

© І.Ф. Ільїнська (15 листопада 2010). Застосування суміші омега-3 поліненасичених жирних кислот та молекулярного комплексу РНК-тилорон для корекції вакцинної відповіді на БЦЖ у тварин з макрофагальним імунодефіцитом [Електронний ресурс].
URL <http://www.ifp.kiev.ua/ftp1/original/2010/ilyinskaya2010.pdf>

І.Ф. Ільїнська

ЗАСТОСУВАННЯ СУМІШІ ОМЕГА-3 ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ ТА МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСУ РНК-ТИЛОРОН ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ВАКЦИННОЇ ВІДПОВІДІ НА БЦЖ У ТВАРИН З МАКРОФАГАЛЬНИМ ІМУНОДЕФІЦИТОМ

Державна установа «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології
імені Ф.Г. Яновського АМН України»

Поширення уродженої та набутої імунологічної недостатності серед дитячого населення значно збільшує ризик їх захворювання на інфекційні хвороби, в т.ч. на туберкульоз (ТБ), і диктує необхідність розробки ефективних профілактичних заходів саме серед цього контингенту [2, 17]. Але використання вакцинації БЦЖ у таких дітей обмежене якраз через пригнічення їх імунологічної реактивності, що обумовлює й високий ризик виникнення ускладнень у поствакцинальному періоді, і недостатню ефективність щеплення через відсутність повноцінної імунної відповіді на вакцину [2, 3, 13, 14]. Згідно Наказу МОЗ України № 48 від 03.02.2006 (zareestrovano в Міністерстві юстиції України 2 червня 2006 р. за № 667/12541) в перелік протипоказань до проведення щеплення БЦЖ відносяться вроджені комбіновані імунодефіцити, СНІД, перебування на імуносупресивній терапії, а також дефекти фагоцитозу [12]. Через складності своєчасної діагностики цих порушень при їх безсимптомному або субклінічному перебігу, особливо в періоді новонародженості [6, 7], та практику щеплення БЦЖ в перші дні життя, актуальним залишається пошук можливостей корекції вакцинної відповіді на БЦЖ при імунодефіцитних станах з метою запобігання поствакцинальних ускладнень.

В попередніх роботах була 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 [4]. Суміш ω -3 ПНЖК – вітчизняний препарат “Теком”, був розроблений в Інституті фтизіатрії і пульмонології і впроваджений у виробництво Київським вітамінним заводом. МК РНК-тилорон, який утворюється при взаємодії одноланцюгової дріжджової РНК з 2,7-біс[2-(диетиламіно-етокси)-флуорен]-9-он дигідрохлоридом (тилороном), вважається одним з перспективних поліфункціональних імуномодуляторів напівприродного походження завдяки

наявності в його складі рибози та утворенню в структурі одноланцюгової РНК чисельних дволанцюгових ділянок під дією тилорону [10].

Значне поліпшення функціонування макрофагів (Мф), яке відбувалося під впливом цих імуномодуляторів, стало підставою для вивчення доцільності їх застосування у імунодефіцитних тварин і для корекції імунної відповіді на БЦЖ.

Для цього були поставлені наступні задачі:

- вивчити вплив ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон на імунний статус тварин з макрофагальним імунодефіцитом;
- вивчити особливості вакцинної відповіді тварин з макрофагальним імунодефіцитом, які отримали курс ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон до щеплення БЦЖ;
- вивчити особливості вакцинної відповіді тварин з макрофагальним імунодефіцитом, які отримали курс ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон після щеплення БЦЖ;
- оцінити ефективність проведеної імунокорекції.

Матеріали та методи досліджень.

Дослід за кошти держбюджету і при дотриманні вимог Закону України № 3447-IV та Європейської конвенції із захисту хребетних тварин був проведений¹ на 160 безпородних мишах, розподілених на 6 груп: по 10 особин було включено в контрольну (0) групу інтактних тварин і I групу тварин з макрофагальним імунодефіцитом; 20 тварин II групи були щеплені БЦЖ; в III-VI групи було включено по 30 мишей з макрофагальною імуносупресією – тварини III та IV груп імунотерапію (ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон, відповідно) отримували до вакцинації БЦЖ, а миші V та VI груп – після щеплення. Схема дослідю наведена на рис. 1.

Імуномодулятори тваринам III та IV груп вводили протягом двох тижнів, починаючи з 3-го дня після створення макрофагальної недостатності: ω -3 ПНЖК давали щоденно - по 5 мкл (250 мкл/кг) препарату “ТЕКОМ” перорально; МК РНК-тилорон – двічі на тиждень в дозі 12,5 мг/кг, також перорально. Для визначення ефективності імунотерапії після її завершення по 10 тварин з 0, I, III та IV груп виводили з дослідю для проведення імунологічних досліджень, а решту тварин вакцинували шляхом внутрішньочеревного введення 0,1 мг БЦЖ (виробництва підприємства бактерійних препаратів НДІ епідеміології та мікробіології ім. Н.Ф. Гамалеї).

На висоті вакцинної відповіді (на 30 день після щеплення) теж проводили імунологічні дослідження: підраховували лейкограму крові та вміст клітин в перитонеальному ексудаті; визначали індекси маси тимусу і селезінки [16], питомий вміст тимоцитів та спленоцитів; функціональний стан фагоцитуючих клітин оцінювали за їх здатністю до поглинання латексу [5,

¹ Експеримент був проведений за участі О.М. Зубрійчук та О.В. Гриценко

15], інтенсивністю поглинання нативних та опсонізованих БЦЖ [9], рівнями кисеньзалежного метаболізму [15], інтенсивністю спонтанного апоптозу, апоптозу в присутності аутосерватки та індукованого БЦЖ [16].

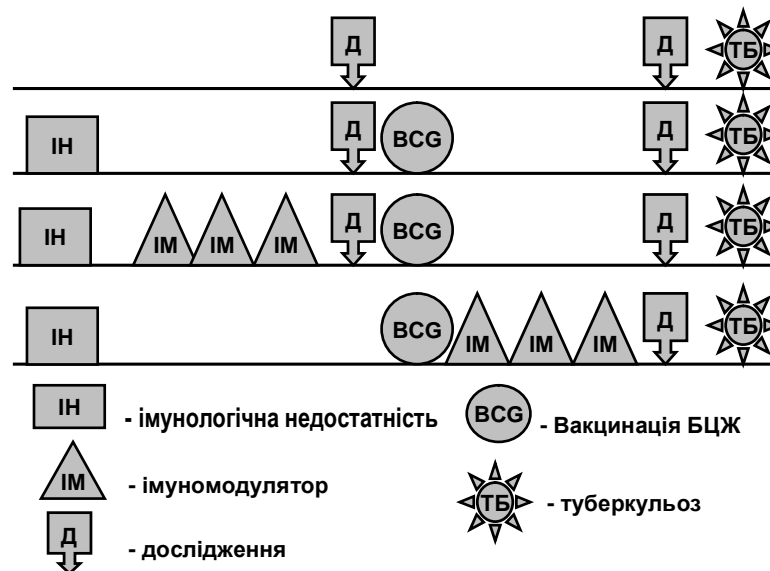


Рис. 1. Схема дослідження з вивчення доцільності застосування ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон для корекції імунної відповіді на БЦЖ у тварин з макрофагальним імунодефіцитом. Аналогічні курси лікування зазначеними імуномодуляторами були призначені відповідно тваринам V та VI груп після введення БЦЖ.

У вакцинованих тварин з огляду на контамінацію перитоніального ексудату мікобактеріями процент фагоцитозу (ПФ) визначали за відсотком клітин, які містили латекс та/або БЦЖ, також розраховували бактеріальне навантаження (БН) Мф та їх функціональний резерв (ФР) [17]. Перебіг вакцинного процесу оцінювали за кількістю загиблих тварин протягом 2-х місяців після вакцинації та тривалістю їхнього життя.

Результати та їх обговорення.

Як показали результати імунологічних досліджень, проведення імунотерапії із застосуванням ω -3 ПНЖК сприяло нормалізації вмісту Мф та нейтрофілоцитів (Нф) в перитонеальному ексудаті тварин з макрофагальною імуносупресією, що супроводжувалося зменшенням вмісту лімфоцитів (Лф). В периферичній крові цих тварин також відбувалося достовірне збільшення чисельності Нф, проте їх вміст, а також кількість мононуклеарів залишалися низькими (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст клітин в перитонеальному ексудаті та периферичній крові тварин з макрофагальною недостатністю після імунотерапії ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон ($M \pm m$)

Вміст клітин (10^9 /л)	Групи тварин (n = 10)			
	- інтактні 0	- з макрофагальною імуносупресією		
		I	III	IV
<i>Перитонеальний ексудат</i>				
Макрофагів	1,81 \pm 0,11	1,02 \pm 0,35*	2,23 \pm 0,42 [#]	6,02 \pm 0,77* [#]
Нейтрофілів	0,28 \pm 0,02	0,08 \pm 0,02*	0,24 \pm 0,06 [#]	0,33 \pm 0,07 [#]
Лімфоцитів	1,81 \pm 0,11	1,27 \pm 0,28	1,04 \pm 0,16*	3,61 \pm 0,48* [#]
<i>Периферична кров</i>				
Моноцитів	0,91 \pm 0,13	0,41 \pm 0,03*	0,52 \pm 0,16*	0,71 \pm 0,14 [#]
Нейтрофілів	1,30 \pm 0,19	0,08 \pm 0,02*	0,24 \pm 0,06* [#]	0,33 \pm 0,07* [#]
Лімфоцитів	7,52 \pm 0,11	1,27 \pm 0,28*	1,04 \pm 0,16*	3,61 \pm 0,48* [#]

П р и м і т к и :

1. I - миші з макрофагальною недостатністю; III - миші з макрофагальною недостатністю після імунотерапії ω -3 ПНЖК, IV - миші з макрофагальною недостатністю після імунотерапії МК РНК-тилорон.
2. * - різниця показника в порівнянні з показником інтактних тварин статистично підтверджена ($p < 0,05$).
3. [#] - різниця показника в порівнянні з показником тварин I групи з макрофагальною недостатністю статистично підтверджена ($p < 0,05$).

Скорочення популяції лімфоїдних клітин підтверджувалося подальшим спустошенням тимусу та зменшенням індексів маси селезінки (табл. 2), а зростання питомого вмісту спленоцитів відбувалося за переважно рахунок клітин моноцитарно-макрофагального ряду (рис. 2).

Таблиця 2

Індекси маси тимусу і селезінки і вміст в них клітин у тварин з макрофагальною недостатністю після імунотерапії ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон ($M \pm m$)

Показники	Групи тварин (n = 10)			
	- інтактні 0	- з макрофагальною імуносупресією		
		I	III	IV
<i>Індекс маси:</i>				
- тимусу (у.о.)	0,24 ± 0,03	0,12 ± 0,02*	0,13 ± 0,01*	0,09 ± 0,01*
- селезінки (у.о.)	0,80 ± 0,09	1,35 ± 0,08*	0,97 ± 0,06 [#]	1,32 ± 0,14*
<i>Питомий вміст:</i>				
- тимоцитів (10 ⁶ /г)	34,0 ± 3,9	39,4 ± 2,4	25,8 ± 3,3 [#]	20,8 ± 3,0* [#]
- спленоцитів (10 ⁶ /г)	3,13 ± 0,24	1,96 ± 0,07*	2,67 ± 0,18 [#]	1,75 ± 0,17*

П р и м і т к и :

1. I - миші з макрофагальною недостатністю, III - тварини з макрофагальною недостатністю після імунотерапії ω -3 ПНЖК, IV - миші з макрофагальною недостатністю після імунотерапії МК РНК-тилорон.
2. * - різниця показника в порівнянні з показником інтактних тварин статистично підтверджена ($p < 0,05$).
3. # - різниця показника в порівнянні з показником тварин I групи з макрофагальною недостатністю статистично підтверджена ($p < 0,05$).

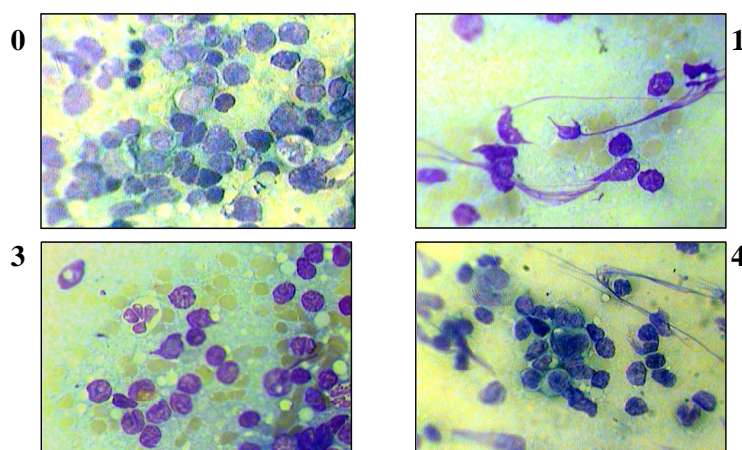


Рис. 2. Спленоцити тварин, де: 0 – інтактна миша, 1 – миша з макрофагальною імуносупресією, 3 – миша з макрофагальною імуносупресією після імунотерапії ω -3 ПНЖК, 4 – миша з макрофагальною імуносупресією після імунотерапії МК РНК-тилорон

В той же час призначення комбінованого імуномодулятора МК РНК-тилорон тваринам IV групи призводило до суттєвого підйому вмісту Мф і Лф в перитонеальному ексудаті та більш значного зростання кількості в крові Мц, Нф та Лф, хоча вміст Нф і Лф, циркулюючих в крові, залишався нижче контрольного у 3,9 та 2,1 рази, відповідно (див. табл. 1). У тварин цієї групи також спостерігалось виразне спустошення тимусу та зменшення вмісту лімфоїдних клітин в селезінці (див. табл. 2 та рис. 2).

Відновлення кількості Мф в перитонеальному ексудаті тварин з макрофагальною імуносупресією після імунотерапії ω -3 ПНЖК супроводжувалося посиленням їх здатності до поглинання латексу, нормалізацією високих рівнів кисеньзалежного метаболізму та деяким зростанням знижених показників індукованого МБТ апоптозу цих клітин (табл. 3).

Введення комбінованого імуномодулятора - індуктора інтерферону МК РНК-тилорон тваринам з макрофагальною недостатністю призводило до зменшення здатності перитонеальних Мф до поглинання нативних МБТ та МБТ, опсонізованих антитілами та комплементом, активації індукованого МБТ апоптозу цих клітин та посиленню проапоптичної дії аутосерватки, внаслідок чого абсолютний вміст нейтрофілоцитів з апоптичною морфологією в цій групі зростав у 2,3 рази і на 20,5 % знижувалася метаболічна активність цієї популяції фагоцитів (див. табл. 3).

Таблиця 3

Функціональна активність фагоцитуючих клітин тварин з макрофагальною недостатністю після імунотерапії ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон ($M \pm m$)

Показники	Групи тварин (n = 10)			
	- інтактні 0	- з макрофагальною імуносупресією		
		I	III	IV
<i>Перитонеальні макрофаги</i>				
Поглинання латексу (ПФ)	20,5 ± 0,5	29,3 ± 1,3*	40,8 ± 1,9* [#]	31,9 ± 1,7*
Поглинання МБТ (%):				
- нативних	17,9 ± 0,7	31,5 ± 0,5*	30,3 ± 1,9*	18,5 ± 0,7 [#]
- опсонізованих антитілами	22,8 ± 0,4	27,4 ± 0,7*	29,0 ± 2,6*	22,5 ± 0,8 [#]
- опсонізованих комплементом	3,1 ± 0,4	6,6 ± 1,4*	9,5 ± 1,8*	2,8 ± 0,9 [#]
НСТ-тест (%)	37,5 ± 2,3	64,4 ± 1,1*	42,8 ± 1,7* [#]	59,3 ± 2,4* [#]
Апоптоз (%):				
- спонтанний	22,6 ± 1,7	29,6 ± 1,9*	33,1 ± 3,1*	30,1 ± 2,1*
- з аутосерваткою	24,0 ± 0,6	25,6 ± 0,4	22,6 ± 0,6	27,3 ± 0,4* [#]
- індукований МБТ	107,0 ± 6,7	62,4 ± 1,3*	76,5 ± 4,8* [#]	103,0 ± 4,7 [#]

<i>Нейтрофілоцити крові</i>					
Вміст апоптичних Нф	(%)	29,5 ± 1,2	45,1 ± 1,8*	27,4 ± 0,9 [#]	18,6 ± 0,6* [#]
	(10 ⁹ /л)	0,38 ± 0,05	0,28 ± 0,03	0,31 ± 0,08	0,64 ± 0,14* [#]
Показник фагоцитозу	(%)	32,3 ± 2,4	30,5 ± 1,6	36,4 ± 1,9	36,5 ± 1,7
НСТ-тест	(%)	66,9 ± 2,0	62,4 ± 3,6	66,0 ± 4,0	49,6 ± 5,8* [#]

П р и м і т к и :

1. I - миші з макрофагальною недостатністю; III - миші з макрофагальною недостатністю після імунотерапії ω-3 ПНЖК, IV - миші з макрофагальною недостатністю після імунотерапії МК РНК-тилорон.
2. * - різниця показника в порівнянні з показником інтактних тварин статистично підтверджена (p < 0,05).
3. [#] - різниця показника в порівнянні з показником тварин I групи з макрофагальною недостатністю статистично підтверджена (p < 0,05).

Аналіз даних імунологічного дослідження, проведеного через місяць після вакцинації тварин з макрофагальною імуносупресією, показав, що хоча у мишей III групи, які перед щепленням одержали курс лікування ω-3 ПНЖК, загальний вміст клітин в перитонеальному ексудаті не відрізнявся від цього показника в контрольній (II) групі вакцинованих тварин, чисельність популяції Мф залишалася в 2,8 рази нижчою, і це супроводжувалося компенсаторним зростанням чисельності Нф та Лф. Ймовірно, тому в крові мишей цієї групи мала місце нейтропенія, тоді як кількість мононуклеарів збільшувалася і обумовлювала виразний лейкоцитоз (табл. 4).

Аналогічні зміни клітинного складу перитонеального ексудату були виявлені і в V групі тварин, які суміш ω-3 ПНЖК отримували після щеплення (див. табл. 4). Зрушення лейкограми у мишей цієї групи також характеризувалися моноцитозом, лімфоцитозом та нейтропенією, проте вони були менш виразними. Достовірних змін індексів маси тимусу і селезінки в обох цих групах виявлено не було, але питомий вміст тимоцитів та спленоцитів зростав (табл. 5), що корелювало з виразністю лімфоцитозу (див. табл. 4), і, на наш погляд, мало компенсаторний характер.

Таблиця 4

Вміст клітин в перитонеальному ексудаті та крові тварин, вакцинованих БЦЖ на фоні макрофагальної недостатності ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин, вакцинованих БЦЖ (n = 10)				
	II	- з макрофагальною імуносупресією			
		III	IV	V	VI
<i>Перитонеальний ексудат</i>					
Клітин (10^9 /л)	$9,3 \pm 0,8$	$7,4 \pm 1,8$	$2,6 \pm 1,0^\circ$	$6,50 \pm 1,7$	$6,30 \pm 1,6^\diamond$
Макрофагів (%)	$78,1 \pm 3,8$	$37,3 \pm 2,6^\circ$	$38,9 \pm 0,8^\circ$	$41,1 \pm 2,2^\circ$	$58,6 \pm 2,6^\diamond$
(10^9 /л)	$7,27 \pm 0,87$	$2,59 \pm 0,72^\circ$	$1,01 \pm 0,85^\circ$	$2,37 \pm 0,72^\circ$	$3,50 \pm 0,85^\diamond$
Нейтрофілів (%)	$1,1 \pm 0,4$	$9,4 \pm 0,9$	$7,4 \pm 0,7^\circ$	$8,8 \pm 1,5$	$4,4 \pm 0,8^\diamond$
(10^9 /л)	$0,10 \pm 0,03$	$0,73 \pm 0,21^\circ$	$0,18 \pm 0,06$	$0,53 \pm 0,18^\circ$	$0,27 \pm 0,06^\circ$
Лімфоцитів (%)	$35,6 \pm 1,7$	$57,8 \pm 1,7^\circ$	$53,8 \pm 1,1^\circ$	$49,8 \pm 2,7^\circ$	$40,1 \pm 1,7^\diamond$
(10^9 /л)	$3,25 \pm 0,38$	$4,00 \pm 0,85$	$1,41 \pm 0,25^\circ$	$3,03 \pm 0,82$	$2,56 \pm 0,73$
<i>Периферична кров</i>					
Лейкоцитів (10^9 /л)	$4,0 \pm 0,5$	$8,7 \pm 1,0$	$8,7 \pm 0,5$	$11,2 \pm 1,7$	$8,5 \pm 0,9$
Моноцитів (%)	$2,0 \pm 0,2$	$11,8 \pm 2,0^\circ$	$10,4 \pm 1,4^\circ$	$9,9 \pm 1,1^\circ$	$6,2 \pm 1,2^\diamond$
(10^9 /л)	$0,08 \pm 0,02$	$0,95 \pm 0,10^\circ$	$0,92 \pm 0,15^\circ$	$1,03 \pm 0,08^\circ$	$0,48 \pm 0,09^\diamond$
Нейтрофілів (%)	$16,1 \pm 2,1$	$12,5 \pm 1,5$	$20,6 \pm 2,9$	$22,4 \pm 3,1^\diamond$	$13,2 \pm 1,6$
(10^9 /л)	$3,23 \pm 0,53$	$1,09 \pm 0,17^\circ$	$2,09 \pm 0,27^\circ$	$1,94 \pm 0,29^\diamond$	$0,95 \pm 0,08^\diamond$
Лімфоцитів (%)	$67,5 \pm 0,4$	$75,6 \pm 1,8^\circ$	$65,5 \pm 3,2$	$68,6 \pm 3,0$	$80,7 \pm 1,8^\diamond$
(10^9 /л)	$2,78 \pm 0,27$	$6,69 \pm 0,89^\circ$	$5,67 \pm 0,69^\circ$	$8,03 \pm 0,81^\circ$	$6,50 \pm 1,0^\circ$

Примітки:

1. II – контроль вакцинації БЦЖ, III та IV миші з макрофагальною недостатністю, вакциновані після імунотерапії ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон, відповідно; V та VI – вакциновані БЦЖ миші з макрофагальною недостатністю, які після щеплення отримували імунотерапію відповідно ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон.
2. $^\circ$ - різниця показника в порівнянні з показником II групи тварин, вакцинованих БЦЖ, статистично підтверджена ($p < 0,05$).
3. $^\diamond$ - різниця показника в порівнянні з показником тварин, які отримали імунотерапію даним препаратом до вакцинації БЦЖ статистично підтверджена ($p < 0,05$).

Таблиця 5

Індекси маси тимусу й селезінки та питомий вміст в них клітин у тварин, вакцинованих БЦЖ на фоні макрофагальної недостатності ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин, вакцинованих БЦЖ (n = 10)				
	II (контрольна)	- з макрофагальною імуносупресією			
		III	IV	V	VI
<i>Індекси маси (у.о.):</i>					
- тимусу	0,19 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,12 ± 0,02°	0,14 ± 0,04	0,12 ± 0,02°
- селезінки	1,22 ± 0,11	0,99 ± 0,05	1,41 ± 0,19	0,97 ± 0,19	0,94 ± 0,14♦
<i>Питомий вміст клітин (10⁹/г) в:</i>					
- тимусі	3,21 ± 0,15	5,73 ± 0,65°	9,33 ± 1,32°	5,34 ± 0,65°	5,20 ± 0,53°♦
- селезінці	1,59 ± 0,19	2,85 ± 0,14°	2,29 ± 0,17°	2,10 ± 0,25	2,27 ± 0,19°

П р и м і т к и :

1. II – контроль вакцинації БЦЖ, III та IV миші з макрофагальною недостатністю, вакциновані після імунотерапії ω-3 ПНЖК та МК РНК-тилорон, відповідно; V та VI - вакциновані БЦЖ миші з макрофагальною недостатністю, які після щеплення отримували імунотерапію відповідно ω-3 ПНЖК та МК РНК-тилорон.
2. ° - різниця показника в порівнянні з показником II групи тварин, вакцинованих БЦЖ, статистично підтверджена ($p < 0,05$).
3. ♦ - різниця показника в порівнянні з показником тварин, які отримали імунотерапію даним препаратом до вакцинації БЦЖ статистично підтверджена ($p < 0,05$).

Відповідь на БЦЖ у тварин IV групи з макрофагальною імуносупресією, які до щеплення отримали імунотерапію МК РНК-тилорон, відбувалася на фоні виразного зниження вмісту і Мф, і Лф в перитонеальному ексудаті, попри зростання кількості всіх типів лейкоцитів в крові (див. табл. 4) і питомого вмісту клітин в тимусі та селезінці (див. табл. 5). В той же час при застосуванні цього імуномодулятора після вакцинації (в VI групі) спостерігалось максимальне відновлення вмісту Мф в перитонеальному ексудаті, але все ж таки він залишався майже вдвічі нижчим від контрольного. У мишей цієї групи відмінності клітинного складу перитоніального ексудату також виявилися менш виразними, ніж в інших групах вакцинованих тварин з макрофагальною імуносупресією, і меншими були відхилення від контролю їх лейкограм (див. табл. 4).

Звертає на себе увагу те, що, попри проведену імунотерапію, бактеріальне навантаження Мф усіх імунodefіцитних тварин зростало у 100-200 разів (табл. 6), в т.ч. за рахунок активізації ендогенної умовно-патогенної неспецифічної флори (котре підтверджувалося виразним нейтрофілозом та присутністю сторонніх мікроорганізмів в зоні ураження – перитонеальному ексудаті).

Таблиця 6

Функціональна активність макрофагів перитоніального ексудату тварин, вакцинованих БЦЖ на фоні макрофагальної недостатності ($M \pm m$)

Показник (%)	Групи тварин, вакцинованих БЦЖ (n = 10)				
	II (контроль)	- з макрофагальною імуносупресією			
		III	IV	V	VI
Показник фагоцитозу	36,6±3,6	30,3±3,5	39,1±1,6	39,3±4,2	41,0±3,1
Бактеріальне навантаження	0,10±0,02	11,50±1,63°	16,88±1,88°	17,13±2,44°♦	11,00±1,89°♦
Функціональний резерв	36,3 ± 3,4	19,9 ± 3,3°	25,0 ± 1,5°	24,3 ± 2,8°	32,5 ± 3,3
Поглинання МБТ:					
- нативних	29,3 ± 2,1	31,5 ± 0,5	18,5 ± 0,7°	30,3 ± 1,9	31,5 ± 0,7
- опсонізованих	43,6 ± 2,8	27,4 ± 0,5°	20,5 ± 0,8°	29,0 ± 2,6°	27,4 ± 0,7°♦
- опсонізованих антитілами	30,0 ± 1,2	20,8 ± 0,5°	19,8 ± 0,3°	19,5 ± 0,4°	20,8 ± 0,5°
- опсонізованих комплексом	13,6 ± 2,9	6,6 ± 1,1°	1,8 ± 0,9°♦	9,5 ± 2,8	6,6 ± 1,1♦
НСТ-тест	36,6 ± 3,6	30,3 ± 3,5	39,1 ± 1,6	39,3 ± 4,2	41,0 ± 3,1
Апоптоз	0,10 ± 0,02	11,50±1,63°	16,88 ± 1,88°	17,13 ± 2,44°♦	11,00 ± 1,89°♦

П р и м і т к и :

1. II – контроль вакцинації БЦЖ, III та IV миші з макрофагальною недостатністю, вакциновані після імунотерапії ω-3 ПНЖК та МК РНК-тилорон, відповідно; V та VI – вакциновані БЦЖ миші з макрофагальною недостатністю, які після щеплення отримували імунотерапію відповідно ω-3 ПНЖК та МК РНК-тилорон.
2. ° - різниця показника в порівнянні з показником II групи тварин, вакцинованих БЦЖ, статистично підтверджена ($p < 0,05$).
3. ♦ - різниця показника в порівнянні з показником тварин, які отримали імунотерапію даним препаратом до вакцинації БЦЖ статистично підтверджена ($p < 0,05$).

Саме це послужило підставою відмовитися від подальшого моделювання у вакцинованих тварин експериментального ТБ і продовжити спостереження ще протягом 1 місяця.

Треба зазначити, що у мишей III та VI груп, які отримали суміш ω -3 ПНЖК до щеплення та МК РНК-тилорон після нього, бактеріальне навантаження було нижчим, ніж в двох інших групах імунодефіцитних тварин, вакцинованих БЦЖ. Крім того, лише в VI групі показник функціонального резерву Мф не відрізнявся від контрольного, в той час як у мишей III – V груп мало місце його достовірне зменшення, що ймовірно, обумовлювало низьку здатність перитонеальних Мф цих тварин до поглинання МБТ, опсонізованих як антитілами, так і комплементом: причому найгірші показники були зафіксовані у мишей IV групи, котрі отримали МК РНК-тилорон до щеплення (див. табл. 6).

Надмірну активацію кисеньзалежного метаболізму Мф було визначено лише у тварин цієї групи, у тварин VI групи, котрі даний імуномодулятор отримали після вакцинації, цей показник не відрізнявся від контрольного (див. табл. 6). В той же час під впливом суміші ω -3 ПНЖК продукція перитонеальними Мф супероксидного аніону в III та V дослідних групах гальмувалася, виразніше – при застосуванні цього препарату до щеплення (див. табл. 6).

В жодній групі суттєвих змін інтенсивності апоптозу перитонеальних Мф в порівнянні з цим показником контрольних вакцинованих тварин виявлено не було. З огляду на моноцитоз, який було зафіксовано в крові мишей усіх цих груп (див. табл. 5), можна зробити припущення, що скорочення вмісту Мф в зоні ураження відбувалося переважно внаслідок їх некрозу через високе бактеріальне навантаження.

Отже, максимальне наближення до контрольних значень показників функціонального стану перитонеальних Мф тварин, вакцинованих БЦЖ на фоні макрофагальної імуносупресії, було зафіксоване при застосуванні комбінованого імуномодулятора МК РНК-тилорон після щеплення (рис. 3), що може обумовлюватися здатністю нуклеїнових кислот, що входять до його складу, посилювати репараційні процеси. Але попри явну імунологічну ефективність, біологічні показники за тривалістю життя тварин та кількістю особин, що вижили протягом 2 місяців після вакцинації, виявилися кращими в V групі, тобто там, де після щеплення використовували суміш ω -3 ПНЖК (рис. 4). На наш погляд, це може бути пов'язано з антиоксидантними та цитопротекторними властивостями даного лікарського засобу.

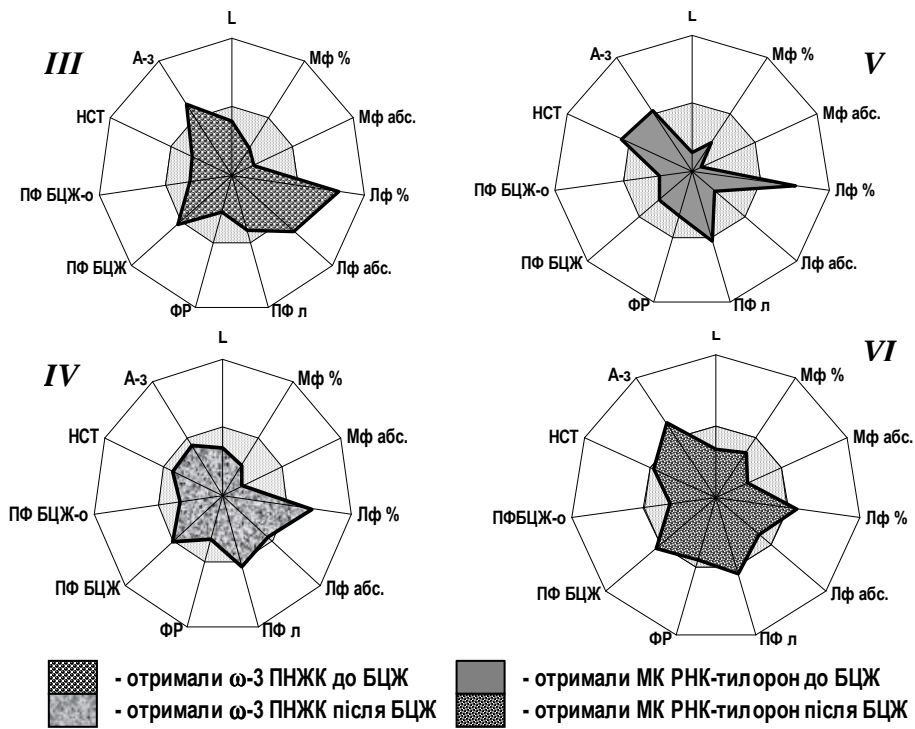


Рис. 3. Стан перитонеальних макрофагів мишей з макрофагальною імуносупресією, щеплених БЦЖ, де: III-VI – групи тварин

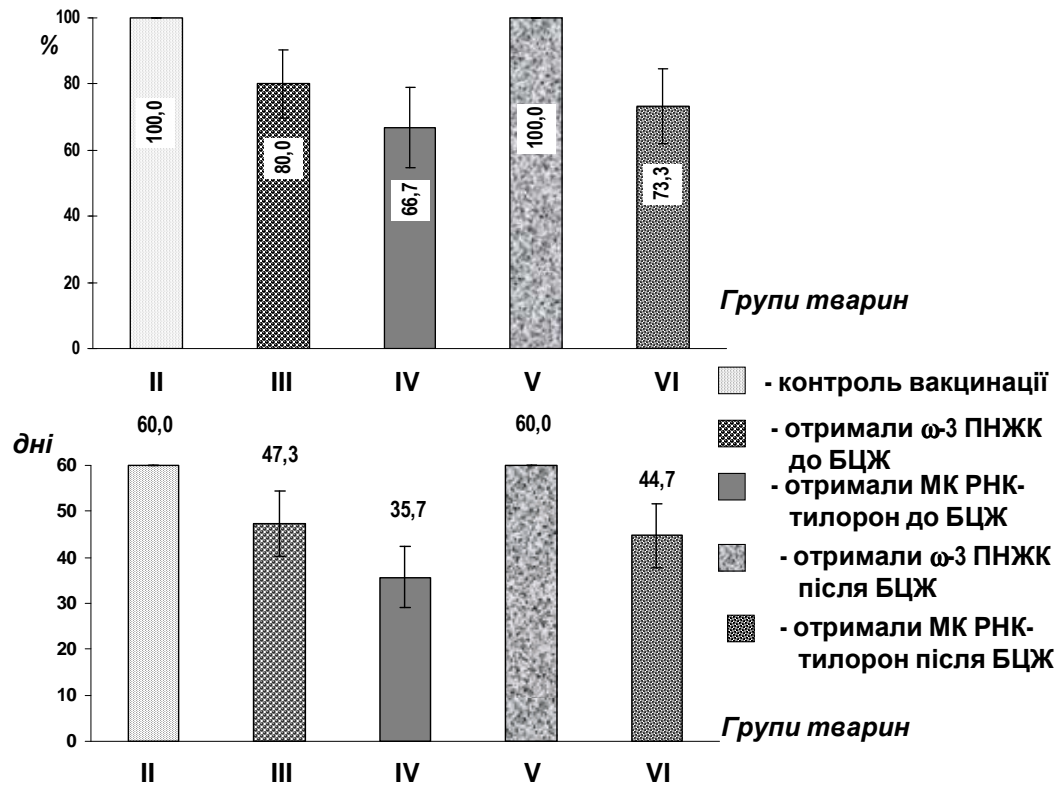


Рис. 4. Кількість тварин з макрофагальною імуносупресією, що вижили протягом 60 днів після вакцинації БЦЖ та середня тривалість їхнього життя

Висновки

Проведення імунокорекції сумішшю ω -3 ПНЖК та МК РНК-тилорон тваринам з макрофагальною імуносупресією попереджало їх загибель при наступній вакцинації БЦЖ у 80,0 % та 66,7 % випадках, відповідно. Але через поглиблення імуносупресії при щепленні тварин та виникнення мікст-інфекцій, ці лікарські засоби не можуть бути рекомендовані для підготовки до протитуберкульозної вакцинації при імуносупресії в системі мононуклеарних фагоцитів, і наявність виразного (II-III ступеня) їх пригнічення має вважатися абсолютним протипоказанням для проведення специфічної протитуберкульозної імунопрофілактики.

Проте, якщо щеплення БЦЖ попри існуючі протипоказання все ж таки було зроблено, для запобігання виникнення тяжких ускладнень крім етіотропної терапії, доречно застосовувати препарати, які стимулюють репараційні процеси в клітинах та зменшують метаболічні розлади. Застосування індукторів ендogenous інтерферону в даному випадку недоцільно, а питання замісної цитокінотерапії при лікуванні та профілактиці ускладнень протитуберкульозної вакцинації, проведеної на фоні моноцитарно-макрофагального імунодефіциту, потребують окремого вивчення.

ЛІТЕРАТУРА

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. *Білогорцева, О.І.* Імунопрофілактика туберкульозу у дітей: проблеми і перспективи [Текст] / *О.І. Білогорцева* // Український пульмонолог. журн. – 2008. – № 3, додаток. – С. 29–30.
3. Вакцинація БЦЖ: характеристика препаратів и причини поствакцинальних ускладнень [Текст] / *Д.Т. Леви, В.А. Аксенова, Н.Р. Такирова, Н.В. Александрова* // Проблемы туберкулеза. – 1999. – № 4. – С. 4–7.
4. Вплив суміші омега-3 поліненасичених жирних кислот та молекулярного комплексу РНК-тилорон на формування протитуберкульозного імунітету у тварин з макрофагальним імунодефіцитом [Електронний ресурс] / *І.Ф.Ільїнська, О.В. Гриценко, О.М. Зубрійчук, А.І. Барбова.* – Режим доступу : <http://ifp.pulm/ftp1/original/2009/ilyinskaya2009.pdf> .
5. Изучение поглотительной способности нейтрофилов крови с использованием инертных частиц латекса [Текст] / *С.Г. Потапова, В.С. Хрустиков, В.Н. Демидова, Р.И. Козинец* // Пробл. гематологии. – 1974. – № 9. – С. 58–59.
6. *Ільїнська, І.Ф.* Серологічні та генетичні дослідження в діагностиці ВІЛ-інфекції у дітей, народжених жінками, інфікованими вірусом імунодефіциту людини [Текст] / *І.Ф. Ільїнська* // Журн. практ. лікаря. – 2000. – № 6. – С. 17–24.
7. *Ільїнська, І.Ф.* Питання діагностики ВІЛ-інфекції у вагітних жінок та дітей перших півтора років життя (аналітичний огляд) [Текст] / *І.Ф. Ільїнська, В.М. Мельник* // Журн. АМН. – 2001. – № 4. – С. 750–762.
8. *Ільїнська, І.Ф.* Визначення поглинальної здатності фагоцитуючих клітин індукваного харкотиння у хворих з бронхо-легеневими захворюваннями [Текст] / *І.Ф. Ільїнська, Ю.О. Матвієнко, Л.В. Ареф'єва* // Лаб. діагностика. – 2006. – Т. 38., № 4. – С. 26–30.
9. Інтенсивність поглинання нативних та опсонізованих мікобактерій фагоцитуючими клітинами *in vitro* у хворих на туберкульоз та хронічні неспецифічні захворювання легень [Текст] / *І.Ф. Ільїнська, О.М. Рекалова, Л.В. Ареф'єва, Ю.О. Матвієнко* // Укр. пульмонологічний журн. – 2004. – № 4. – С. 42–47.
10. *Карпов, А.В.* Изучение интерферогенных свойств комплексов дрожжевая РНК - тилорон в культуре клеток [Текст] / *А.В. Карпов, Н.М. Жолобак* // Антибиотики и химиотерапия. – 1995. – Т. 40, 5. – С. 20–23.

11. *Круглова, И. Ф.* Способ моделирования недостаточности макрофагального звена иммунитета [Текст] / И. Ф. Круглова, К. Ф. Чернушенко, Л. П. Кадан // Иммунология и аллергология. – 1998. – С. 28 – 31.
12. Наказ МООЗ України № 48 від 03.02.2006. Про порядок проведення профілактичних щеплень в Україні та контроль якості й обігу медичних імунобіологічних препаратів [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=6114> .
13. *Нечаева, О. Б.* Эффективность прививок против туберкулеза [Текст] / О. Б. Нечаева // Пробл. туберкулеза. – 2001. – № 1. – С. 13–14.
14. *Такирова, Н.Р.* Осложнения после вакцинации БЦЖ у детей на территории России (частота, причины возникновения и клинические проявления) [Электронный ресурс] . – Режим доступа : <http://nature.web.ru/db/author.html?id=10745> .
15. Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапах лечения [Текст] / Киевский НИИ фтизиатрии и пульмонологии им. Ф.Г. Яновского. – Киев, 1988. – 18 с.
16. *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.
17. WHO Global tuberculosis programme and global programme on vaccines: statement on BCG revaccination for the prevention of tuberculosis [Text] / WHO // Weekly Epidem. Rec. – 1995. – № 32. – С. 229–230.