 ± 2,3*
IX	32,5 ± 2,0*	28,1 ± 1,0*	24,1 ± 0,3*	4,0 ± 0,5**

Примітки:

1. * - різниця показника в порівнянні з показником інтактних тварин (0 групи) статистично підтверджена ($p < 0,05$).
2. • - різниця показника в порівнянні з показником тварин I групи з експериментальним туберкульозом статистично підтверджена ($p < 0,05$).
3. ♦ - різниця показника в порівнянні з показником тварин III групи, інфікованих МБТ H37Rv на фоні Т-клітинного імунодефіциту та пролікованих стрептоміцином, статистично підтверджена ($p < 0,05$).

нейтрофіли крові



перитонеальні макрофаги

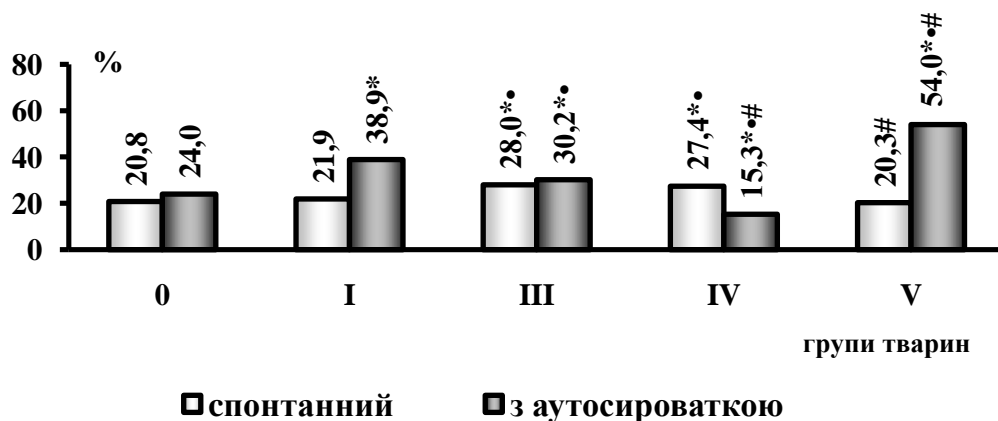


Рис. 5. Апоптоз перитонеальних макрофагів тварин з Т-клітинним імунодефіцитом, інфікованих вірулентними мікобактеріями туберкульозу, де: різниця показника статистично підтверджена ($p < 0,05$) в порівнянні з показником: – * - інтактних тварин 0 групи; • - тварин I групи з експериментальним туберкульозом; # - мишей III групи, інфікованих МБТ на фоні Т-клітинного імунодефіциту і пролікованих стрептоміцином; IV та V – групи тварин, інфікованих МБТ на фоні Т-клітинного імунодефіциту та пролікованих стрептоміцином та сумішшю омега-3 ПНЖК і та молекулярним комплексом РНК-тилорон, відповідно.

У мишей V групи, інфікованих МБТ на фоні Т-клітинного імунодефіциту та пролікованих стрептоміцином і МК РНК-тилорон, зміни в органах імунітету мали різноспрямований характер: індекси маси тимусу та питомий вміст тимоцитів збільшувалися до рівня тварин з експериментальним ТБ (ймовірно, завдяки репаративним властивостям даного імуномодулятора), а індекси маси селезінки та питомий вміст спленоцитів зменшувалися (див. табл. 1).

Це зумовило зростання кількості Лф в периферичній крові до рівня інтактних тварин (див. табл. 2) і достовірно менш виразне, ніж у імунодефіцитних мишей III групи, які отримували лише стрептоміцин, скорочення вмісту великих гранулярних лімфоцитів – до $55,0 \pm 0,13 \cdot 10^9/\text{л}$ (інтактні – $0,33 \pm 0,05 \cdot 10^9/\text{л}$; $p < 0,05$). Проте проліферативна відповідь Т-клітин на мітоген залишалася недостатньою для забезпечення адекватної імунної відповіді, що підтверджувалося туберкуліновою анергією (див. рис. 4). Вміст клітин в перитонеальному ексудаті у мишей цієї групи скорочувався, переважно за рахунок Мф (див. табл. 2), що, на нашу думку, могло спричинитися високою інтенсивністю апоптозу, зокрема, індукованого гуморальними факторами (див. рис. 5). Відбувалася стимуляція функціональної активності Мф (див. табл. 3), але звертає на себе увагу суттєве скорочення інтенсивності поглинання цими клітинами МБТ, опсонізованих комплементом (див. табл. 4). Можливо, це пов'язано з браком комплементу чи його компонентів, або із зменшенням чисельності рецепторів до комплементу внаслідок їх блокування або виснаження функціонального резерву клітин що часто спостерігається у хворих на туберкульоз легень [8]. Але для з'ясування цього питання потрібно додаткове проведення спеціальних досліджень.

У тварин цієї групи під впливом МК РНК-тилорон відбувалася активація Нф (див. табл. 3) і зростання інтенсивності їх спонтанного апоптозу (див. рис. 5). Проте, посилення кисеньзалежного метаболізму фагоцитуючих клітин (Мф та Нф) було помірним, що віддзеркалювалося меншою виразністю деструктивних змін внутрішніх органів у тварин цієї групи: індекси ураження скоротилися до $5,9 \pm 1,4$ балів, тривалість життя тварин подовжилася до $42,7 \pm 2,4$ діб, а кількість загиблих тварин зменшилася до 6,7 % (див. рис. 2).

Таким чином доведена можливість підвищення ефективності протитуберкульозного лікування тварин з Т-клітинним імунодефіцитом шляхом застосування імуномодуляторів, стимулюючих функції макрофагів, зокрема тих, які виступають потужними індукторами інтерферону, сприяють посиленню репараційних процесів та стабілізують мембрани клітин. Це відкриває широкі можливості їх застосування в клінічних умовах для імунотерапії імунокомпроментованих хворих на ТБ, в т.ч. з обтяженим преморбідним фоном при наявності порушень як в моноцитарно-макрофагальній, так і в Т-клітинній ланках імунітету.

Висновки

1. Преморбідний Т-клітинний імунодефіцит при експериментальному туберкульозі унеможливує формування специфічної імунної відповіді на МБТ, обумовлює незавершеність фагоцитозу макрофагів і призводить до низької ефективності антимікобактеріальних лікарських засобів при їх ізольованому застосуванні.

2. Додаткове призначення суміші омега-3 ПНЖК тваринам, інфікованим вірулентними МБТ на фоні Т-клітинного імунодефіциту, сприяло поновленню міграції лімфоїдних клітин з тимусу і селезінки, що обумовило збільшення їх вмісту в периферичній крові та перитонеальному ексудаті. Але кількість та функціональна активність лімфоцитів залишалися низькою, і формування повноцінної імунної відповіді не відбувалося. Проте стимуляція кисеньзалежного метаболізму фагоцитуючих клітин забезпечила краще знищення макрофагами внутрішньоклітинних МБТ, що сприяло зменшенню індексів ураження МБТ внутрішніх органів на 30,0 %, скороченню кількості загиблих тварин в 2 рази та на 50,0 % подовжило тривалість їхнього життя.

3. Додаткове застосування молекулярного комплексу РНК-тилорон в лікуванні експериментального туберкульозу у тваринам з Т-клітинним імунодефіцитом призводило до зростання вмісту лімфоїдних клітин в тимусі та селезінці і сприяло їх міграції, але також не відновлювало повністю функціонування цих клітин. Втім, стимуляція бактерицидної активності макрофагів виявилася більш гармонійною. Внаслідок цього індекси ураження МБТ внутрішніх органів зменшилися вдвічі, кількість загиблих тварин скоротилася у 8 разів та на 77,9 % подовжилася тривалість їхнього життя.

Список літератури

1. Апоптоз нейтрофілоцитів та його роль в патогенезі запальних процесів в легенях туберкульозного та неспецифічного генезу [Текст] / І.Ф. Ільїнська [та ін.] // Укр. пульмон. журнал. – 2007. – № 2. – С. 32–38.
2. Вплив суміші омега-3 поліненасичених жирних кислот та молекулярного комплексу РНК-тилорон на формування протиту-беркульозного імунітету у тварин з макрофагальним імунодефіцитом [Електрон. ресурс] / І.Ф. Ільїнська, О.В. Гриценко, О.М. Зубрійчук, А.І. Барбова : Режим доступу: <http://ifp.pulm/ftp1/original/2009/ilyinskaya2009.pdf>
3. Григорьева, М.Г. Разработка микрометода культивирования клеток крови человека [Текст] / М.Г. Григорьева, И.И. Копелян [Текст] // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1972. – Т. 74, № 2. – С. 119–122.

4. Драбкина, Р.И. Эффективность прерывистой терапии туберкулеза (экспериментальное исследование) [Текст] / Р.И. Драбкина, Т.С. Гинзбург // Антибиотики. – 1972. – № 6. – С. 550–560.
5. Иванов, А.К. Туберкулез. Особенности течения, возможности фармакотерапии [Текст] / под ред. А.К. Иванова // Учебное пособие для врачей. – СПб.: [б.и.], 2009. – 108 с.
6. Иммуитет при туберкулезе и аспергиллезе (обзор) [Текст] / Е.В. Свирщевская [др.] // Проблемы медицинской микологии. – 2005. – Т. 7, № 1. – С. 3 – 13.
7. Ільїнська, І.Ф. Преморбідна імунологічна недостатність у хворих на туберкульоз легень [Текст] / І.Ф. Ільїнська // Лаб. діагностика. – 2009. – № 4. – С. 17–23.
8. Інтенсивність поглинання нативних та опсонізованих мікобактерій фагоцитуючими клітинами *in vitro* у хворих на туберкульоз та хронічні неспецифічні захворювання легень [Текст] / І.Ф. Ільїнська [та ін.] // Укр. пульмон. журн. – 2004. – № 4. – С. 42–47.
9. Карпов А.В. Продукция интерферонов I типа в организме под действием молекулярных комплексов дрожжевая РНК - тилорон / А.В. Карпов, Н.М. Жолобак // Вопр. вирусол. – 1996. – № 1. С. 13–16.
10. Кондратьева, Т.К. Природа иммунодефицита, индуцированного инъекциями лектинов и циклофосфамида [Текст] / Т.К. Кондратьева, Н.В. Михеев, Л.Н. Фонталин // Бюлл. эксперим. медицины и биологии. – 1988. – № 8. – С. 195–198.
11. Оценка функции перитонеальных макрофагов *in vitro*, полученных от интактных и иммунизированных антигенами стафилококка мышей [Текст] / А. Е. Вершигора [и др.] // Иммунология. – 1981. – № 6. – С. 37 – 40.
12. Патология иммунитета: причина или следствие туберкулезной инфекции? [Текст] / В.В. Новицкий [и др.] // Бюл. сибирской мед. – 2006. – № 2. – С. 70–74.
13. Экспериментальная гриппозная и туберкулезная инфекция в условиях неспецифической и специфической иммуносупрессии [Текст] / Т.Х. Кондратьева, Л. Фонталин, Н.В. Михеева, В. Голань // Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. – 1992. – № 7–8. – С. 48–51.
14. Miche D. A simple method for estimation of total lymphoid organ proliferation [Text] / D. Miche: Hand-book of exp. Immunol. – Black-well. Oxford, 1967. – P. 969 – 970.

УДК 616.24-002.5:612.017.1:615.37.001.5

ВПЛИВ СУМІШІ ОМЕГА-3 ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ТА МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ РНК-ТИЛОРОН НА ФОРМУВАННЯ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОГО ІМУНІТЕТУ У ТВАРИН З Т-КЛІТИННИМ ІМУНОДЕФІЦИТОМ

І.Ф. Ільїнська

У тварин із преморбідним Т-клітинним імунодефіцитом продемонстрована відсутність формування адаптивного протитуберкульозного імуітету та виразна дисфункція макрофагів, що призводить до низької ефективності антимікобактеріальних препаратів. Доведена можливість використання суміші омега-3 поліненасичених жирних кислот і молекулярного комплексу РНК-тилорон для стимуляції функцій макрофагів, що дозволило суттєво підвищити ефективність лікування: індекси ураження МБТ внутрішніх органів після курсу імуіотерапії знизилися відповідно на 30 і 50 %, число загиблих тварин скоротилося відповідно в 2 і 8 раз і на 50,0 і 77,9 %, відповідно, збільшилася тривалість їх нього життя.

УДК 616.24-002.5:612.017.1:615.37.001.5

ВЛИЯНИЕ СМЕСИ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА РНК-ТИЛОРОН НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ИММУНИТЕТА У ЖИВОТНЫХ С Т-КЛЕТОЧНЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ

И.Ф. Ильинская

У животных с преморбидным Т-клеточным иммунодефицитом продемонстрировано отсутствие формирования адаптивного протитуберкулезного иммунитета и резко выраженная дисфункция макрофагов, что приводит к низкой эффективности антимикобактериальных препаратов. Доказана возможность использования смеси омега-3 ПНЖК и молекулярного комплекса РНК-тилорон для стимуляции функций макрофагов, что позволило существенно повысить эффективность лечения: после курса иммуіотерапии индексы поражения МБТ внутренних органов снизились соответственно на 30 и 50 %, число погибших животных сократилось соответственно в 2 и 8 раз и на 50,0 и 77,9 %, соответственно, увеличилась продолжительность их жизни.

UDC: 616.24-002.5:612.017.1:615.37.001.5

THE INFLUENCE OF AN OMEGA - 3 POLY-NON-SATURATED FATTY ACIDS MIXTURE AND RNA-TILORIN MOLECULAR COMPLEX ON FORMATION OF ANTI-TUBERCULOSIS IMMUNITY IN ANIMAL WITH T-CELLULAR IMMUNE DEFICIENCY

I.F. Ilyinskaya

An absence of adoptive anti-tuberculosis immune formation and expressive macrophage dysfunction were demonstrated in animal with premorbidal T-cellular immune deficiency. They stipulated an incompetence of antimycobacteria drugs. It was found the possibility of macrophages stimulation by the using of an omega - 3 poly-non-saturated fatty acids mixture and a molecular complex RNA-tiloron. That was resulted in essential increase of treatment efficiency: after course of immunocorrection indexes of MBT lesions of internals in animal were decreased accordingly on 30 and 50 %, the number of died animal was reduced accordingly in 2 and 8 times and the duration of their life was prolonged accordingly at 50,0 and 77,9 %.