

УДК 612.017 619:616.9 616.83

## ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНОГРАММ СОБАК ПРИ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ Т-«АКТИВНЫХ» ЛИМФОЦИТОВ К АДРЕНАЛИНУ И ГАММААМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЕ

**М.М. БРОШКОВ***Одесский государственный аграрный университет, Украина*

**Abstract.** We have conducted a research to study immunogram peculiarities in dogs depending on the sensitization degree of “active” T-lymphocytes to adrenaline and gamma-aminobutyric acid. Research material included stabilized peripheral blood of outbred dogs at the age of 1-5 years ( $n = 62$ ) who had the same living and nutritional conditions. It was established that animals with a greater sensitization of T-“active” lymphocytes to the gamma-aminobutyric acid have on average by  $2.0 \times 10^6$  less leukocytes. At the same time the relative number of lymphocytes in animals with high sensitization (more than 10%) to adrenaline and low sensitization to the gamma-aminobutyric acid is decreased by 4.6% ( $p < 0.01$ ) as compared to the former. Results of immunological studies in animals with the same sensitization degree to both adrenaline and gamma-aminobutyric acid showed that such receptor activity of T-lymphocytes results in a higher relative amount of lymphocytes. It has been also established that the increased sensitization of lymphocytes to adrenaline increases the number of leucocytes and the increased sensitization to the gamma-aminobutyric acid has the opposite effect.

**Key words:** Dogs; Lymphocytes; T-helper cells; Natural killer cells; Sensitization; Adrenaline; Gamma-aminobutyric acid.

**Реферат.** Проведены исследования по изучению особенностей иммунограмм собак в зависимости от степени сенсibilизации «активных» Т-лимфоцитов на адреналин и гаммааминомасляную кислоту. Материалом для исследований была предварительно стабилизированная периферическая кровь беспородных собак, возрастом 1–5 лет ( $n=62$ ), которые имели одинаковые условия содержания и кормления. Установлено, что у животных с большей сенсibilизацией Т-«активных» лимфоцитов к гаммааминомасляной кислоте количество лейкоцитов меньше в среднем на  $2,0 \times 10^6$ . При этом относительное количество лимфоцитов у животных с высокой сенсibilизацией (больше 10%) к адреналину и низкой к гаммааминомасляной кислоте по сравнению с первыми на 4,6% ( $p < 0,01$ ) меньше. Результаты иммунологических исследований у животных с одинаковым уровнем сенсibilизации к адреналину и гаммааминомасляной кислоте показали, что при такой активности рецепторного аппарата Т-лимфоцитов отмечается более высокое относительное количество лимфоцитов. Повышение сенсibilизации лимфоцитов к адреналину способствует увеличению количества лейкоцитов, а повышение сенсibilизации к гаммааминомасляной кислоте способствует противоположному эффекту.

**Ключевые слова:** Собаки; Лимфоциты; Т-хелперы; Естественные киллеры; Сенсibilизация; Адреналин; Гаммааминомасляная кислота.

### ВВЕДЕНИЕ

Интегративные системы организма – нервная, иммунная и эндокринная – сопряженно функционируют в тесном взаимодействии на всех иерархических уровнях в организации регуляторных процессов в организме. Учитывая такое единство, исследователи приходят к выводу, что дезрегуляторная патология в какой-либо из трех основных гомеостатических систем организма, инициированная негативным влиянием любых патологических факторов, вследствие дефектности механизмов адаптивного гемокинеза в организме животных будет отражаться на функции специализированных органов и тканей во всех биологических системах (Дегтяренко Т., 2008, Штарк М., 1995).

В настоящее время доказана возможность абсорбции катехоламинов поверхностью активированных иммунокомпетентных клеток, что свидетельствует об экспрессии на мембрану этих клеток адренорецепторов во время иммунизации или других процессов (Кцюян А, 2002). Мишенями иммунной системы для влияния нейромедиатора адреналина являются Т-лимфоциты. Установлено, что уровень Т-адренорецепции отображает степень активности симпатoadреаловой системы в ответ на действие стресс-фактора. Это дает основания считать, что рецепция Т-«активных» лимфоцитов отображает стрессорную реакцию организма (Дегтяренко Т., 1997).

Исследования, проведенные Беляевой С.С. (2004), показали иммунотропные эффекты некоторых производных гаммааминомасляной кислоты (ГАМК), что выражалось в повышении функциональной и фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови. По данным Трокоза А.В. и др. (2012), отмечена взаимосвязь между подвижностью процессов возбуждения и торможения в коре большого мозга и содержанием гемоглобина в крови животных.

Адаптивно направленная нейроиммуномодуляция при условии адекватного влияния на тонкий баланс возбуждающих и тормозящих функциональных процессов может обеспечить положительные лечебные эффекты. В доступных литературных источниках мы не нашли данных о иммунофизиологическом состоянии организма в зависимости от уровня сенсibilизации лимфоцитов к нейромедиаторам.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на кафедре физиологии, биохимии и микробиологии Одесского государственного аграрного университета совместно с лабораторией иммунологии института глазных болезней им. акад. В. П. Филатова. Клинический осмотр собак и отбор проб крови проводили в условиях частной ветеринарной клиники г. Одессы. Материалом для исследований была предварительно стабилизированная периферическая кровь беспородных собак возрастом 1–5 лет ( $n=62$ ), которые имели одинаковые условия содержания и кормления. Кровь отбирали утром на голодный желудок из локтевой вены в пробирку с ЭДТА. В крови определяли абсолютное количество лейкоцитов, относительное количество лимфоцитов и их субпопуляций, а также количество фагоцитирующих нейтрофилов (Влизло В.В. и др., 2012). Количество лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева, лейкоцитарную формулу выводили в мазке, окрашенной по Романовскому-Гимза. В крови определяли относительное содержание лимфоцитов и их субпопуляций в реакции розеткообразования с эритроцитами барана (Э-тф.р.-РОЛ, Э-тф.ч.-РОЛ). В-лимфоциты определяли в реакции розеткообразования с эритроцитами мыши (М-РОЛ). Розеткообразующей считали клетку, которая присоединила три и более эритроцита. Степень сенсibilизации организма к нейромедиаторам адреналину и ГАМК определяли в нагрузочном тесте по проценту инверсии Т-«активных» лимфоцитов. Суть данного теста заключается в том, что во время предварительной инкубации лейкоцитарно-лимфоцитарной смеси с нейромедиаторами адреналином и ГАМК часть активных рецепторов на поверхности лимфоцитов соединяются с этим нейромедиатором, что приводит к уменьшению «активных» розеткообразующих клеток в опытных пробах. Разница в количестве розеткообразующих клеток в опыте (с добавлением нейромедиатора) и контроле (с физраствором) является процентом инверсии Т-«активных» лимфоцитов и отображает уровень сенсibilизации организма к этим нейромедиаторам. Если процент инверсии  $<10\%$  – это низкая степень сенсibilизации. Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по способности захватывать пекарские дрожжи в пересчете на 50 клеток. Фагоцитирующим считали нейтрофил, который поглотил одну и более дрожжевых клеток. После оценки иммунофизиологического состояния организма животных разделили по группам, учитывая уровень сенсibilизации к нейромедиаторам: I группа ( $n=23$ ) – у животных высокая сенсibilизация (больше  $10\%$ ) к ГАМК и низкая к адреналину; II группа ( $n=18$ ) – высокая сенсibilизация (больше  $10\%$ ) к адреналину и низкая к ГАМК; III группа ( $n=21$ ) – степень сенсibilизации к ГАМК и адреналину, одинаковая у всех животных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Наличие влияния на иммунокомпетентные клетки постоянного тонического тормозного контроля со стороны основных интегративных гомеостатических систем обеспечивает нормальное функционирование клеток, возможность восстановления их внутриклеточных структур, энергетического и пластического потенциала и отсутствие реакции на различные функциональные незначимые стимулы. При условии снятия тонического торможения происходит патологическое растормаживание клеток, что обуславливает возникновение дезрегуляционной патологии вследствие дефицита контролирующих экстраклеточных механизмов и приводит к изменению экспрессии генов, метаболических процессов, структуры рецепторного аппарата

специализированных клеток, спектра ферментов и, возможно, частичному нарушению дефференцировки.

Влияние повышенной сенсibilизации Т-«активных» лимфоцитов на адреналин у собак было подробно описано нами ранее (Брошков М.М., 2013). В обобщенном виде результаты этих исследований характеризовались следующим. Повышение больше, чем на 10 %, степени сенсibilизации организма к нейромедиатору адреналину в реакции Т-«активных» лимфоцитов в большинстве случаев обуславливает необходимость более продолжительного периода иммунокоррекции, а также повторения этих курсов. Высокий уровень Т-адренорецепции сопровождался повышением относительного количества Т-хелперных и уменьшением Т-супрессорных клеток.

**Таблица 1.** Показатели иммунограмм собак в зависимости от степени сенсibilизации Т-«активных» лимфоцитов к нейромедиаторам

Группы животных	Имунофизиологические показатели								
	Лейкоциты, $\times 10^6$	Лимфоциты, %	Т-лимфоциты, %	Т-хелперы, индукторы, %	Т-супрессоры, цитотоксические, %	В-лимфоциты, %	Иммунорегуляторный индекс, Тх\Тс	Фагоцитоз нейтрофилов, %	Натуральные киллеры, %
I группа (n=23)	8,6 $\pm$ 4,86	*33,6 $\pm$ 7,8	65,2 $\pm$ 15,21	48,0 $\pm$ 8,42	15,2 $\pm$ 5,76	16,0 $\pm$ 4,0	3,38 $\pm$ 0,83	43,2 $\pm$ 14,33	*6,6 $\pm$ 3,36
II группа (n=18)	10,58 $\pm$ 6,19	29,0 $\pm$ 4,07	71,8 $\pm$ 14,26	52,0 $\pm$ 13,49	20,4 $\pm$ 1,67	14,4 $\pm$ 2,61	2,66 $\pm$ 0,69	41,6 $\pm$ 7,26	4,0 $\pm$ 0,71
III группа (n=21)	8,68 $\pm$ 1,69	54,8 $\pm$ 9,93	65,2 $\pm$ 12,45	44,8 $\pm$ 10,64	20,4 $\pm$ 5,37	15,2 $\pm$ 2,29	2,28 $\pm$ 0,83	44,8 $\pm$ 10,45	7,4 $\pm$ 2,51

Примечание: \*разница между 1-й и 2-й группами достоверна при  $p < 0,01$

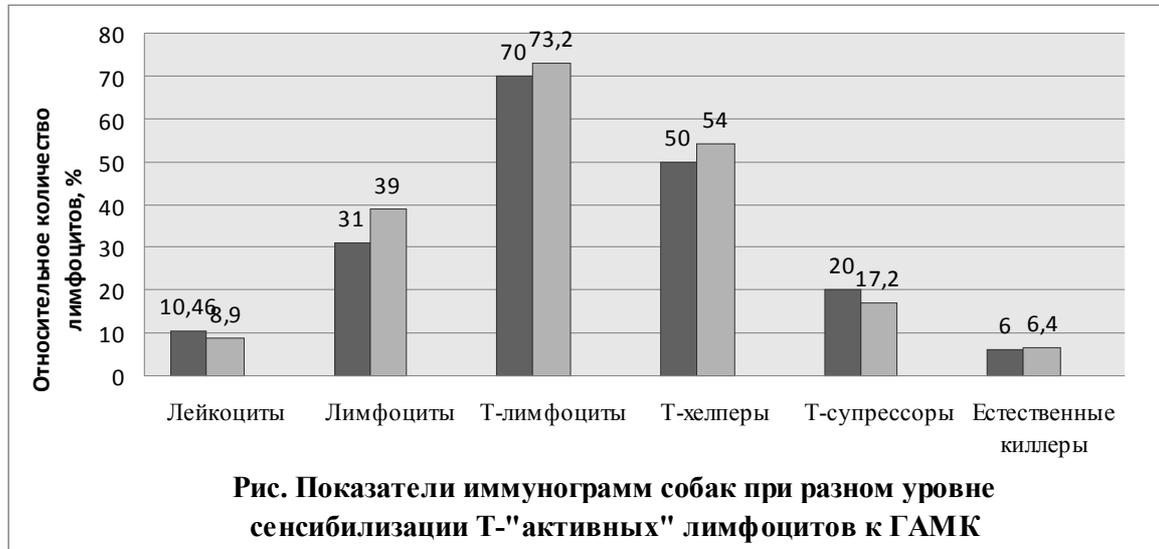
Оценка показателей иммунограмм с разной степенью сенсibilизации к нейромедиаторам (таблица) показала, что животные с большей сенсibilизацией Т-«активных» лимфоцитов к ГАМК (I группа) имеют в среднем на  $2,0 \times 10^6$  меньшее абсолютное количество лейкоцитов, при этом относительное содержание лимфоцитов у животных второй группы, по сравнению с первой, на 4,6% ( $p < 0,01$ ) меньше.

Результаты иммунологических исследований у животных с одинаковым уровнем сенсibilизации к адреналину и ГАМК (III группа) показали, что при такой активности рецепторного аппарата Т-лимфоцитов отмечается более высокое содержание относительного количества лимфоцитов.

Следует отметить, что кроме более низкого относительного количества лимфоцитов, составляющих клеточное звено иммунной системы, у животных с повышенной сенсibilизацией к адреналину Т-лимфоцитов отмечаются определенные негативные изменения в функциональном статусе иммунокомпетентных клеток. В частности, у таких животных большее количество Т-хелперов. При этом число Т-супрессоров не изменяется, а относительное содержание естественных киллеров (ЕК) самое низкое, в сравнении с остальными группами. Учитывая тот факт, что продуктом активированных Т-хелперов является интерлейкин-2 (ИЛ-2), высокое содержание этого цитокина в организме часто приводит к развитию неадекватного иммунного ответа. Кроме того, ИЛ-2 влияет на функциональное состояние нейроструктур мозга, в частности таких специализированных клеток, как нейроны сетчатки глаза (Дегтяренко Т., 2008). Как отмечает В. Казмирчук (2012), дефицит ЕК является фактором риска возникновения частых вирусных заболеваний и формирования новообразований.

Количественная характеристика другой популяции лимфоцитов – В-клеток не показала строгой зависимости относительного показателя у животных всех трех групп. Полученные с помощью реакции розеткообразования с эритроцитами мыши результаты свидетельствовали об отсутствии прямого, рецепторно-опосредованного влияния нейромедиаторов на данную популяцию лимфоцитов.

На рисунке представлены показатели иммунограмм собак в зависимости от степени



■ – степень сенсibilизации лимфоцитов к ГАМК до 10%;  
 □ – степень сенсibilизации лимфоцитов более к ГАМК 10%.

сенсibilизации «активных» Т-лимфоцитов к ГАМК. Результаты статистической обработки полученных данных показали, что при увеличении степени сенсibilизации к ГАМК абсолютное количество лейкоцитов уменьшается.

Сравнивая полученные результаты с данными оценки степени сенсibilизации к антагонисту ГАМК – адреналину следует отметить, что с повышением Т-адренорецепции абсолютное количество лейкоцитов имеет тенденцию к увеличению. Более выраженные изменения отмечены в относительном количестве лимфоцитов. Так, при уровне сенсibilизации «активных» лимфоцитов к ГАМК до 10 % относительное количество лимфоцитов, в среднем, на 8 % больше, чем при степени сенсibilизации более 10 %.

У животных с высокой степенью сенсibilизации к ГАМК отмечается увеличение относительного количества лимфоцитов в основном за счет Т-хелперных клеток, при этом относительное число Т-супрессоров, наоборот, уменьшается. Следует отметить, что такой эффект приводит к нарушению иммунорегуляторного индекса (Тх\Тс), что может способствовать проявлению дезрегулятивных изменений иммунофизиологического состояния. Важным фактом является то, что независимо от уровня сенсibilизации лимфоцитов к ГАМК количество естественных киллеров практически не изменяется.

## ВЫВОДЫ

Степень сенсibilизации «активных» Т-лимфоцитов к нейромедиаторам в нагрузочных тестах реакции розеткообразования коррелятивно отражает состояние нейроиммунорегуляторных механизмов в организме собак. Так, повышение сенсibilизации лимфоцитов к адреналину сопровождается увеличением абсолютного количества лейкоцитов. В свою очередь повышение сенсibilизации к ГАМК происходит на фоне противоположного эффекта, т.е. снижения абсолютного количества лейкоцитов. Оптимальные иммунофизиологические показатели иммунограмм отмечены при равной степени сенсibilизации как к адреналину, так и к ГАМК.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. БЕЛЯЕВА, С.С. (2004). Иммунотропные эффекты некоторых производных гаммааминомасляной кислоты: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Курск. 20 с.
2. БРОШКОВ, М.М. (2013). Прогнозування тривалості проведення імунокорекції у собак на підставі визначення індивідуальної адренергічної імунореактивності. У: Науковий вісник Луганського НАУ. № 53, с. 15-20.
3. ВЛЗЛОБ, В.В. та ін. (2012). Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Львів: СПОЛІОМ, с. 234-237.

4. ДЕГТЯРЕНКО, Т.В., БОГДАНОВА, О.В., ЧАУРА, А.Г. (2008). Теоретико-методичні засади клінічного застосування спрямованої нейроімунотуляції шляхом адекватного біостимулюючого впливу на зорову сенсорну систему. У: Досягнення біології та медицини. № 2(12), с. 8-16.

5. ДЕГТЯРЕНКО, Т.В., МАКУЛЬКІН, Р.Ф. (1997). Биогенные стимуляторы и иммунореактивность. Одесса: Маяк. 286 с.

6. КЦОЯН, А.А. ПЕТРОСЯН, А.А. (2002). Адренорецепторы в иммуномодуляции – современные представления и будущие направления. В: Терапевтический архив, № 10, с. 45-48.

7. КАЗМИРЧУК, В.Е., КОВАЛЬЧУК, Л.В., МАЛЬЦЕВ, Д.В. (2012). Клиническая иммунология и аллергология с возрастными особенностями. Киев: Медицина. 520 с. ISBN 978-617-505-168-9.

8. ТРОКОЗ, А.В., КАРПОВСЬКИЙ, В.І., ТРОКОЗ, В.О., КРИВОРУЧКО, Д.І., ШЕСТЕРИНСЬКА, В.В. (2012). Кількість еритроцитів і вміст гемоглобіну в крові свиней за різних типів вищої нервової діяльності. У: Науково-технічний бюллетень (Львів). Вип. 13, № 3-4, с. 37-41.

9. ШТАРК, М.Б., ГАЙНУТДИНОВ, Х.Л. (1995). Биэлектрические механизмы индукции антителами генератора патологически усиленного возбуждения при развитии нейроиммунных состояний. В: Моноклональные тела в нейробиологии: сб. научн. трудов. Новосибирск, с. 121-144.

Data prezentării articolului: 21.01.2015

Data acceptării articolului: 24.05.2015