

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ В. Н. КАРАЗІНА

КОВАЛЕНКО ТЕТЯНА ІГОРІВНА

УДК 612.071.1:612.66:616-097.1-092.9

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ КЛІТИННОГО ТА
ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПІСЛЯ ДІЇ ІНФЕКЦІЙНИХ АНТИГЕНІВ В
ЕКСПЕРИМЕНТІ**

03.00.13 – фізіологія людини і тварин

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків – 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Клімова Олена Михайлівна,
ДУ «Інститут загальної та
невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева
НАМН України», м. Харків
завідувач діагностичної лабораторії
з імуноферментним та
імунофлюоресцентним аналізом

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Коляда Тетяна Іванівна,
ДУ «Інститут мікробіології та імунології
ім. І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків
завідувач лабораторії клінічної імунології та
алергології

доктор біологічних наук, професор
Малоштан Людмила Миколаївна,
Національний фармацевтичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, м. Харків
завідувач кафедри фізіології та анатомії людини

Захист відбудеться «15» грудня 2017 р. о 15.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 64.051.17 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ауд. 7-14

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розісланий 14 листопада 2017 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

М. К. Ковальова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Для вирішення фундаментальних проблем геріатрії й медичної геронтологічної практики важливим є з'ясування наявності та характеру можливих вікових змін імунної відповіді на природні та синтетичні антигени в онтогенезі на тлі формування вторинного адаптивного імунітету (Башук В. В. и др., 2012). Захист від зовнішніх і внутрішніх негативних факторів в організмі здійснюється за допомогою первинної вродженої ланки резистентності, а також адаптивних гуморальних і клітинних факторів імунологічного захисту. На всіх етапах онтогенезу розпізнавання і елімінації чужорідних антигенів в організмі поетапно включаються різні ланки імунітету, які спільно забезпечують всі типи імунологічного захисту: фагоцитарний бар'єр, опсонізуюча дія білків системи комплементу та імуноглобулінів, кілерна або супресорна функція Т-лімфоцитів, кисневозалежна фагоцитарна активність нейтрофілів і утворення циркулюючих імунних комплексів. Організм вибирає ті чи інші механізми захисту від чужорідних антигенів залежно від їх імуногенності й патогенності (Богданова Н. М. и др., 2013; Татарко С. В., 2014). Перший етап забезпечення захисту від чужорідних антигенів здійснюється за допомогою бар'єрної функції антигенпрезентуючих клітин, знищення антигену залежить від їхньої здатності до фагоцитозу (Воробьева Н. В., 2015). Важливим є також наступний каскад індивідуальних реакцій, що забезпечують імунний захист на всіх етапах онтогенезу (Gomez G. G. et al., 2007). Відомо, що при недостатній функції однієї з ланок імунореактивності може компенсаторно активуватися або інгібуватися функція інших факторів імунітету (Дранник Г. Н., 2010; Ярилин А. А., 2010). Іноді на тлі пролонгованого впливу інфекційних антигенів можуть формуватися перехресні аутоімунні реакції або імунологічна анергія (Петров Р. В., 1982; Черешнева М. В. и др., 2011). Порушення бар'єрної захисної функції може відбуватися через недостатність ендоцитозу антигенів у фагоцитуючих клітинах, яке може сприяти створенню осередків інфекції в організмі, хронічної сенсibiliзації інших факторів імунітету (Ризопулу А. П. и др., 2012). Це супроводжується накопиченням в організмі великої кількості цитотоксичних чинників різної природи, які можуть формувати локальні або системні запальні процеси (Ковальчук Л. В. и др., 2012; Хаитов Р. М. и др., 2009). Відповідно до сучасної концепції біогеронтології, порушення функціонального стану імунної та ендокринної систем є однією з основних причин прискореного старіння (Анисимов В. Н., 2003; Бажанова Е. Д., 2012; Kolb G. F. et al., 2015; Thomas R. C. et al., 2014). З віком відбуваються функціональні зміни регуляторних механізмів імунонейроендокринного комплексу, змінюються когнітивні функції (пам'ять, увага, орієнтація, вища психічна діяльність) (Малежик Л. П. и др., 2014; Семикина Е. Л. и др., 2012).

За даними деяких авторів при старінні знижується рівень імунної відповіді, порушується здатність лімфоцитів у передачі міжклітинних сигналів, зменшується різноманітність репертуару Т-клітинних рецепторів, В ендокринній системі порушується продукція статевих гормонів. Ці процеси взаємопов'язані, оскільки стероїди пригнічують функцію імунної системи (Mailliard R. B. et al., 2013).

Інші автори вважають, що недостатньо висвітлено в світовій науковій літературі проблема вікових відмінностей адаптаційних можливостей організму (Бодров В. А., 2012; Calin-Jageman R. J. et al., 2007). Отримані дані про зміни метаболічного стану, рівня експресії генів, функції імунної та нейроендокринної систем при старінні змушують припустити наявність різної здатності до адаптації молодих і старих організмів (Божков А. И. и др., 2006). Перевести на якісно новий рівень уявлення про здатність імунної системи до адаптації в різних вікових групах дозволяють дані про продукцію імунокомпетентними клітинами численних регуляторних молекул (цитокінів, факторів росту, стимуляторів проліферації) (Бережная Н. М., 2007; Беспалова И. Д. и др., 2013). Недостатньо вивчені молекулярні події і клітинні взаємодії, що лежать в основі механізмів імунореактивності, що забезпечують розвиток адаптації на різних етапах онтогенезу. Є дані, що тварини в залежності від віку у відповідь на дію ксенобіотиків змінюють вираженість й спрямованість метаболічних реакцій (Кулимбетов М. Т. и др., 2009; Божков А. И. и др., 2014). Однак не ясні причини вікових відмінностей реакції організмів на токсичні фактори. Дотепер недостатньо даних про зміни регуляторних механізмів імунної відповіді залежно від віку.

Розвиток концепції адаптогенеза неможливий без урахування онтогенетичних особливостей індукції бар'єрних вроджених і адаптивних факторів резистентності (Божков А. И., 2010; Vinay D. S. et al., 2010). Важливим є з'ясування молекулярних і клітинних механізмів, що беруть участь в імуногенезі в різних вікових групах під дією інфекційних антигенів. Актуальним є розробка і обґрунтування різних підходів для усунення прискорення старіння і вікової патології, що спрямовані на збільшення середньої тривалості життя, збереження активного довголіття й досягнення видової межі життя (Pavlova T. V. et al., 2012).

Можливо, дослідження імунореактивності після дії інфекційних чинників на експериментальних тваринах різного віку допоможе не тільки зрозуміти молекулярні механізми формування адаптивних пристосувань, але і прояснити причини старіння організмів. Тому сьогодні актуальним є вивчення етапів формування типів імунорезистентності при індукованих запальних процесах в експерименті на тваринах різного віку і після застосування імунокоректорів на тлі індукованого запального процесу. Вивчення особливостей імуногенезу на тлі індукованого запалення на експериментальних моделях тварин різного віку дозволять обґрунтувати підходи до адресної імунокорекції та імунопрофілактики в різних вікових групах. Для розуміння особливостей імунофізіологічних процесів важливим є комплексний підхід при аналізі результатів, які свідчать про порушення функцій фагоцитуючих клітин і зміни гуморальних реакцій імунітету у віковому аспекті.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження, проведені в дисертаційній роботі, виконані в період з 2014 по 2017 рр. у рамках фрагмента теми планової наукової роботи кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д. П. Гриньова Харківського національного медичного університету «Експериментальне мікробіологічне обґрунтування протимікробної терапії гнійно-запальних захворювань» (номер державної реєстрації 0114U003390).

А також у рамках фрагмента теми НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна «Розробка теорії експериментальної регуляції тривалості онтогенезу» (номер державної реєстрації 0115U000486).

Мета та завдання досліджень. Метою цієї роботи було дослідження динаміки в залежності від віку імунореактивності на інфекційні агенти та можливості корекції цих станів імуотропними препаратами.

Для реалізації поставленої мети були визначені такі завдання:

1. Оцінити зміну показників вродженого й адаптивного імунітету (активність фагоцитозу, концентрацію опсонізуючого фактора С3 фрагмента комплементу, вміст імуноглобулінів класів Ig A, Ig M, Ig G і рівень ЦІК у контрольних тварин різного віку).
2. Дослідити показники кисневонезалежного й кисневозалежного фагоцитозу, концентрації С3 фрагмента комплементу, вміст імуноглобулінів А, М, G і рівень циркулюючих імунних комплексів у тварин різного віку із запаленням, після інфікування суспензією *P. aeruginosa*.
3. Проаналізувати зміну показників активності вродженого й адаптивного імунітету тварин різного віку з індукованою запальною реакцією після інфікування суспензією *E. coli*.
4. Дослідити зміну активності фагоцитозу, концентрації С3 фрагмента комплементу і вміст ЦІК у контрольних тварин різного віку після введення імуномодуляторів П. та М.
5. Порівняти зміни активності фагоцитозу, вміст і споживання С3 фрагмента комплементу й зміну концентрації циркулюючих імунних комплексів у тварин різного віку, інфікованих суспензією *E. coli* на тлі застосування імуномодулятора П. на різних етапах запального процесу.
6. Дослідити в динаміці показники фагоцитозу, концентрацію С3 фрагмента комплементу, циркулюючих імунних комплексів у тварин різного віку, інфікованих суспензією *E. coli* на тлі застосування імуномодулятора М. на різних етапах запального процесу.

Об'єкт дослідження – фактори імунітету в експериментальних тварин різного віку.

Предмет дослідження – оцінка зміни показників імунорезистентності в залежності від віку після застосування різних інфекційних антигенів та після дії різних імунокоректорів.

Методи дослідження – фізіологічні дослідження (рухова активність, температура, вага, апетит, гемодинаміка (частота серцевих скорочень, задишка), вологість шкірних покривів і вовни); імунологічні дослідження – визначали фагоцитарну активність нейтрофілів – світлова мікроскопія, визначали утворення циркулюючих імунних комплексів спектрофотометричним методом, концентрацію імуноглобулінів класів А, М, G імуноферментним аналізом, а також визначали вміст С3 фрагмента комплементу турбодиметричним методом. Імунологічні дослідження проводили у діагностичній лабораторії з імуноферментним та імунофлуоресцентним аналізом ДУ "Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМН України". Свідоцтво про атестацію № 100-118/2012.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше при порівнянні імунологічних показників у контрольних груп тварин різного віку виявили відмінності кількісних змін показників вродженої ланки імунітету. Контрольні тварини двох вікових груп не відрізнялися показниками кисневонезалежного фагоцитозу. Контрольні тварини старшої групи порівняно з 3 місячними тваринами показали знижену активацію кисневонезалежного фагоцитозу в НСТ дослідженні. У молодих контрольних тварин спостерігалось підвищення концентрації фактора опсонізації С3 фрагмента комплементу, що свідчить про наявність більш високої потенціальної реактивності в цій групі. Уперше показано, що молоді й старі тварини після інфікування грамнегативними мікроорганізмами (*P. aeruginosa* і *E. coli*) обирають різну стратегію для процесингу бактеріальних антигенів. У тварин старшої групи після інфікування досліджуваними мікроорганізмами були більш виражені реакції кисневонезалежного й кисневонезалежного фагоцитозу і С3 фрагмента комплементу. Уперше показано, що при дослідженні ефектів різних інфекційних антигенів у двох групах спостерігали більш виражену локальну й системну запальну реакцію після введення *E. coli* порівняно із введенням *P. aeruginosa*.

Уперше показано, що на 5-ту добу експерименту після індукції запального процесу в експериментальних тварин різного віку була знижена концентрація Ig A, вочевидь за рахунок споживання його при системному запаленні. В ході дослідження виявили невеликі відмінності в кількісних характеристиках й динаміці зміни показників ЦІК з 3 по 7 добу бактеріальної контамінації між двома віковими групами тварин.

Уперше показано, що на тлі запального процесу, індукованого введенням *E. coli*, застосування імунокоректора П. через 24 години після введення інфекційного антигена в двох вікових групах експериментальних тварин достовірно збільшувалася активація гідролітичних ферментів лізосом при ендоцитозі антигенів та індекс стимуляції кисневонезалежного фагоцитозу при участі НАДФ-Н, особливо на ранніх термінах запалення. Застосування імунокоректора превентивно до індукції запального процесу – *E. coli*, навпаки, викликало інгібування кисневонезалежного фагоцитозу.

Уперше показано, що після застосування композитного препарату М. після дії патогена *E. coli* у тварин двох вікових груп спостерігали іншу реакцію – у вигляді стимуляції активності фагоцитозу та збільшення концентрації опонізуючого фактора – С3 фрагмента комплементу, що свідчить про наявність подібних рівнів реактивності і резистентності у двох вікових групах. Введення імунокоректора М. превентивно до інфікування *E. coli* у експериментальних тварин різного віку викликало різну реакцію. У молодих експериментальних тварин достовірно знижувалась активність фагоцитозу на 3 добу експерименту. В старшій віковій групі на тлі бактеріального зараження *E. coli* і введення М. відбувалася активація кисневонезалежного фагоцитозу нейтрофілів протягом усього експерименту.

Показано, що досліджувані імунокоректори мають різні механізми впливу на експериментальних тварин залежно від віку тварин і термінів введення імунокоректорів на різних стадіях запалення. Отримані результати дозволяють

обґрунтувати доцільність застосування досліджуваних імунокоректорів у залежності від стадії запального процесу та віку. Уперше було показано, що основну характеристику імунної відповіді молодих тварин можна вважати їхню високу реактивність на чужорідні агенти, а у старих тварин, навпаки, виявили вищу резистентність до інфекційних антигенів при індукції запальної реакції.

Практичне значення одержаних результатів. Матеріали цієї дисертаційної роботи можуть використовуватися в практиці при з'ясуванні імунологічного резерву організму різної вікової категорії під дією грам негативних збудників, які містять у своєму складі ліпополісахарид. Ці дослідження можуть бути використані для вибору імуномодуючих препаратів на різних етапах запального процесу з урахуванням вікових особливостей організму та розроблення методичних рекомендацій. Імунокоректор П. доцільно застосовувати після індукції запального процесу мікроорганізмами, оскільки він має виражену антиоксидантну активність. Композитний імунопрепарат М. краще застосовувати превентивно до індукції запалення через те, що цей препарат стимулює експресію генів прооксидантних ферментів. Матеріали цієї роботи впроваджені у науково-педагогічний процес кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. Д. П. Гриньова, а також у спеціалізований курс «Лабораторна діагностика» у Харківському національному медичному університеті (протокол № 16 від 31.08.2016 р.).

Біоетична експертиза. Роботу з лабораторними тваринами (щурами) проводили відповідно до вимог положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та згідно відповідних Законів України. Комісією НДІ біології порушень при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 1 від 19.01.2017 р.)

Особистий внесок здобувача. Дисертант самостійно написав огляд літератури, розділ «Матеріали та методи». Дисертантом проведено інформаційний пошук даних наукової літератури за темою дисертаційної роботи. Проведено особисто експериментальні дослідження та їхню статистичну обробку. Підготовлено матеріали публікацій. Аналіз та інтерпретація одержаних результатів проведені спільно з науковим керівником, професором, д.б.н. Клімовою О. М.

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати роботи доповідалися на науково-практичних конференціях: міжнародна наукова конференція «Механізми функціонування фізіологічних систем», (Львів, 2014); міжнародна науково-практична конференція «Пріоритети сучасної медицини: теорія і практика», (Одеса, 2015); міжнародна науково-практична конференція «Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями», (Харків, 2015); міжвузівська конференція молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття», (Харків, 2015); 8th International Scientific Interdisciplinary Conference for medical students and young scientists, (Kharkiv, 2015); міжнародна науково-практична конференція з медицини «Медична наука і сучасність», (Київ, 2015); міжнародна науково-практична конференція «Нове і традиційне в дослідженнях сучасних представників медичної науки», (Львів, 2016).

Публікації. За результатами досліджень, наведених в дисертаційній роботі, опубліковано 18 наукових робіт, з яких: 3 статті в спеціалізованих періодичних виданнях, що входять до переліку наукових фахових видань України; 2 статті, індексовані в наукометричних базах, 1 електронне видання, 2 зарубіжні статті, 3 статті у вітчизняних журналах та 7 тез в матеріалах науково-практичних конференцій різного рівня.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, результатів й обговорення, висновків, списку використаних джерел, який включає 186 посилань. Повний обсяг роботи становить 137 сторінок, 24 таблиці, 7 рисунків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

В огляді літератури проводиться аналіз сучасного стану знань щодо механізмів вродженої імунорезистентності й адаптивного клітинного та гуморального імунітету. Розглядається дія механізму ліпополісахариду грамнегативних антигенів на імунну систему організму, а також імунорезистентність організму після дії різноманітних імунокоректорів на різних за віком тваринах.

Матеріали та методи дослідження. Під час дослідження використовували контрольні групи тварин (щурів) різного віку – КГ (n=24), та експериментальні групи тварин (щурів) різного віку – ЕГ (n=168). Тварини зрощувались і містились в умовах стандартного світлового та харчового режиму (вода і їжа *ad libitum*) у виварії ХНМУ відповідно до вимог «Спільних етичних принципів проведення експериментів на тваринах» (Україна, 2011). Дослідження проводились в два етапи. Перший етап досліджень виконували на білих щурах-самцях 3 місячного віку – («молоді») масою 100-140 г. і 22 місячні («старі») з масою тіла 200-240 г. І (3 місячні самці, тваринам цієї групи внутрішньочеревно вводили 1,5 мл стерильного фізіологічного розчину) (n=4) і ІІ (22 місячні тварини, яким внутрішньочеревинно вводили 1,5 мл стерильного фізіологічного розчину) (n=4) групи щурів служили контролем. ІІІ і ІV групі тварин вводили внутрішньочеревинно добову агарову культуру *Pseudomonas aeruginosa* № 27835 АТСС (вводили 1,5 мл суспензії бактерій, яка містила 10^9 КУО / мл) (n=36). V і VI групі тварин вводили внутрішньочеревинно добову агарову культуру *Escherichia coli* № 25592 (F-50) АТСС (вводили 1,5 мл суспензії бактерій, яка містила 10^9 КУО / мл) (n=36). Введення бактеріальних суспензій експериментальним тваринам є моделлю, що дозволяє індукувати запальні реакції. Контрольних та інфікованих тварин виводили з експерименту шляхом декапітації на 3-ю, 5-у і 7-у добу. На другому етапі експерименту з двох бактеріальних суспензій *P. aeruginosa* і *E. coli* була обрана суспензія *E. coli* оскільки вона володіла більш вираженою негативною дією на досліджувані показники імунітету. Контрольним та експериментальним тваринам вводилися різні імунокоректори на різній стадії експериментального дослідження. І а і ІІ а групи щурів були контрольними, після введення експериментального композитного препарату, що складається з амінокислот, нуклеотидів, ферментів,

вітамінів і олігопептидів – М. (n=8). Двом віковим групам тварин із запаленням, індукованим суспензією *E. coli* вводили М. по 20 мкл/кг – 3 місячним щурам (III а група) і 40 мкл/кг – 22 місячним щурам (IV а група) (n=48). I б і II б групи щурів були контрольними після введення препарату порівняння азоксимеру броміда, що містить маніт, повідон та природний антиоксидант бета-каротин – П. (ліофілізат, 6 мг, ТОВ «НПО Петровакс Фарм», Росія) (n=8). Двом віковим групам тварин із запаленням, індукованим суспензією *E. coli*, вводили П. по 0,5 мл/кг – 3 місячним щурам (III б група) і 1 мл/кг – 22 місячним щурам (IV б група) (n=48). Доза препаратів розраховувалась відповідно з терапевтичною дозою по масі тіла тварин. Ці препарати вводили експериментальним тваринам per os: одній частині групи превентивно за 48-м годин до зараження експериментальних тварин, а іншій частині групи після 24-х годин введення суспензії *E. coli* (після активації запального процесу). Контрольних та інфікованих тварин виводили з експерименту шляхом декапітації на 3-ю і 7-ю добу. Отримували біоматеріал для оцінки вродженого (активність фагоцитуючих клітин та C3 фрагмента комплементу) імунітету та рівня зміни циркулюючих імунних комплексів. Матеріалом для дослідження служили форменні елементи крові та сироватка крові контрольних та експериментальних тварин різного віку. В ході експерименту в крові визначали фагоцитарну активність нейтрофілів (Кудрявицкий А. И., 1985), визначали загальну окисно – відновлювальну активність нейтрофілів у тесті відновлення нітросинім тетразолієм НСТ-тест (Виксман М. Е., 1979) – світлова мікроскопія. У сироватці крові визначали інтенсивність утворення циркулюючих імунних комплексів (Гриневич Ю. А., 1981), показники концентрації імуноглобулінів класу А, М, G (Карпищенко А. И., 2002), а також визначення вмісту C3 фрагмента комплементу (Nilsson B., 2012).

Результати досліджень та їх обговорення

I етап експерименту. Перший етап експерименту був присвячений оцінці фізіологічних параметрів у контрольних тварин різного віку, а також після внутрішньочеревинного введення різних грамнегативних антигенів. Тому що, фізіологічний фенотип визначається реактивністю і резистентністю організму.

Оцінка фізіологічних параметрів експериментальних тварин. Оцінювалися такі фізіологічні параметри (рухова активність, температура, вага, апетит, гемодинаміка (частота серцевих скорочень, задишка), вологість шкірних покривів і вовни) за 5-ти бальною системою. У 3 місячних експериментальних тварин були знижені параметри ваги й апетиту, а також була збільшена температура тіла експериментальних тварин порівняно з контрольними тваринами, а у 22 місячних експериментальних тварин спостерігали зниження рухової активності, також спостерігали появу прискореного серцебиття, задишки та вологість шкіри.

Оцінка активності фагоцитуючих нейтрофілів контрольних тварин та в експериментальній моделі запального процесу у тварин різного віку.

ФІ – це кількість фагоцитів, ФЧ – це кількість бактерій у фагоцитах. ІЗФ – це кількість нейтрофілів, які призвели до процесингу антигенів. ФІ був досить високим

в обох вікових контрольних групах тварин та становив $(81,00 \pm 0,50)$ % у 3 місячних тварин і $(82,00 \pm 0,50)$ % у 22 місячних тварин (табл. 1).

Таблиця 1

Показники кисневонезалежного фагоцитозу контрольних тварин різного віку

№ групи	Контрольні тварини (n=4)	Показники фагоцитозу ($M \pm m$)		
		Фагоцитарний індекс (ФІ, %)	Фагоцитарне число (ФЧ, ум.од.)	Індекс завершеності фагоцитозу (ІЗФ, ум.од.)
КГ I	3 міс	$81,00 \pm 0,50$	$3,73 \pm 0,03$	$1,45 \pm 0,06$
КГ II	22 міс	$82,00 \pm 0,50$	$3,61 \pm 0,03$	$1,14 \pm 0,02$

Середня величина показника ФЧ була на одному рівні й так само не відрізнялася у тварин різного віку. Індекс завершеності фагоцитозу вказував на спроможність перетравлюючої здібності мікроорганізмів, який відповідав нормі як у молодих так і у старих контрольних тварин. Після запалення, індукованого введенням суспензії *P. aeruginosa* у 3 місячних щурів показник ФІ знижувався майже в 2 рази порівняно з контролем та становив $(48,00 \pm 2,40)$ %. ФЧ було знижене у тварин обох вікових груп. ІЗФ був декілька знижений в обох вікових групах тварин інфікованих *P. aeruginosa* порівняно з контролем (табл. 2).

Таблиця 2

Показники кисневонезалежного фагоцитозу тварин різного віку з запаленням, обумовленим введенням *P. aeruginosa*

№ групи	Вік тварин (n=6)	Показники фагоцитозу (M±m)		
		Фагоцитарний індекс (ФІ, %)	Фагоцитарне число (ФЧ, ум.од.)	Індекс завершеності фагоцитозу (ІЗФ, ум.од.)
3 доба				
ЕГ III	3 міс	48,00±2,40*	2,48±0,02	0,91±0,04
ЕГ IV	22 міс	71,00±4,10*	2,01±0,01	1,01±0,02
5 доба				
ЕГ III	3 міс	62,00±3,70*	2,39±0,02	0,80±0,03*
ЕГ IV	22 міс	52,00±3,40*	2,59±0,02	0,89±0,02
7 доба				
ЕГ III	3 міс	51,00±3,40*	2,60±0,02	1,28±0,05
ЕГ IV	22 міс	39,00±2,10*	1,82±0,01*	0,83±0,02*

Примітка: * - тут та далі достовірність відмінності з контролем $P \leq 0,05$

У 22 місячних тварин на 5-у добу ФІ знижався до $(52,00 \pm 3,40)$ % від показника контрольної групи, а у молодих тварин перетравлююча функція фагоцитів дещо зростає, але була значно нижче контрольних показників. Спостерігалось зниження ІЗФ у молодих й у старих тварин інфікованих *P. aeruginosa* на 5 добу, причому зниження ІЗФ було більш виражено у молодих тварин. Активність фагоцитозу знижувалася на 7-у добу експерименту до $(39,00 \pm 2,10)$ % у старих тварин, а у молодих тварин ФІ в ці терміни був так само нижче контролю на тлі запального процесу викликаного синьогнійною паличкою. У молодих тварин виявили деяку стабілізацію ФЧ, а у старих тварин показник ФЧ та індекс завершеності фагоцитозу були знижені та становили, відповідно $(0,83 \pm 0,02)$ ум. од. при контрольних значеннях $(1,14 \pm 0,02)$ ум. од.

У 3 місячних тварин (V група) та 22 місячних тварин (VI група) після введення *E. coli* спостерігали більш виражене пригнічення фагоцитарної активності на ранніх етапах експерименту, порівняно з аналогічними змінами після введення антигена *P. aeruginosa*. Такий показник, як ФЧ на всіх етапах дослідження направлено змінювався аналогічно такому після введення синьогнійної палички. Показник індексу завершеності фагоцитозу у старих тварин був трохи збільшений на ранніх етапах експерименту та становив: $(1,18 \pm 0,01)$ ум. од. при $(1,14 \pm 0,02)$ ум. од. в контролі. У молодих тварин на 7 добу експерименту виявили зниження перетравлюючій функції нейтрофілів (ІЗФ), ніж у тварин старшої експериментальної групи $(1,01 \pm 0,02)$ ум. од., яке становило $(0,97 \pm 0,01)$ ум. од. (табл. 3).

Таблиця 3

Показники кисневонезалежного фагоцитозу тварин різного віку з запаленням індукованим введенням *E. coli*

№ групи	Вік тварин (n=6)	Показники фагоцитозу (M±m)		
		Фагоцитарний індекс (ФІ, %)	Фагоцитарне число (ФЧ, ум.од.)	Індекс завершеності фагоцитозу (ІЗФ, ум.од.)
3 доба				
ЕГ V	3 міс	32,00±2,40*	2,51±0,02	1,31±0,05
ЕГ VI	22 міс	51,00±3,40*	2,55±0,02	1,18±0,01
5 доба				
ЕГ V	3 міс	68,00±3,70*	2,19±0,02	1,20±0,04
ЕГ VI	22 міс	45,00±2,70*	2,22±0,02	1,16±0,01
7 доба				
ЕГ V	3 міс	57,00±5,90*	2,33±0,02	0,97±0,01*
ЕГ VI	22 міс	66,00±3,40*	2,62±0,02	1,01±0,02

Більш негативний вплив на досліджувані показники імунітету було після дії антигену *E. coli*. У 3 місячних експериментальних тварин в ході експерименту виявили більш виражене зниження імунорезистентності вродженої ланки імунітету на вплив *E. coli* порівняно зі старшою групою експериментальних тварин.

Показники кисневозалежного фагоцитозу нейтрофілів контрольних тварин та тварин з експериментальною інфекцією різного віку.

У контрольних тварин різного віку виявили значну різницю в показниках НСТ-тесту. У молодих контрольних тварин ферментативна активність більш активна в стимульованому тесті, на низький метаболічний резерв фагоцитів в старшій віковій контрольній групі вказує низький показник стимульованого тесту ($54,00 \pm 2,50$) % проти ($77,00 \pm 2,90$) % у молодих. У спонтанному тесті достовірних відмінностей між віковими групами не спостерігалось.

Під час експерименту виявили, що інтенсивність ферментативної активності у молодих контрольних тварин в 1,4 рази перевищувала показник індексу стимуляції (ІС) такого у тварин старшої групи та становив ($2,70 \pm 0,09$) % у молодих і ($1,80 \pm 0,06$) % у старих експериментальних тварин (табл. 4).

Таблиця 4

Показники кисневозалежного фагоцитозу контрольних тварин різного віку

№ групи	Вік тварин (n=4)	Спонтанна і індукована активність ферменту НАДФ-Н у фагоцитах ($M \pm m$)				
		% СП	% СТ	СЦК СП	СЦК СТ	% ІС
КГ І	3 міс	$29,00 \pm 0,40$	$77,00 \pm 2,90^*$	$0,32 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,02$	$2,70 \pm 0,09^*$
КГ ІІ	22 міс	$30,00 \pm 0,50$	$54,00 \pm 2,50$	$0,21 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,01$	$1,80 \pm 0,06$

Примітка: * - достовірність відмінності КГ І проти КГ ІІ $P \leq 0,05$

Після введення антигену *P. aeruginosa* на 3-ю добу експерименту у молодих тварин збільшувався показник спонтанно окислювального тесту в 2,5 рази і становив ($71,00 \pm 3,50$) %, а стимульованого тесту в 1,2 рази ($82,00 \pm 2,10$) % з контролем відповідно. Але на 5 добу експерименту у молодих тварин показники спонтанного й стимульованого тесту знижуються порівняно з контролем. На 7-у добу у 3-х місячних тварин виявили достовірне зниження стимульованого тесту, який становив ($46,00 \pm 3,60$) % при ($77,00 \pm 2,90$) % в контролі (табл. 5).

Індекс стимуляції у молодих тварин з моделлю запалення, індукованим після введення антигена *E. coli* на всіх етапах експерименту знижувався порівняно з контролем, що свідчить про низький метаболічний резерв фагоцитів у молодих тварин. Пригнічення показників кисневозалежного фагоцитозу нейтрофілів свідчить про незадовільний стан імунокомпетентних клітин у молодих експериментальних тварин.

У старих же експериментальних тварин з моделлю запалення антигеном *E. coli* лише на 3 добу після введення мікроорганізму спостерігалось збільшення показника індексу стимуляції ($2,04 \pm 0,09$) % при ($1,8 \pm 0,06$) % в контролі.

Таблиця 5

Показники кисневозалежного фагоцитозу тварин різного віку з моделлю запалення, індукованого введенням *P. aeruginosa*

№ групи	Вік тварин (n=6)	Спонтанна і індукована активність ферменту НАДФ-Н у фагоцитах (M±m)				
		% СП	% СТ	СЦК СП	СЦК СТ	% ІС
3 доба						
ЕГ III	3 міс	71,00±3,50*	82,00±2,10	0,64±0,04	1,34±0,06*	1,15±0,04*
ЕГ IV	22 міс	33,00±2,10	70,00±5,80*	0,53±0,02	1,51±0,04*	2,13±0,09
5 доба						
ЕГ III	3 міс	28,00±2,60	71,00±3,10	0,33±0,02	1,22±0,05*	2,53±0,08
ЕГ IV	22 міс	30,00±2,50	58,00±1,40	0,41±0,02	0,82±0,02	1,93±0,07
7 доба						
ЕГ III	3 міс	28,00±2,10	46,00±3,60*	0,41±0,03	0,61±0,03	1,64±0,06*
ЕГ IV	22 міс	34,00±2,60	58,00±1,40	0,45±0,02	0,72±0,02	1,99±0,07

На 5-у добу експерименту після введення *E. coli* у 22-х місячних тварин спостерігали виражене зниження індексу стимуляції, яке становило ($1,29 \pm 0,04$) % при ($1,8 \pm 0,06$) % в контролі, що свідчить про вікові відмінності показників, що залежать від різниці природи антигену і стадії запального процесу (табл. 6).

Таблиця 6

Показники кисневозалежного фагоцитозу тварин різного віку з моделлю запалення індукованого введенням *E. coli*

№ групи	Вік тварин (n=6)	Спонтанна і індукована активність ферменту НАДФ-Н у фагоцитах (M±m)				
		% СП	% СТ	СЦК СП	СЦК СТ	% ІС
3 доба						
ЕГ V	3 міс	27,00±1,10	55,00±3,60*	0,73±0,05*	0,81±0,02*	2,03±0,07
ЕГ VI	22 міс	37,00±1,10	77,00±6,60*	0,53±0,03*	1,44±0,07*	2,04±0,09
5 доба						
ЕГ V	3 міс	31,00±1,60	69,00±3,90*	0,42±0,03	1,01±0,05*	2,22±0,08
ЕГ VI	22 міс	42,00±4,10*	54,00±0,01	0,47±0,04	1,24±0,06*	1,29±0,04*
7 доба						
ЕГ V	3 міс	32,00±2,40	61,00±3,60*	0,55±0,03	0,92±0,04*	1,90±0,06
ЕГ VI	22 міс	27,00±1,60	53,00±0,01	0,36±0,02	0,57±0,03	1,55±0,05

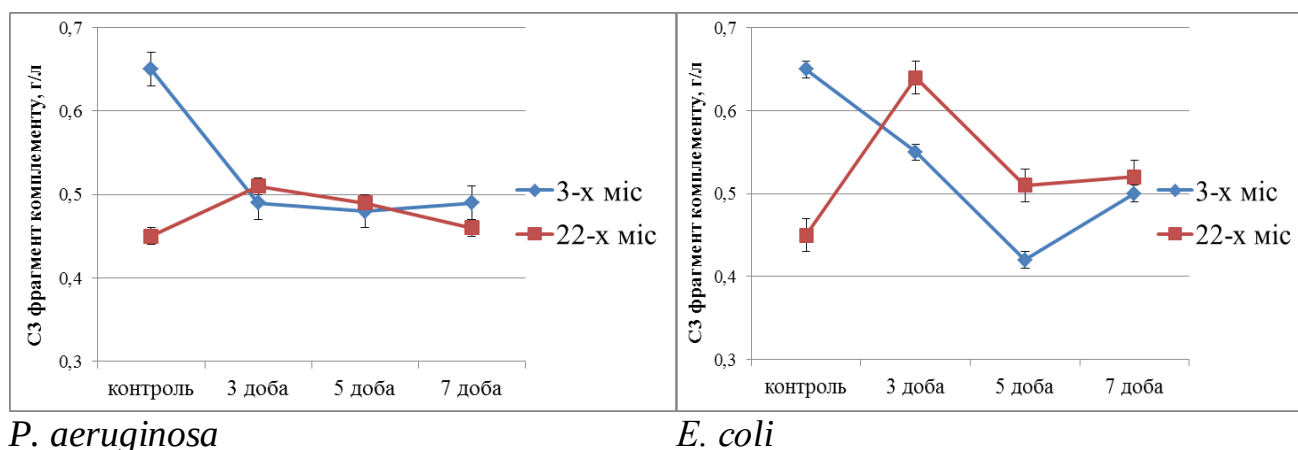
У всіх експериментальних групах (III, IV, V і VI) тварин двох вікових категорій після введення антигенів *P. aeruginosa* і *E. coli* протягом усього

експерименту виявили односпрямовані збільшення показників СЦК СП і СЦК СТ, порівняно з контрольними групами (І та ІІ група), і відображають інтенсивність енергетичних процесів ферментних систем фагоцитуючих клітин.

Дослідження гуморальної ланки імунної відповіді після дії *P. aeruginosa* і *E. coli* у контрольних та експериментальних тварин різного віку.

У молодих контрольних тварин зміст концентрації С3 фрагмента комплементу становив $(0,65 \pm 0,01)$ г/л, а у старих – $(0,45 \pm 0,02)$ г/л, який має виражену опсонізуючу дію. У молодих експериментальних тварин після індукції запального процесу, індукованого введенням *P.aeruginosa* концентрація С3 фрагмента комплементу була знижена протягом усього експерименту, у старих же тварин навпаки цей показник був вище контрольних значень.

Після введення суспензії *E. coli* спостерігали зміни досліджуваних показників різної спрямованості. Концентрація С3 фрагмента комплементу була підвищена протягом усього експерименту (3-7 доба) у старих тварин на 15 % порівняно з контрольною групою, у молодих тварин концентрація С3 фрагмента комплементу в сироватці крові була знижена, максимальне зниження спостерігалось на 5-у добу експерименту та становило $(0,42 \pm 0,02)$ г/л при контролі $(0,65 \pm 0,01)$ г/л (рис. 1).



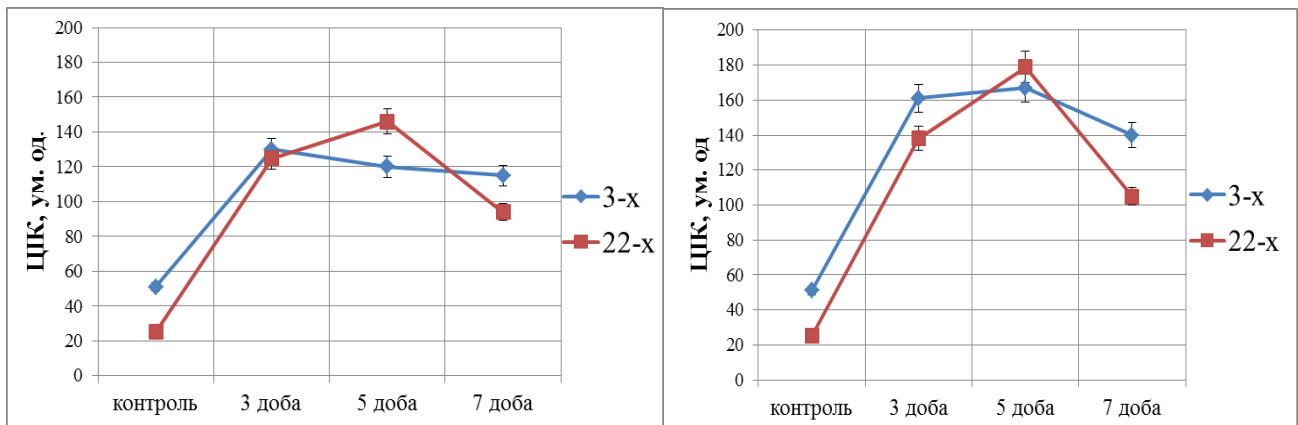
P. aeruginosa

E. coli

Рис. 1 Вміст С3 фрагмента комплементу в сироватці крові у контрольних та експериментальних тварин різного віку з моделлю запалення, індукованого введенням *P. aeruginosa* і *E. coli*

Концентрація циркулюючих імунних комплексів, яка відображає зв'язування антигенів імуноглобулінами в контрольній групі у молодих тварин відповідала нормі, а у тварин старшого віку (22 міс.) була в 2 рази нижче та становила $(25.0 \pm 6,0)$ ум. од

Після введення інфекційних антигенів *E. coli* і *P. aeruginosa* на 3-ю добу експерименту інтенсивність утворення ЦК була вище в обох вікових групах. На 5-у добу інтенсивність утворення ЦК була високою в двох експериментальних групах порівняно з контролем, а у старих тварин достовірно вищою, ніж у молодих. Після дії *P. aeruginosa* і *E. coli* виявили невеликі відмінності в кількісних характеристиках і динаміці зміни показників ЦК з 3-ої по 7-у добу бактеріальної контамінації між двома віковими групами тварин (рис. 2).

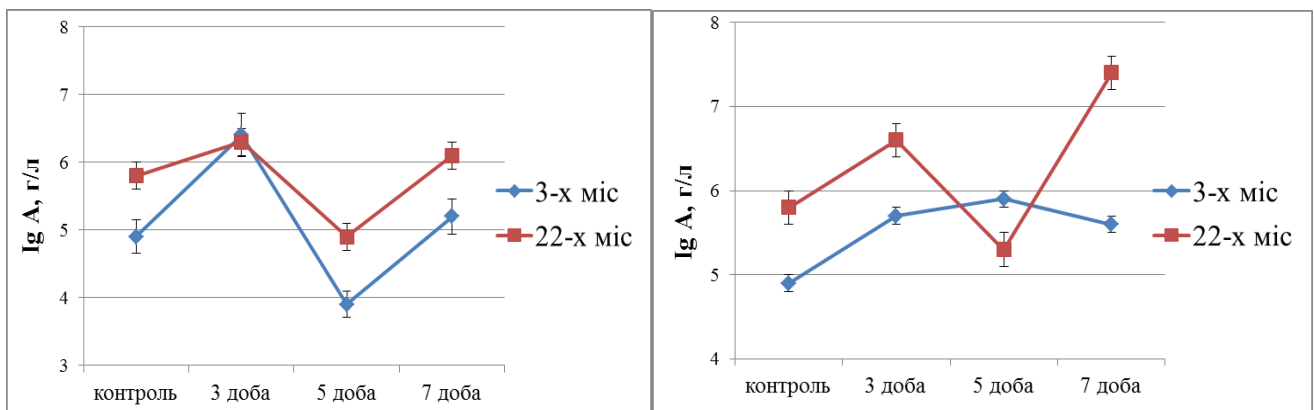


P. aeruginosa

E. coli

Рис. 2 Концентрація ЦК комплексів у контрольних тварин різного віку та у тварин з моделлю запалення, індукованого введенням *P. aeruginosa* й *E. coli*

Концентрація Ig A відрізнялася між двома віковими групами контрольних тварин та становила у 3 місячних – $(4,90 \pm 0,11)$ г/л та у 22 місячних – $(5,80 \pm 0,23)$ г/л. На тлі запального процесу після введення *P.aeruginosa* концентрація Ig A була знижена у експериментальних тварин обох вікових груп лише на 5-у добу експерименту: 3 місячні – $(3,90 \pm 0,10)$ г/л, при контролі $(4,90 \pm 0,11)$ г/л та у 22 місячних – $(4,90 \pm 0,31)$ г/л, при контролі $(5,80 \pm 0,23)$ г/л, на 3-ю та 7-у добу експерименту рівень Ig A був вище контрольних значень як у старих так і у молодих експериментальних тварин (рис. 3).



P. aeruginosa

E. coli

Рис. 3 Концентрація імуноглобуліну А в сироватці крові у контрольних та експериментальних тварин різного віку з моделлю запалення, індукованого введенням *P. aeruginosa* і *E.coli*

Після введення *E. coli* концентрація Ig A у експериментальних тварин старшої групи була знижена на 5-у добу експерименту і становила $(5,30 \pm 0,10)$ г/л, при контролі $(5,80 \pm 0,23)$ г/л, але ж в період реконвалесценції (7-а доба експерименту) цей гуморальний показник був збільшений та становив $(7,40 \pm 0,58)$ г/л, при контролі $(5,80 \pm 0,23)$ г/л. Концентрація Ig A була достовірно знижена на 5-у добу експерименту, як у старих так і у молодих тварин, вочевидь за рахунок споживання цього гуморального фактора на тлі системного запалення після зараження.

II етап експерименту. На відміну від першого етапу експерименту, в якому обрали два види інфекційних антигенів, на другому етапі експерименту використовували більш патогенний антиген *E. coli* для того щоб вивчити механізми дії різних імунокоректорів. На другому етапі експерименту вивчали спільний вплив бактеріального антигену й різних імунокоректорів (П. та М.) які вводили в різні терміни експерименту. На другому етапі експерименту ми вивчали дію азоксимеру броміда (імунокоректора П.), який широко застосовується в сучасній медичній практиці. Даний препарат складається з маніту, повідону і природного антиоксиданту бета-каротину, який діє на фагоцитуючі клітини.

Оцінка активності фагоцитуючих нейтрофілів контрольних тварин та на експериментальній моделі запального процесу у тварин різного віку з використанням П.

Індекс завершеності фагоцитозу у 3 місячних щурів, із запаленням та після введення імунокоректора П. знижувався лише на 3 добу експерименту. У 22 місячних експериментальних тварин з моделлю запалення та застосування препарату П. показник ІЗФ був нижче, ніж у контрольних щурів. Достовірне зниження перетравлюючій функції нейтрофілів спостерігали на 7-у добу обстеження (рис. 4).

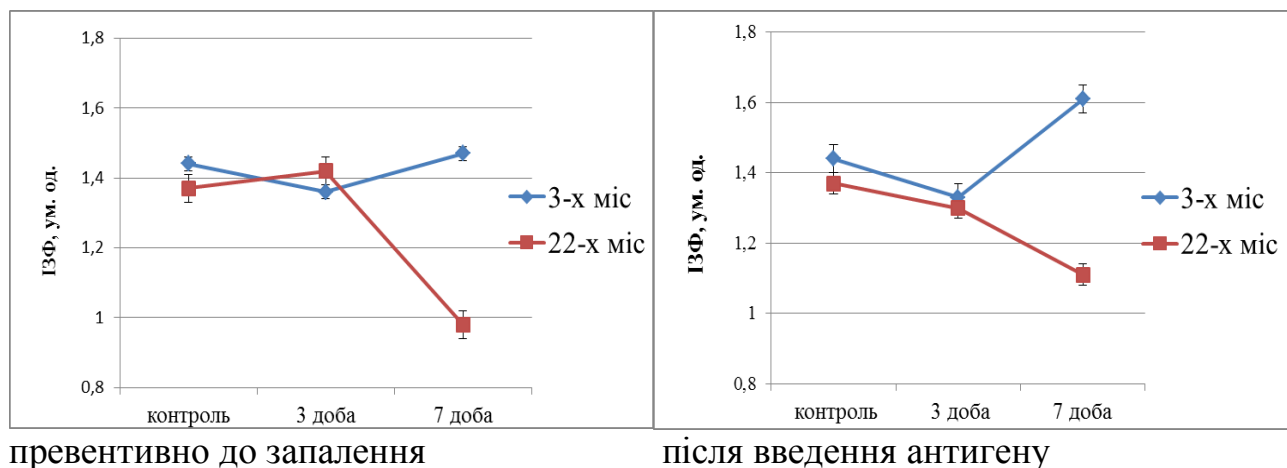
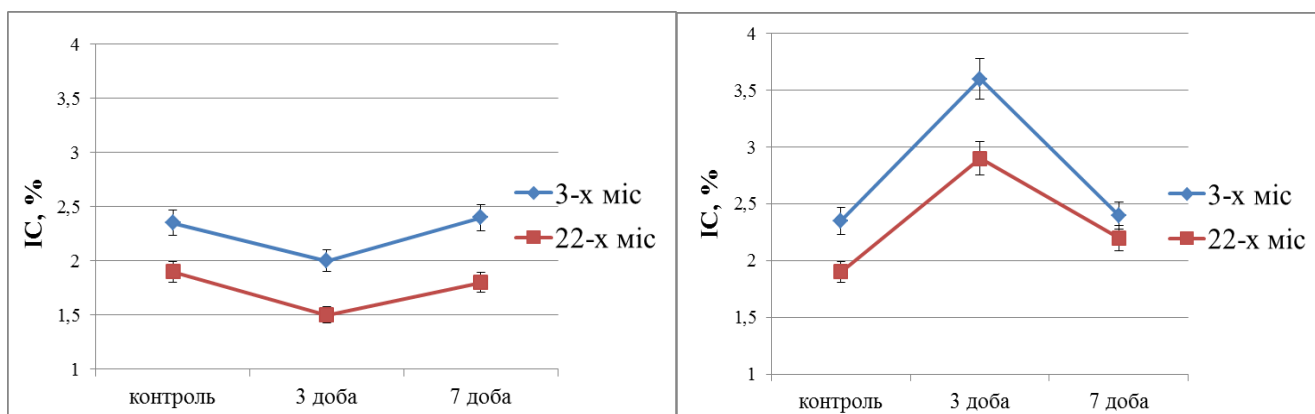


Рис. 4 Показники індексу завершеності фагоцитозу під дією П. на тлі запалення

Вочевидь даний препарат виявився неефективним для активації фагоцитозу нейтрофілів за допомогою активних форм кисню, який забезпечує ендоцитоз бактеріальних антигенів особливо у 22 місячних експериментальних тварин.

Показники кисневозалежного фагоцитозу нейтрофілів контрольних тварин та тварин з експериментальною інфекцією різного віку після використання П.

У 3 місячних контрольних тварин спостерігали незначне збільшення ферментативної активності фагоцитуючих клітин порівняно з 22 місячними контрольними тваринами, що свідчить про їх реактивність в порівнянні зі старшою групою контрольних тварин (рис. 5).



превентивно до запалення

після введення антигену

Рис. 5 Показники індексу стимуляції під дією П. на тлі запалення

На тлі запального процесу, індукованого введенням суміші *E. coli* у 22 місячних експериментальних тварин спостерігалось зниження індексу стимуляції, на тлі високих показників стимульованого тесту протягом усього експерименту ($82,00 \pm 2,70$) % на 3-ю добу та ($71,00 \pm 1,00$) % на 7-у добу, проти ($61,00 \pm 3,50$) % в контролі. У 3 і 22 місячних щурів виявили збільшення індексу стимуляції в НСТ-тесті після введення імунокоректора поліоксидонія після активації запального процесу (після 24-х годин) порівняно з контрольною групою щурів та з групою експериментальних тварин із застосуванням препарату П. превентивно до індукції запалення, що засвідчує про наявність функціонального резерву цих імунокомпетентних клітин. Максимальний збільшення ІС спостерігалось у молодих щурів на 3-ю добу експерименту, яке становило ($3,60 \pm 0,08$) %, при контролі ($2,00 \pm 0,04$) %.

Динаміка зміння вмісту С3 фрагмента комплементу тварин різного віку з запаленням, індукованим *E. coli* та стимуляцією П.

У молодшій контрольній групі тварин концентрація С3 фрагмента комплементу після введення П. була збільшена на 10 % порівняно зі старшою контрольною групою ($P > 0,05$). Після запального процесу максимальне достовірне зниження відсоткового вмісту С3 фрагмента комплементу було у 3 міс тварин на 7-у добу експерименту на тлі застосування препарату превентивно до індукції запалення, яке становило ($0,34 \pm 0,06$) г/л, при контролі ($0,54 \pm 0,02$) г/л. У старих же експериментальних тварин навпаки цей показник був вище контрольних значень. Концентрація С3 фрагмента комплементу в сироватці крові була збільшена протягом усього експерименту при застосуванні імуномодулятора П. на різних етапах запального процесу. Максимальне збільшення цього показника спостерігалось на 7-у добу після введення препарату після індукції запального процесу яке становило – ($0,56 \pm 0,03$) г/л, при контролі ($0,44 \pm 0,02$) г/л.

Концентрація ЦІК тварин різного віку з запаленням, індукованим суспензією *E. coli* та стимуляцією П.

У контрольних тварин молодшої групи після введення П. спостерігалось збільшення на 20 % концентрації ЦІК порівняно зі старшою групою. Введення імунокоригуючого препарату П. превентивно за 48-м годин до індукції запалення суспензією *E. coli* призвело до збільшення вмісту ЦІК у молодих тварин на 7-у добу

експерименту, яке становило $(208,0 \pm 2,0)$ ум. од., при контролі $(170,0 \pm 1,0)$ ум. од. У тварин старшої групи концентрація ЦК була висока на 3-ю добу дослідження і становила $(224,0 \pm 13,0)$ ум. од., при контролі $(150,0 \pm 0,5)$ ум. од. У експериментальних тварин, яким вводили поліоксидоній після активації системного запального процесу концентрація ЦК була на рівні контрольних значень. П. є антагоністом окислювального процесу (має виражену антиоксидантну активність), тому доцільним буде застосовувати даний препарат після активації запального процесу так як відбувається домінування витрати імунокоректора на запальний процес та не відбувається гальмування окисних реакцій в організмі.

II етап експерименту Іншій групі тварин різного віку на другому етапі дослідження вводили експериментальний композитний препарат М., який містить вітаміни, амінокислоти, ферменти, нуклеотиди і олігопептиди.

Оцінка активності фагоцитуючих нейтрофілів контрольних тварин та на експериментальній моделі запального процесу у тварин різного віку після застосування М.

У контрольних тварин різного віку після дії М. показник перетравлюючої функції фагоцитів достовірно не відрізнявся між собою (рис. 6).

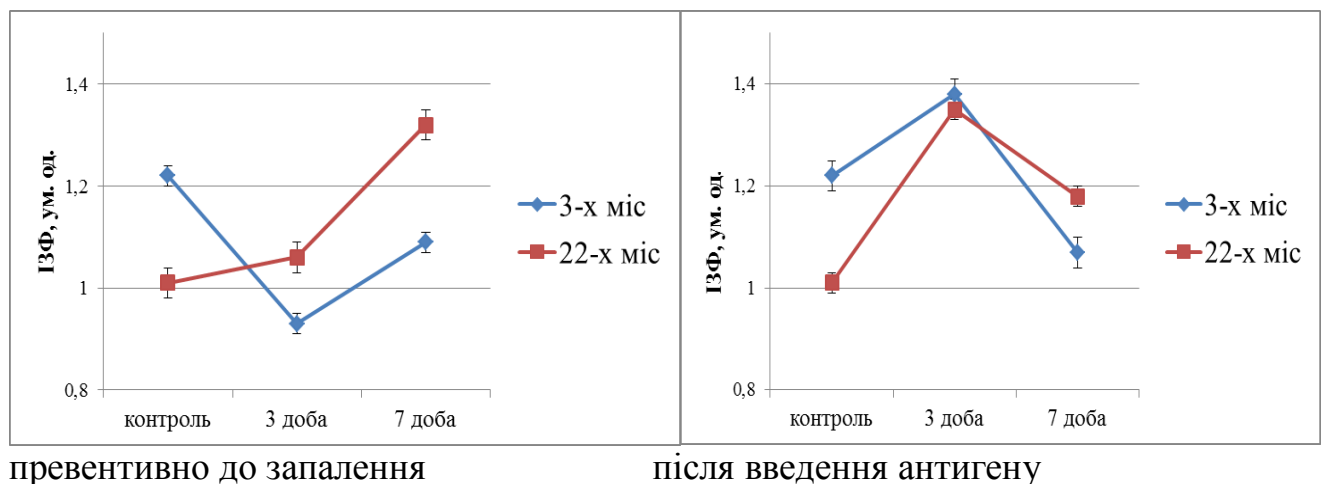
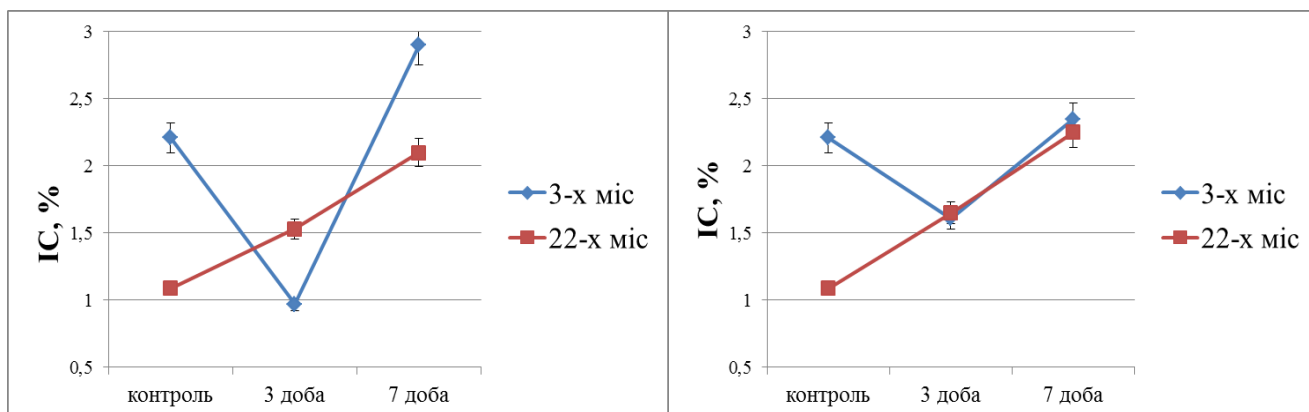


Рис. 6 Показники індексу завершеності фагоцитозу під дією М. на тлі запалення

Після запалення, індукованого після введення антигена *E. coli* показник індексу завершеності фагоцитозу був збільшений лише у 22 міс. експериментальних тварин протягом усього експерименту і максимальним був на 3-ю добу експерименту після застосування імунокоректора М. після 24-х годин активації запального процесу $(1,35 \pm 0,09)$ ум. од. при $(1,01 \pm 0,01)$ ум. од. в контролі

Показники кисневозалежного фагоцитозу нейтрофілів контрольних та експериментальних тварин різного віку з моделлю запалення, індукованого *E. coli* на тлі введення М.

В ході експерименту виявили, що інтенсивність ферментативної активності у контрольних молодих тварин в 2 рази перевищувала показник індексу стимуляції такого у старих контрольних тварин і становив $(2,21 \pm 0,07)$ % у молодих та $(1,09 \pm 0,05)$ % у старих контрольних тварин (рис. 7).



превентивно до запалення

після введення антигену

Рис. 7 Показники індексу стимуляції під дією М. після запального процесу

Після запалення, індукованого введенням бактеріальної суспензії *E. coli* і застосування експериментального препарату М. превентивно до індукції запалення виявили зниження показника ІС тільки на 3-ю добу експерименту у молодих тварин, що свідчить про незадовільний стан бактерицидної системи клітин на ранньому етапі експерименту. У експериментальних тварин старшого віку на 3-ю добу експерименту навпаки виявили збільшення ферментативної активності в НСТ-тесті, яка становила ($1,65 \pm 0,09$) % при контролі ($1,09 \pm 0,05$) %.

Динаміка зміни С3 фрагмента комплементу тварин різного віку з запаленням, індукованим *E. coli* та стимуляцією М.

У контрольній групі тварин концентрація С3 фрагмента комплементу після введення М. була збільшена в 1,5 рази у молодих тварин порівняно зі старшою групою ($P > 0,05$). Введення імунокоригуючого композитного пептидного препарату М. на тлі запалення, індукованого після внутрішньочеревинного введення антигену *E. coli* значно збільшило вміст С3 фрагмента комплементу в обох вікових групах експериментальних тварин, що свідчить про взаємовплив реактивності й резистентності тварин в присутності імунокоректора.

Концентрація ЦК тварин різного віку з запаленням, індукованим суспензією *E. coli* та застосування М.

Після введення експериментального композитного препарату М. контрольним тваринам різного віку спостерігалось збільшення на 40 % рівня вмісту циркулюючих імунних комплексів у тварин старшої групи порівняно з 3 місячними контрольними тваринами. Введення імунокоригуючого препарату М. до та після індукції запального процесу введенням суспензії *E. coli* значно знижувала вміст ЦК у старих тварин. У молодих експериментальних тварин, навпаки, введення імунокоректора М. призвело до достовірного збільшення концентрації ЦК, особливо на 7-у добу дослідження, яке становило ($173,0 \pm 19,0$) ум. од. при контролі ($112,0 \pm 4,0$) ум. од. Концентрація ЦК при введенні міксфактора, на тлі запальної реакції, була знижена у тварин старшої групи за рахунок того, що достатній рівень клітинної й гуморальної ланки імунітету забезпечив максимальну елімінацію антигену, що не призвело до утворення комплексу антиген-антитіло.

ВИСНОВКИ

Дані, які були отримані в процесі комплексного обстеження експериментальних тварин різного віку після дії мікробних антигенів *P. aeruginosa* і *E. coli* включають показники гуморального і клітинного вродженого і вторинного адаптивного імунітету, які мають велике теоретичне значення для з'ясування механізмів порушення функції регуляторних систем організму в залежності від віку. Результати дослідження можуть бути корисні не тільки для медичної практики, а й мають величезне значення в розкритті та розумінні інтегральних фізіологічних процесів, що забезпечують реактивність і резистентність організму в онтогенезі.

1. Виявили відмінності імунореактивності деяких показників вродженого імунітету контрольних тварин в залежності від віку. Показники вродженого імунітету (кисневонезалежний і кисневозалежний фагоцитоз, вміст С3 фрагмента комплементу) у 22 місячних тварин знижені порівняно з 3 місячними. У контрольній групі молодих тварин індукційний окислювальний резерв фагоцитуючих клітин у НСТ-тесті був вище, ніж у старих контрольних тварин. Виявили, що показники гуморального імунітету (вміст Ig A, M, G) достовірно не відрізнялися у контрольних тварин різного віку. Утворення циркулюючих імунних комплексів у 3 місячних контрольних тварин було в 2 рази вище ($P > 0,05$), ніж у контрольних 22 місячних тварин.

2. Інфікування тварин *P. aeruginosa* і *E. coli* індукувало схожі зміни імунної відповіді у молодих і старих тварин, що проявлялося багаторазовим збільшенням ЦК у крові, зміною вмісту С3 фрагмента комплементу, пригніченням показників кисневонезалежної фагоцитарної активності і зміною показників кисневозалежного фагоцитозу з вираженою стимуляцією НАДФН-оксидази у старих тварин.

3. У молодих експериментальних тварин після введення *E. coli* виявили більш виражене пригнічення факторів вродженого імунітету (фагоцитарної активності нейтрофілів і вміст С3 фрагмента комплементу) порівняно зі старими тваринами. У молодих тварин *E. coli* знижувала вроджений імунітет більш виражено, ніж *P. aeruginosa*.

4. Після введення різних інфекційних антигенів *P. aeruginosa* і *E. coli* спостерігали достовірні збільшення вмісту всіх класів імуноглобулінів у тварин двох вікових груп на всіх етапах експерименту. Але Ig A на 5-у добу експерименту після зараження експериментальних тварин був достовірно знижений як у старих так і у молодих тварин, вочевидь за рахунок споживання гуморального фактора Ig A. Інтенсивність утворення ЦК була достовірно збільшена протягом усього експерименту у тварин двох вікових категорій. Після дії *P. aeruginosa* і *E. coli* виявили невеликі відмінності в кількісних характеристиках і динаміці зміни показників ЦК з 3-ої по 7-у добу бактеріальної контамінації між двома віковими групами тварин.

5. В ході експерименту у молодих тварин виявили високу імунореактивність, а у старих тварин більш високу імунорезистентність при індукції запальної реакції антигенами *P. aeruginosa* і *E. coli*. Старі тварини не поступалися молодим за рівнем імунорезистентності, тому що використовували іншу стратегію імунної відповіді.

6. У контрольних молодих тварин після введення як П. так і М. виявили більш високу реактивність в клітинній (фагоцитарна активність) і гуморальній (С3 фрагмент комплементу, ЦІК) ланці імунітету порівняно зі старшою віковою групою контрольних тварин.

7. Превентивне введення імунокоректора П. до індукції запального процесу *E. coli* призвело до пригнічення окисного потенціалу ферментів фагоцитуючих клітин у експериментальних тварин різного віку, за рахунок його антиоксидантної активності, що є негативним для забезпечення фагоцитозу нейтрофілів за допомогою активних форм кисню, який забезпечує ендоцитоз бактеріальних антигенів.

8. Після введення *E. coli* і застосування експериментального композитного препарату М. на різних стадіях запального процесу (до і після введення інфекційного антигену) у старих тварин виявили виражену стимуляцію функціональної активності фагоцитів, про що свідчать високі показники індексу завершеності фагоцитозу і посилення утворення активних форм кисню (АФК), що сприяють процесингу антигенів. У 22 місячних експериментальних тварин препарат М. стимулював утворення комплексу антиген-антитіло комплемент із подальшою елімінацією цього комплексу протягом експерименту (3-7 доба).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті, які входять до переліку фахових видань України

1. **Коваленко Т. І.** Вроджена клітинна відповідь у експериментальних тварин різного віку на тлі запалення і введення імунокоректорів // Український біофармацевтичний журнал. 2017. № 5(52). С. 16–20.

2. **Коваленко Т. І.**, Минухин В. В., Климова Е. М. Влияние композитного препарата на ферментативную активность нейтрофилов у крыс разного возраста при генерализованном воспалительном процессе // Вісник проблем біології і медицини. 2015. № 2, Т. 4 (121). С. 129–131. *"Особистий внесок здобувача: проведено основний обсяг пошукової роботи, отримано результати дослідження ферментативної активності нейтрофілів периферичної крові контрольних та експериментальних тварин, підготовлено матеріали до друку"*.

3. Климова Е. М., **Коваленко Т. І.**, Минухин В. В., Агаркова А. Н. Оценка факторов первичной иммунорезистентности на экспериментальной модели инфекционного процесса у животных разного возраста // Імунологія та Алергологія. Наука і практика. 2014. № 3. С. 94–99. (Фахове згідно з наказом від 01.07.2010 р. № 1-05/5). *"Особистий внесок здобувача: отримано результати дослідження фагоцитарної активності нейтрофілів периферичної крові, проведено дослідження ферментативної активності нейтрофілів експериментальних тварин, підготовлено матеріали статті до друку"*.

Статті, що входять до міжнародних наукометричних баз

4. **Коваленко Т. И.**, Минухин В. В., Климова Е. М. Иммунорезистентность экспериментальных животных разного возраста на модели генерализованного воспалительного процесса // Світ медицини та біології. 2015. № 3 (52). С. 106–109. (Russian Science Citation Index, Index Copernicus, Google Scholar, "Cyberleninka"). *"Особистий внесок здобувача: проведено основний обсяг пошукової роботи, виконано статистичну обробку отриманих матеріалів та підготовлено матеріали до друку"*.

5. **Коваленко Т. И.**, Минухин В. В., Климова Е. М., Быченко А. А., Мушли Али. Изучение ферментативной активности гранулоцитарных нейтрофилов у животных с экспериментальной инфекцией разного возраста // Актуальные вопросы современной медицины. Сб. науч. тр. по итогам межвузовской ежегодной заочной научно-практической конференции с международным участием. 2014. С. 86–89. (РИНЦ). *"Особистий внесок здобувача: проведено основний обсяг пошукової роботи, отримано результати дослідження ферментативної активності нейтрофілів периферичної крові, підготовлено матеріали статті до друку"*.

Електронне видання

6. **Коваленко Т. И.**, Климова Е. М., Минухин В. В. Концентрация циркулирующих иммунных комплексов при экспериментальном генерализованном процессе у животных разного возраста под действием иммуномодуляторов // Анналі Мечниковського інституту. 2015. № 2. С. 220–223 URL: www.imiamn.org.ua/journal/2_2015/PDF/42. (дата обращения: 10.11.2015). (Index Copernicus, Global Impact Factor). *"Особистий внесок здобувача: проведено основний обсяг пошукової роботи, підготовлено матеріали до написання статті"*.

Статті у зарубіжних спеціалізованих виданнях

7. **Коваленко Татяна Игоревна.** Климова Елена Михайловна, Минухин Валерий Владимирович, Кузьменко Андрей Николаевич. Оценка активности фагоцитоза у животных разного возраста при генерализованном воспалительном процессе на фоне применения иммунного препарата // Cambridge Journal of Education and Science, «Cambridge University Press». Great Britain, 2016. № 1 (15). Р. 178–184. *"Особистий внесок здобувача: проведено основний обсяг пошукової роботи, отримано результати дослідження фагоцитарної активності нейтрофілів периферичної крові, підготовлено матеріали до друку"*.

8. **Коваленко Татяна Игоревна,** Климова Елена Михайловна, Минухин Валерий Владимирович, Кузьменко Андрей Николаевич. Влияние Полиоксидония на содержание компонента С3 комплемента у крыс разного возраста при генерализованном процессе // Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe (East European Scientific Journal). 2015. № 2. С. 121–124. (РИНЦ). *"Особистий внесок"*

здобувача: проведено основний обсяг пошукової роботи, виконано статистичну обробку отриманих матеріалів підготовлено матеріали статті до друку".

Тези науково-практичних конференцій різного рівня

9. **Коваленко Т. И.**, Климова Е. М. Оценка врожденного клеточного фактора иммунного ответа у крыс разного возраста при экспериментальном инфекционном процессе и применении иммунокоректора // Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки: збірник матеріалів міжнародної науково-практ. конф., 26–27 лютого 2016 р. Львів, 2016. С. 93–95.

10. **Коваленко Т. І.**, Турута Д. О. Вивчення гуморальної ланки імунної відповіді на експериментальних моделях запального процесу у тварин двох вікових груп після дії антигенів *P. aeruginosa* // Медицина третього тисячоліття: збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених та студентів ХНМУ, 20 січня 2015 р. Харків, 2015. С. 28–29. *"Особистий внесок здобувача: отримано результати дослідження сироватки крові імуноглобулінів та фрагменту C3 комплементу, підготовлено матеріали до друку"*.

11. **Коваленко Т. И.**, Климова Е. М. Интенсивность образования циркулирующих иммунных комплексов у экспериментальных животных разного возраста с моделью воспаления и после действия композитного пептидного препарата // Пріоритети сучасної медицини: теорія і практика: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 6–7 лютого 2015 р. Одеса, 2015. С. 195–196.

12. **Коваленко Т. И.**, Климова Е. М. Возрастные особенности иммунного ответа у экспериментальных животных после действия инфекционных антигенов // Медична наука і сучасність – 2015: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 24–25 квітня 2015 р. Київ, 2015. С. 69–72.

13. **Kovalenko T. I.**, Panich R. V. The change in the concentration of C3 fragment of complement in inflammation and use of the immunocorrection drug in experimental animals of different ages // For medical students and young scientists: 8th International Scientific Interdisciplinary Conference, 14th–15th may 2015. Kharkiv, 2015. P. 233–234. *"Особистий внесок здобувача: зроблено основний обсяг пошукової роботи, підготовлено матеріали до друку"*.

14. **Коваленко Т. И.**, Климова Е. М., Панич Р. В. Формирование первичной иммунорезистентности у животных разного возраста на экспериментальной модели воспалительного процесса // Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями: тези доповідей міжнародної науково-практичної конференції, 14–15 травня 2015. Харків, 2015. С. 23. *"Особистий внесок здобувача: зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до написання тез"*.

15. **Коваленко Т. І.**, Клімова О. М. Оцінка гуморальних факторів первинного та вторинного імунітету після дії антигенів *E. coli* у експериментальних тварин різного віку // Механізми функціонування фізіологічних систем: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 15–17 жовтня 2014. Львів, 2014. С. 46–47.

16. Коваленко Т. И., Климова Е. М. Возрастные изменения клеточного и гуморального звена иммунорезистентности у экспериментальных животных разного возраста при воспалении // Медичний форум. 2016. № 7 (07). С. 85–88.

17. Коваленко Т. И. Формирование гуморального ответа после действия антигенов *P. aeruginosa* и *E. coli* у экспериментальных животных разного возраста // Экспериментальна і клінічна медицина. 2015. № 1(66). С. 24–27.

18. Коваленко Т. И., Климова Е. М., Минухин В. В., Агаркова А. Н. Оценка клеточных и гуморальных факторов иммунорезистентности на экспериментальной модели воспалительного процесса у животных разного возраста // Лабораторна діагностика. 2014. № 4(70). С. 36–41. *"Особистий внесок здобувача: виконано основний обсяг пошукової роботи, підготовлено матеріали статті до друку"*.

АНОТАЦІЯ

Коваленко Т. І. Вікові особливості зміни показників клітинного та гуморального імунітету після дії інфекційних антигенів в експерименті. - На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини та тварин. – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна МОН України, Харків, 2017.

У ході дослідження виявили, що в молодих контрольних тварин була збільшена концентрація гуморального опсонізуючого чинника вродженого імунітету С3 фрагмента комплементу порівняно зі старшою контрольною групою тварин. У контрольних тварин старшої групи виявили зниження індукційної ферментативної активації утворення синглетних форм кисню для забезпечення кисневозалежного процесингу антигена порівняно з молодшою контрольною групою тварин.

У ході експерименту виявлено у молодих тварин їхню високу реактивність, а у тварин старшої групи більш високу резистентність при індукції запальної реакції за допомогою антигенів *P. aeruginosa* і *E. coli*.

Після введення імунокоректора П. через 24 години після формування індукованої запальної реакції в експериментальних тварин двох вікових груп достовірно збільшувався індекс стимуляції нейтрофілів у НСТ-тесті, особливо на ранньому терміні запалення.

Уперше визначено, що після дії *E. coli* та застосування експериментального композитного препарату М. у тварин старшої вікової групи виявили виражену стимуляцію функціональної активності процесингу антигенів, про що свідчать високі показники індексу завершеності фагоцитозу. В експериментальних тварин старшої групи препарат М. стимулював утворення комплексу антиген-антитіло-комплемент з подальшою елімінацією цього комплексу протягом усього експерименту.

Ключові слова: вроджений імунітет, адаптивний імунітет, фагоцитоз, запальний процес, вікові групи тварин, антигени, імунореактивність, імунорезистентність.

АННОТАЦИЯ

Коваленко Т. И. Возрастные особенности изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета после действия инфекционных антигенов в эксперименте. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 - физиология человека и животных. – Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина МОН Украины, Харьков, 2017.

Для решения фундаментальных проблем гериатрии и медицинской геронтологической практики важным является выяснение наличия и характера возможных возрастных изменений иммунного ответа на природные и синтетические антигены в онтогенезе на фоне формирования вторичного адаптивного иммунитета.

Диссертация посвящена исследованию особенностей онтогенетических изменений иммунореактивности и иммунорезистентности на фоне воспалительного процесса, индуцированного различными антигенами (*P. aeruginosa* и *E. coli*) у животных разного возраста, а также после применения разных иммунокоректоров (полиоксидония, миксфактора). В ходе исследования обнаружили, что у молодых контрольных животных была увеличена концентрация гуморального опсонизирующего фактора врожденного иммунитета С3 фрагмента комплемента в сравнении со старшей контрольной группой животных. У контрольных животных старшей группы выявили снижение индукционной ферментативной активации образования синглетных форм кислорода для обеспечения кислородзависимого процессинга антигена в сравнении с младшей контрольной группой животных.

Выявлено, что воспалительный процесс, индуцированный у экспериментальных животных разного возраста грамотрицательными микроорганизмами двух видов привел к снижению показателей кислороднезависимого фагоцитоза на всех этапах обследования. Показано, что у животных старшей возрастной группы на фоне воспалительного процесса активация показателей врожденного клеточного и гуморального звена иммунитета была более выражена, чем у молодых.

После введения иммунокоректора П. через 24 часа после формирования индуцированной воспалительной реакции у экспериментальных животных двух возрастных групп достоверно увеличивался индекс стимуляции нейтрофилов в НСТ-тесте, особенно на раннем сроке воспаления.

Впервые определено, что после действия *E. coli* и применения экспериментального композитного препарата М. у животных старшей возрастной группы выявили выраженную стимуляцию функциональной активности процессинга антигенов, о чём свидетельствуют высокие показатели индекса завершенности фагоцитоза. У экспериментальных животных старшей группы М. стимулировал образование комплекса антиген-антитело-комплемент с последующей элиминацией этого комплекса в течение всего эксперимента.

В ходе эксперимента обнаружили у молодых животных их высокую реактивность, а у животных старшей группы более высокую резистентность при индукции воспалительной реакции с помощью антигенов *P. aeruginosa* и *E. coli*.

Разрешённость воспаления у экспериментальных животных зависит от стадии воспалительного процесса, от возрастных особенностей экспериментальных животных, от вида антигена, индуцировавшего воспалительный процесс и от разновидности иммунокоректора.

Ключевые слова: врожденный иммунитет, адаптивный иммунитет, фагоцитоз, воспалительный процесс, возрастные группы животных, антигены, иммунореактивность, иммунорезистентность.

SUMMARY

Kovalenko T. I. Age peculiarities of changes in the indices of cellular and humoral immunity after infection antigens in the experiment. – Manuscript.

Dissertation for a Candidate's of Biological Sciences degree by speciality: 03.00.13 – physiology of human and animals. – V. N. Karazin Kharkiv National University, the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2017.

The study found that in young control animals the concentration of humoral opsonic factor of the congenital immunity of the C3 fragment of complement in comparison with the older-age control group of animals was increased. In the control animals of the older group a reduction in induction of the enzymatic activation of the formation of singlet forms of the oxygen to ensure cinemasonline processing of antigen in comparison with the younger control group of animals was showed.

In the experiment it was discovered that the young animals had high reactivity and animals of older-age group had higher resistance for induction of inflammatory reactions with antigens of *P. aeruginosa* and *E. coli*.

After the introduction of immunocorector P. during 24 hours after formation induced inflammatory response in experimental animals of the two age groups the stimulation index of neutrophils in NBT-test, especially in the early period of inflammation significantly increased.

For the first time it was determined that after the action of *E. coli* and use of experimental composite preparation of M. animals in the older-age group revealed a manifested stimulation of the functional activity of processing of antigens, as evidenced by a high index of completeness of phagocytosis. In experimental animals of older group M. stimulated the formation of the complex antigen-antibody-complement with subsequent elimination of the complex during the entire experiment.

Key words: congenital immunity, adaptive immunity, phagocytosis, inflammatory process, age animals groups, antigens, immunoreactivity, immunoresistance.