

Ю. В. Швець, Є. Г. Шпак, Л. М. Сківка, В. К. Позур

Реакція органів та тканин імунної системи кролів на різні режими імунізації BCG

(Представлено академіком НАН України М. Є. Кучеренком)

The effect of different modes of BCG immunization on cytomorphologic characteristics of organs and tissues of the immune system in two rabbit species (White Giant and Gray Giant) is investigated. More significant positive changes in cellularity and weight indices of lymphoid organs are observed in White Giant rabbits under the intravenous and combined (intravenous with intranasal and intramuscular with subcutaneous) immunogene administration. This can be the evidence of genetic distinctive features in the immune response to BCG antigens in different rabbit species.

Імунізація BCG на сьогодні є основним методом профілактики туберкульозу. Однак, згідно з численними даними [1–3], цей методичний підхід не забезпечує формування ефективного протективного імунітету, а отже, і надійного захисту від інфекції. Відомо, що характер формування розвитку імунної відповіді залежить від способу введення імуногену [4, 5].

У цьому повідомленні наведено результати порівняльного дослідження реакції органів та тканин імунної системи при різних режимах імунізації BCG.

Об'єктом дослідження були аутбредні кролі порід Сірий Велетень та Білий Велетень. Вік тварин становив 3–4 міс., середня маса 3 кг.

Для імунізації дослідних кролів використовували вакцинний штам *Mycobacterium bovis* (BCG) (Сумська біофабрика). Бактерії культивували на середовищі ВКГ із стимулятором росту (ЗАТ “Ганза”, Київ).

Апробовано чотири способи введення імуногену кролям порід Білий Велетень та Сірий Велетень: внутрішньовенне, внутрішньовенне в поєднанні з інтраназальним, підшкірне та підшкірне в поєднанні з внутрішньом'язовим. Як контроль використовували лімфоїдні органи та тканини інтактних кролів цих порід.

Статистичну обробку результатів проводили в програмі Microsoft Excel 2000 з використанням *t*-критерію Стьюдента.

Порівняльна оцінка досліджуваних характеристик лімфоїдних органів у інтактних кролів порід Сірий Велетень та Білий Велетень показала високий ступінь їх подібності, тому на рис. 1 контрольні показники представлені, виходячи з узагальнених значень для кролів обох порід.

Як відомо, збільшення вмісту лімфоїдних клітин у лімфовузлах свідчить про активацію аферентної ланки імунної відповіді [6]. Пахові лімфовузли є регіонарними осередками антигенпрезентації при імунізації BCG підшкірно, а також підшкірно в поєднанні з внутрішньом'язовим введенням. З цієї причини у кролів, імунізованих зазначеними способами, реакція лімфовузлів була найбільш виразною: їх маса перевищувала контрольну більше ніж в 1,5 рази, при збільшенні показників відносної клітинності у 2 рази. Слід відзначити, що відносний вміст лімфоїдних клітин у пахових лімфовузлах перевищував контрольні показники у всіх імунізованих тварин, за винятком тих, яким BCG вводили внутрішньовенно +

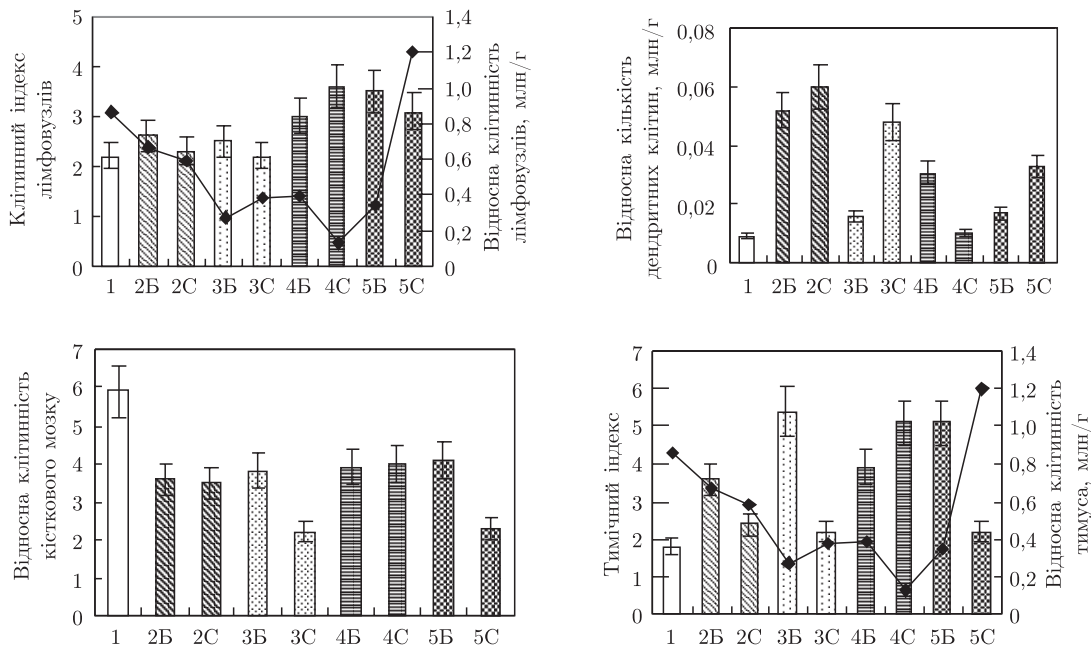


Рис. 1. Цитоморфологічна характеристика лімфоїдних органів кролів при різних режимах імунізації BCG. Варіанти досліді: 1 — інтактний контроль; 2 — внутрішньовенна імунізація; 3 — внутрішньовенна + інтраназальна імунізація; 4 — підшкірна імунізація (доріжкою вздовж хребта); 5 — підшкірна + внутрішньом'язова імунізація; Б — Білий Велетень, С — Сірий Велетень

+ інтраназально, що, ймовірно, пов'язано з пріоритетністю в процесі антигенпрезентації організованих лімфоїдних структур іншої локалізації.

Важливою організованою лімфоїдною структурою в процесі імунної відповіді є селезінка, мікрооточення якої сприяє міжклітинним контактам, індукції Т-залежної В-клітинної імунної відповіді і проліферації $CD8^+$ Т-лімфоцитів [4]. Одними з ключових ефекторів у цих процесах виступають дендритні клітини, які залежно від характеристик мікробного стимула (живі клітини, атенуйовані, інактивовані тощо) здатні функціонально дозрівати як у прозапальні антигенпрезентуючі клітини, так і у толерогенні [7, 8]. Вакцинні препарати BCG містять атенуйовані клітини. У наших дослідженнях використані живі, не ослаблені мікроорганізми. Як видно з рис. 1, вміст дендритних клітин у всіх дослідних тварин був вищим у порівнянні з інтактним контролем. Найбільша відносна кількість дендритних клітин по закінченні протоколів імунізації була у кролів обох порід, яким BCG, вводили внутрішньовенно, і у кролів породи Сірий Велетень, імунізованих комплексно: внутрішньовенно + інтраназально. Найнижчий відносний вміст дендритних клітин у популяції спленоцитів був у кролів породи Сірий Велетень, імунізованих BCG підшкірно. Імовірно, це пояснюється тим, що підшкірний спосіб імунізації є більш результативним для розчинних антигенів. У наших дослідженнях доцільність застосування підшкірного введення BCG пояснюється необхідністю проведення порівняльної характеристики ефективності широкого спектра режимів імунізації для стимуляції гуморальної імунної відповіді, рівень якої по відношенню до мікобактерій за умов інфікування є надзвичайно низьким. Необхідно зазначити, що більш ефективно на активації процесів у селезінці імунізація позначилась у кролів породи Сірий Велетень, для яких результативними виявились внутрішньовенне, підшкірне і комплексне (підшкірне + внутрішньом'язове) введення BCG.

Результати дослідження цитоморфологічних характеристик первинних лімфоїдних органів продемонстрували виразні позитивні зміни як у кістковому мозку, так і в тимусі кролів за всіх застосованих нами режимів імунізації ВСГ. Кістковий мозок — місце дозрівання В-лімфоцитів. Як видно з рис. 1, кількість клітин кісткового мозку на момент завершення експерименту була приблизно однаковою майже у всіх дослідних тварин і нижчою в порівнянні з контролем у середньому в 1,5 раза, що свідчить про триваючу активацію міграції преімуних В-клітин на периферію. Виняток складали кролі породи Сірій Велетень, імунізовані комплексно (внутрішньовенно + інтраназально та підшкірно + внутрішньом'язово).

Тимус, як відомо, спричиняє регулюючий вплив на рівень імунітету шляхом експорту на периферію ефекторних і регуляторних клітин, а також біологічно активних медіаторів [9, 10]. Зростання маси тимуса при одночасному збільшенні в ньому кількості лімфоїдних клітин свідчить про активацію в першу чергу реакцій клітинного імунітету [11]. Як видно з рис. 1, у всіх кролів, крім тих, що були імунізовані внутрішньовенно, на момент завершення експерименту розвивалась тимомегалія, рівень якої залежав від режиму імунізації: найбільш істотно розміри тимуса збільшувались при застосуванні комплексних режимів імунізації у кролів породи Білий Велетень (в 1,5 раза в порівнянні з контролем). При внутрішньовенному введенні ВСГ статистично достовірних змін маси тимусів імунізованих тварин не спостерігалось. Відносний вміст лімфоїдних клітин у тимусі практично всіх дослідних тварин був вищим у порівнянні з інтактним контролем (у середньому на 20%). Найбільш істотно кількість тимічних лейкоцитів (в 4,5 раза порівняно з контролем) зростала при комбінованому введенні ВСГ у кролів породи Сірій Велетень.

Підсумовуючи результати аналізу відповіді органів імунної системи кролів на різні режими імунізації ВСГ, слід зазначити, що більш виразною вона була у кролів породи Білий Велетень, що свідчить про існування генетично детермінованих відмінностей у формуванні імунної відповіді на ВСГ у кролів різних порід. Найбільш істотні позитивні зміни цитоморфологічних характеристик лімфоїдних органів, які свідчать про активацію як клітинної, так і гуморальної імунної відповіді, спостерігались при внутрішньовенному та при комбінованому введенні ВСГ (методичних підходах, які супроводжуються дисемінацією імуногену). Це дозволяє розглядати дисемінацію імуногену як потенційний спосіб підвищення ефективності профілактичної імунізації ВСГ.

1. *Власенко В. В.* Микробиология туберкулеза в фокусе проблем современности. – Винница: Гипанис, 1999. – 244 с.
2. *Giuliani A., Prete S. P., Graziani G. et al.* Influence of *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette Guerin on In Vitro Induction of CD1 Molecules in Human Adherent Mononuclear Cells // *Infect. and Immun.* – 2001. – **69**, No 12. – P. 7468–7470.
3. *Lee J., Choi K., Olin M. R. et al.* $\gamma\delta$ T Cells in Immunity Induced by *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin Vaccination // *Ibid.* – 2004. – **72**, No 3. – P. 1504–1511.
4. *Jeneway C. A., Travers P., Walport M., Shlomchik M.* Immunology: the immune system in health & disease. – New York; London: Garland, 2002. – 732 p.
5. *Ро́йт А., Бросто́фф Дж., Ме́йл Д.* Иммунология. – Москва: Мир, 2000. – 509 с.
6. *Cowell R. L., Dorsey K. E., Meinkoth J. H.* Lymph node cytology // *Vet. Clin. North. Amer. Small. Anim. Prakt.* – 2003. – **33**, No 1. – P. 47–67.
7. *Aliberti J., Sher A.* Positive and negative regulation of pathogen induced dendritic cell function by G-protein coupled receptors // *Mol. Immunol.* – 2002. – **38**, No 12–13. – P. 891–893.
8. *Reis e Sousa C., Diebold S. D., Edwards A. D. et al.* Regulation of dendritic cell function by microbial stimuli // *Pathol.-biol.* – 2003. – **51**, No 2. – P. 67–68.

9. *Hong R.* The thymus. Finally getting some respect // *Chest. Surg. Clin. N. Am.* – 2001. – **11**, No 2. – P. 295–310.
10. *Goldstein A. L., Badamchian M.* Thymosins: chemistry and biological properties in health and disease // *Expert Opin. Biol. Ther.* – 2004. – **4**, No 4. – P. 559–573.
11. *Grossi C. E., Ciccone E., Tacchetti C. et al.* Anatomy of the immune system: facts and problems // *Ital. J. Anat. Embryol.* – 2000. – **105**, No 4. – P. 97–124.

*Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка*

Надійшло до редакції 26.02.2007