

O. Bondarenko, PhD stud.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv,
N. Gula, DSc.
Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (NASU), Kyiv,
N. Makarchuk, DSc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv,
T. Goridko, PhD
Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (NASU), Kyiv

EFFECT OF DIFFERENT DOSES OF N-STEAROYLETHANOLAMINE ON ANXIETY LEVEL IN RATS AFTER ALCOHOLIZATION

The rats' behavior (anxiety level) in the elevated plus maze (EPM) while normal conditions, after alcohol consumption and introduction of N-stearoylethanolamine (NSE) in the dose of 0.1 and 5 mg/kg on the background of alcohol consumption was investigated. Analysis revealed alteration of the behavior's parameters of the rats during consumption of NSE at both doses. It was found that chronic alcoholization during 30 days decreased anxious behavior and emotional activity in EPM. In addition, reduction of anxiological effect caused by alcohol was shown in the group of rats that consumed NSE on the background of alcohol. Impact of NSE on the analyzed behavior pattern revealed linear dependence: the higher dose of NSE, the higher impact of NSE.

Keywords. N-stearoylethanolamine, alcohol, elevated plus maze, anxiety.

УДК 59.085

А. Путніков, пров. інж., В. Позур, д-р біол. наук, В. Святецька, інж. 1-кат.
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ,
Л. Закордонець, асист.
Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ

РЕАКЦІЯ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ НА ВВЕДЕННЯ МУЛЬТИПРОБІОТИКА "СИМБІТЕР" НА ФОНІ КУРСОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЦЕФТРИАКСОНУ

Метою роботи було дослідження реакції імунної системи щурів на введення мультипробіотика "Симбітер" на фоні курсового застосування цефтриаксону. Показано, що застосування пробіотика як самостійно, так і на фоні курсу ін'єкцій цефтриаксону, супроводжувалося зростанням вагового індекса та клітинності селезінки, підвищенням вагового індексу тимусу без статистично достовірних змін його клітинності. У групі тварин, котрі отримали "Симбітер" на тлі курсового застосування антибіотика, зареєстровано підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів. Отже, отримані дані свідчать на користь здатності пробіотика "Симбітер" стимулювати гуморальні імунні реакції.

Ключові слова: "Симбітер", цефтриаксон, органи імунної системи, циркулюючі імунні комплекси.

Вступ. Курсове введення антибіотиків супроводжується порушеннями імунологічної реактивності як системного, так і локального характеру. Внаслідок розвитку дисбактеріозу, спричиненого застосуванням антибіотиків, знижується кількість лейкоцитів (у тому числі Т-лімфоцитів, нейтрофілів) та рівень деяких цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-3, гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулювального фактору (ГМ-КСФ)), знижується фагоцитоз макрофагів, маса селезінки та спостерігаються ознаки порушення гемопоезу. Рівень таких порушень корелює зі зменшенням кількості біфідобактерій. Таким чином, баланс мікробного профілю кишечника відіграє важливу роль у підтримці нормального функціонування імунної системи [8, 14]. Для корекції антибіотико-асоційованих порушень мікрофлори застосовують пробіотичні препарати. Пробіотики, як відомо, здатні знижувати побічні ефекти антибіотиків, а також зменшувати прояви асоційованої з антибіотиками діареї [18, 19]. Пре-, про- та симбіотики володіють широким спектром позитивних ефектів при патологічних станах, пов'язаних з порушеннями імунітету, що було показано на тваринних моделях [9]. Експериментальні дані свідчать, що пробіотики ефективно пригнічують хронічні запальні процеси у кишечнику та здатні справляти позитивний вплив при ожирінні. Також деякі із препаратів пробіотиків попереджають або затримують пухлинний ріст [20]. Цей ефект, як припускають, пов'язаний із їх впливом на міцеву мікрофлору та з їх імунорегуляторною дією [11, 12].

"Симбітер" багатокомпонентний пробіотичний препарат, що містить у своєму складі від 14 до 25 бактеріальних штамів роду *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. longum*), *Lactobacillus* (*L. fcidophilus*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *L. helveticus*), *Propionibacterium* (*P. freudenreichii* ssp. *shermanii*, *P. acidipropionici*), *Streptococcus* (*S. salivarius*

ssp. *thermophilus*), а також штами *Acetobacter aceti* та *Lactococcus lactis*. Цей препарат показав широкий спектр пробіотичних властивостей та був запропонований як додатковий засіб в комплексній терапії ряду патологічних станів алергічної та аутоімунної етіології [1].

Метою даної роботи була оцінка впливу мультипробіотика "Симбітер", застосованого на фоні курсового введення цефтриаксону, на відносні вагові індекси та клітинність лімфоїдних органів, а також сироватковий рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) щурів.

Матеріали та методи досліджень. В експерименті були використані щури-самці лінії Вістар ($m=180-230$ г), яких утримували в стандартних умовах виварію ННЦ "Інститут біології" Київського національного університету імені Тараса Шевченка (12:12 цикл день:ніч, $T_{сер}=21^{\circ}C$). Перед початком досліджень тварини були рандомізовані за вагою і розподілені на 4 групи: I – інтактний контроль (щурам щоденно вводили внутрішньом'язово (в/м) 0,1 мл води для ін'єкцій, а через 4 год – 1 мл води для ін'єкцій перорально (*per os*)), $n=8$; II – щурам щоденно вводили в/м 0,1 мл води для ін'єкцій, а через 4 год – 0,16 мл/кг симбітеру *per os* $n=8$; III – щурам щоденно вводили внутрішньом'язово 50 мг/кг цефтриаксону (БАТ "Київмедпрепарат", Україна), розведеного у воді для ін'єкцій, а через 4 год, вводили *per os* 1 мл води для ін'єкцій $n=8$; IV – щурам щоденно вводили в/м 50 мг/кг цефтриаксону, а через 4 год, вводили *per os* 0,16 мл/кг "Симбітер" $n=8$. "Симбітер ацидофільний" (SYMBITER® ACIDOPHILUS, ТОВ "Пролісок", Україна) містить біомасу живих клітин симбіоза пробіотичних мікроорганізмів, КУО/мл, не менш ніж: лактобацили і лактококи – $1,0 \cdot 10^9$, біфідобактерії – $1,0 \cdot 10^8$, пропіоновокислі бактерії – $3,0 \cdot 10^7$, оцтовокислі бактерії – $1,0 \cdot 10^5$.

Реакцію лімфоїдних органів оцінювали за відносною масою селезінки та тимусів (ваговий індекс), котру розраховували за відношенням маси органу до загальної маси тварини ($X100\%$), а також за відносною клітинністю – відношенням абсолютної кількості каріоцитів до маси органу [13].

Абсолютну кількість каріоцитів селезінки та тимусу визначали у тканинному гомогенаті, отриманому шляхом ручної гомогенізації з наступним осмотичним лізисом еритроцитів. Для визначення сироваткового рівня ЦІК використовували метод преципітації в 3,75% поліетиленгліколі (ПЕГ) 6000 (в мікромодифікації) з наступним фотометричним вимірюванням оптичної густини преципітату. Паралельні розведення досліджуваної сироватки інкубували 1 год. при кімнатній температурі в борно-боратному буфері ($pH=8,4$) та ПЕГ. Вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 450 нм [3].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з розрахунком середнього значення (M), середнього квадратичного відхилення (σ) та середньої квадратичної похибки (m). Для визначення вірогідності відмінності показників між дослідом та контролем використовували t -критерій Стьюдента [4].

Результати досліджень та їх обговорення. Оцінка вагових та клітинних показників лімфоїдних органів відображає загальний стан імунної реактивності на рівні організму. Для адекватної оцінки реакції органів імунної системи необхідно здійснювати одночасний облік та аналіз обох показників, оскільки збільшення маси лімфоїдного органа може відбуватись не лише за рахунок лімфоїдних клітин, а, наприклад, за рахунок накопичення специфічних білкових продуктів таких, як тафтсин і пропердин або імунних комплексів у селезінці, розростання сполучної тканини або жирової дисплазії тощо [7, 16, 17, 21]. Мікрооточення селезінки сприяє міжклітинним контактам і генерації імунної відповіді. Головні події, які відбуваються в селезінці – індукція Т-залежної В-клітинної імунної відповіді, генерація антитілопродукуючих В-лімфоцитів і проліферація $CD8^+$ Т-лімфоцитів. Весь цей час селезінка перебуває у стані транзитної спленомегалії, рівень якої пропорційний рівню активації імунної відповіді [10]. Введення цефтриаксону не призводило до достовірних змін відносної ваги та клітинності селезінки у порівнянні з аналогічними показниками у інтактних тварин (Рис.1.). Застосування пробіотика викликало підвищення як вагового індексу селезінки (на 38 %), так і відносної кількості спленічних каріоцитів (на 46%). Оскільки в селезінці відбуваються процеси антитілоутворення, зазначені зміни її показників можуть вказувати на активацію гуморальної імунної відповіді антигенними структурами бактерій, що входять до складу препарату.

Активаторна дія "Симбітеру" зберігалась також при одночасному введенні з антибіотиком. Відносна кількість спленічних каріоцитів у щурів цієї групи була на 53% вищою, а відносна вага самого органу – на 28%, у порівнянні з показниками контрольної групи ($p<0,05$). Одним з ключових лімфоїдних органів в розвитку імунної від-

повіді є тимус, який спричиняє регуляторний вплив на рівень як клітинного, так і гуморального імунітету шляхом експорту на периферію ефektorних та регуляторних клітин [22]. Введення цефтриаксону сприяло збільшенню досліджуваних показників тимусу. Так, відносна вага органу у щурів цієї групи підвищувалась на 36 %, а клітинність зростала у 2,8 рази, у порівнянні з контрольними тваринами (Рис.1.). Ймовірно причиною зареєстрованого феномену може бути відомий з літератури негативний вплив антибіотика на міграцію і апоптоз лейкоцитів [5]. У групі тварин, яким вводили "Симбітер", спостерігалось збільшення відносної ваги тимусу на 33 % у супроводі зі зниженням вмісту клітин в 1,5 рази відносно контролю. Це може пояснюватись активаторною дією "Симбітеру" на міграцію лімфоїдних клітин на периферію. З літератури відома здатність пробіотичних бактерій спричиняти збільшення кількості циркулюючих регуляторних $CD4^+Foxp3^+$ Т-клітин [15].

Комбінування "Симбітеру" з антибіотиком також призводило до підвищення відносної ваги тимусу, однак його клітинність була на рівні контрольних значень.

Утворення імунних комплексів (ІК) – один из компонентів нормальної імунної відповіді. В нормі ІК, що утворилися в кровообігу, фагоцитуються і руйнуються. За фізіологічних умов, утворення та присутність циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в рідинах є одним з проявів імунної відповіді організму на надходження антигенів та важливим чинником, що забезпечує імунітет. Утворені імунні комплекси, за цих умов, деякий час циркулюють в лімфі і крові, після чого відбувається їх елімінація фагоцитами. Взаємодія ЦІК з імунокомпетентними клітинами призводить до модуляції імунної відповіді. В крові імунні комплекси можуть знаходитись у вільному та зв'язаному стані, однак останні майже не виявляють негативного впливу на організм, тому більший інтерес складають саме вільні ЦІК [2].

Важливим показником імунологічної реактивності є рівень ЦІК в сироватці крові. Цей показник є відображенням деструктивно-дегенеративних явищ в організмі з одного боку, оскільки деструктивні процеси в тканинах результуються експозицією великої кількості розчинних антигенів, які нейтралізуються та елімінуються антитілами, що призводить до зростання вмісту ЦІК у циркулюючій крові. З іншого боку вміст ЦІК може слугувати характеристикою процесів біосинтезу антигенов в цілому [6]. За результатами наших досліджень, рівень ЦІК у сироватці щурів контрольної групи склав 86 у.о. (Рис 2.). Застосування цефтриаксону майже не впливало на концентрацію ЦІК в крові тварин. Введення "Симбітеру" супроводжувалось підвищенням рівня ЦІК на 40 %, однак воно було недостовірним у порівнянні з показниками щурів контрольної групи. У сироватці щурів IV групи, яким вводили препарати одночасно, рівень ЦІК був найвищим серед дослідних груп і перевищував контрольні значення на 53%. Слід зазначити, що сироваткові рівні імунних комплексів у дослідних тварин всіх груп характеризувалися значною індивідуальною варіабельністю.

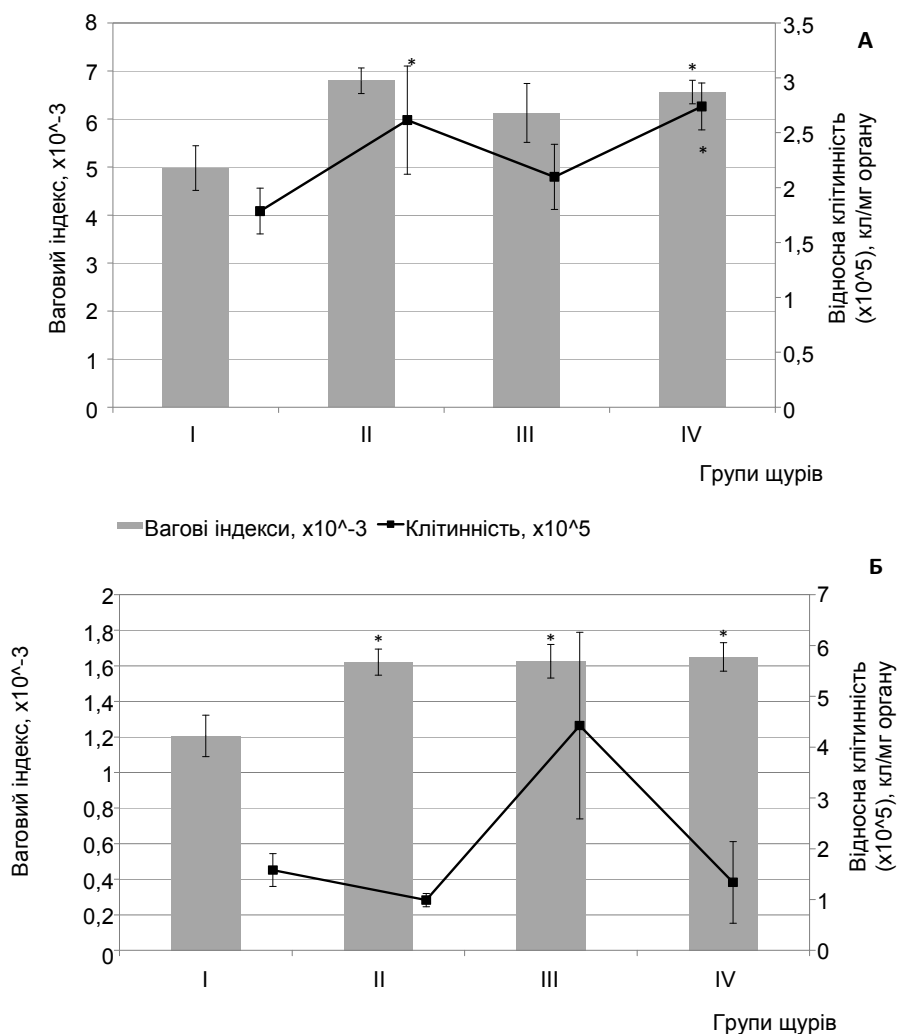


Рис.1. Вагові індекси і відносна клітинність селезінки (А) і тимусу (Б) щурів, що отримали мультипробіотик "Симбітер" на фоні курсового введення цефтриаксону. I – інтактні контрольні тварини (n=8); II – тварини, яким вводили "Симбітер" (n=8); III – тварини, яким вводили цефтриаксон (n=8); IV – тварини, яким вводили "Симбітер" і цефтриаксон (n=8)

* – $p < 0,05$, у порівнянні з показниками щурів контрольної групи.

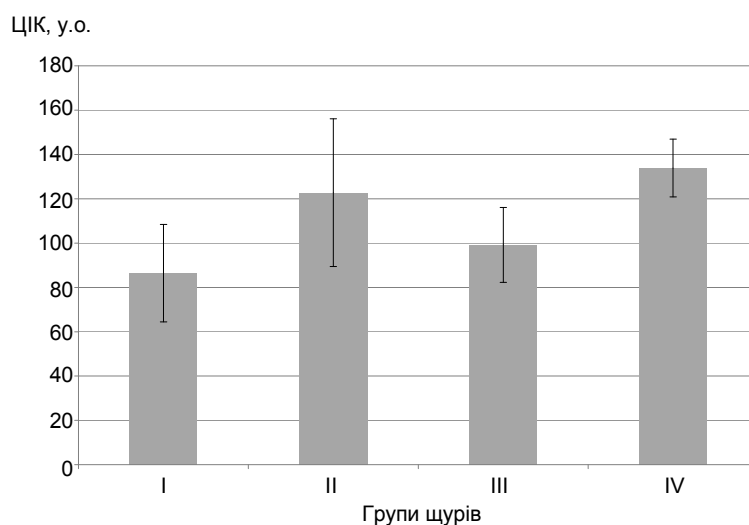


Рис.2. Рівень циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові щурів, що отримали мультипробіотик "Симбітер" на фоні курсового введення цефтриаксону. I – інтактні контрольні тварини (n=8); II – тварини, яким вводили "Симбітер" (n=8); III – тварини, яким вводили цефтриаксон (n=8); IV – тварини, яким вводили "Симбітер" і цефтриаксон (n=8)

Висновки. Таким чином, зміна цитоморфологічних показників селезінки та рівнів ЦІК у сироватці тварин, що отримували "Симбітер", вказують на здатність препарату стимулювати гуморальні імунні реакції, розви-

ток яких асоціюється з протизапальною поляризацією імунної відповіді.

Список використаних джерел

1. Волосовець О.П., Прохорова М.П., Кривопустов С.П., Бичкова Н.Г., Слюсар Н.А. Ефективність мультипробиотика "Симбітер" у комплексному лікуванні atopічного дерматиту та дерматореспіраторного синдрому у дітей. *Современная педиатрия* 1(29) 2010;168-171.
2. Імунологія. Вершигора А.Ю., Пастер Є.У., Колибо Д.В. та ін. – Київ: Вища школа – 2005. – С.599.
3. Клиническая иммунология. Руководство для врачей / Под ред. Е.И. Соколова, Москва: Медицина – 1998. – С.272.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных – Москва: МедиаСфера – 2002. – 312 с.
5. Al-Banna NA, Pavlovic D, Gründling M, Zhou J, Kelly M, Whynt S. Impact of antibiotics on the microcirculation in local and systemic inflammation // *Clin Hemorheol Microcirc*. 2013;53(1-2):155-69.
6. Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol*. 2000; v.53; №6: 424-32.
7. Eichner ER. Splenic function: normal, too much and too little. *Am J Med*. 1979 Feb;66(2):311-20.
8. Gao F., Li M., Liu Yi. Intestinal dysbacteriosis induces changes of T lymphocyte subpopulations in Peyer's patches of mice and orients the immune response towards humoral immunity. *Gut Pathogens*. 2012; 4; 19.
9. Hwang J.S., Im C.R., Im S.H. Immune disorders and its correlation with gut microbiome. *Immune network*. 2012; 12 (4); 129-138.
10. Immunology: the immune system in health & disease. C.A. Jeneway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik Fifth edition: New York and London Garland Publishing. – 2002. – P.732.
11. Jirillo E., Jirillo F., Magrone T. Healthy effects exerted by prebiotics, probiotics, and symbiotics with special reference to their impact on the immune system. *Int J Vitam Nutr Res*. 2012;83 (3); 200-208.
12. Konieczna P., Akdis C.A., Quigley E.M., Shanahan F., O'Mahony L. Portrait of an immunoregulatory Bifidobacterium. *Gut Microbes*. 2012; 3(3); 261-266.
13. Kozłowska E., Kopec-Szlezak J., Drela N., Michur H., Izdebska-Szymona K. Sensitivity of mouse lymphoid and nonlymphoid organs to Silesian air pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1997; №37; №1; 10-16.
14. Liang Q.H., Zhang L., Duan S.C. et al. Influence of intestinal dysbacteriosis on immune and hematopoietic function in mice. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2004; 42; 708-711.
15. Liu Y, Fatheree NY, Dingle BM, Tran DQ, Rhoads JM. Lactobacillus reuteri DSM 17938 changes the frequency of Foxp3+ regulatory T cells in the intestine and mesenteric lymph node in experimental necrotizing enterocolitis. *PLoS One*. 2013;8(2):e56547.
16. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nat Rev Immunol*. 2005 Aug;5(8):606-16.
17. Nishino M, Ashiku SK, Kocher ON, Thurer RL, Boisselle PM, Hatabu H. The thymus: a comprehensive review. *Radiographics*. 2006 Mar-Apr; 26(2):335-48.
18. Ouwehand AC, Donglian C, Weijian X, Stewart M, Ni J, Stewart T, et al. Probiotics reduce symptoms of antibiotic use in a hospital setting: A randomized dose response study. *Vaccine*. 2013 Nov 26. pii: S0264-410X(13)01587-9. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.11.053.
19. Singh VP, Sharma J, Babu S, Rizwanulla, Singla A. Role of probiotics in health and disease: a review. *J Pak Med Assoc*. 2013 Feb;63(2):253-7.
20. Uccello M, Malaguarnera G, Basile F, et al. Potential role of probiotics on colorectal cancer prevention. *BMC Surg*. 2012;12 Suppl 1:S35.
21. Wluka A, Olszewski WL. Innate and adaptive processes in the spleen. *Ann Transplant*. 2006;11(4):22-9.
22. Yarin A.A. Cytokines in the thymus: production and biological effects. *Curr. Med. Chem*. 2004; №11; P.447-464.

Надійшла до редколегії 28.01.14

А. Путников, вед. инж., В. Позур, д-р биол. наук, В. Святецкая, инж. 1-кат.
КНУ имени Тараса Шевченко, Киев,
В. Закордонетс, асист.
Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца, Киев

РЕАКЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КРЫС НА ВВЕДЕНИЕ МУЛЬТИПРОБИОТИКА "СИМБИТЕР" НА ФОНЕ КУРСОВОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЦЕФТРИАКСОНА

Целью работы было исследование реакции иммунной системы крыс на введение мультипробиотика "Симбитер" на фоне курсового применения цефтриаксона. Показано, что применение пробиотика как самостоятельно, так и на фоне курса инъекций цефтриаксона, сопровождалось увеличением весового индекса и клеточности селезенки, повышением относительного веса тимуса без статистически достоверных изменений его клеточности. В группе животных, которые получили "Симбитер" на фоне курсового применения антибиотика, зарегистрировано повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов. Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу способности пробиотика "Симбитер" активировать гуморальные иммунные реакции.

Ключевые слова: "Симбитер", цефтриаксон, органы иммунной системы, циркулирующие иммунные комплексы.

A. Putnikov, ing., V. Pozur, DSc., V. Svyatetskaya, ing.,
Taras Shevchenko National University of Kiev, Kiev,
L. Zakordonets, assist.
Bogomolets national medical university, Kyiv

THE REACTION OF THE IMMUNE SYSTEM OF RATS ON MULTIPROBIOTIC SYMBITER ON THE BACKGROUND A COURSE OF CEFTRIAXONE

The immune system response on multiprobiotic "Symbiter" against the background of the course of injections of ceftriaxone was investigated in rats. It was shown, that probiotic use alone and against the background of the course of ceftriaxone antibiotic was associated with the increase of weight indices and the cellularity of spleen as well as the increase of the relative weight of the thymus without statistically significant changes in the cellularity of this organ. Increased levels of circulating immune complexes were registered in rats received multiprobiotic "Symbiter" against the background of the course of injections of ceftriaxone. It suggests the ability of "Symbiter" to activate humoral immune reaction.

Keywords: "Symbiter", ceftriaxone, organs of the immune system, circulating immune complexes.

УДК 581.5

О. Омельчук, асп., Б. Проць, канд. біол. наук.
Державний природознавчий музей НАН України, Львів

РАРИТЕТНІ ФІТОЦЕНОЗИ РІЧКОВО-ДОЛИННИХ КОРИДОРІВ ЗАКАРПАТТЯ

У зв'язку з посиленням трансформації природних екосистем, обов'язковою умовою забезпечення охорони фіторізноманіття є облік та проведення оцінки стану раритетних угруповань рослинності. У межах річково-долинних коридорів Закарпаття нами виявлено 9 формацій та 64 асоціації раритетних синтаксонів. З них 10 лісових, 5 лучних та 49 водних. Більшість осередків раритетних угруповань перебувають під охороною у межах регіонального ландшафтного парку "Притисянський" (6 формацій, представлені 57 асоціаціями). Частина локалітетів угруповань формації марсилії чотирилистої (*Marsilea quadrifoliae*) та латаття білого (*Nymphaea albae*), потребують включення до території об'єктів природо-заповідного фонду. 86% кількості раритетних рослинних угруповань знаходяться у високому ступені ризику їх життєдіяльності та потребують проведення нагальних активних природоохоронних заходів.

Ключові слова: раритетні угруповання, Зелена книга, поширення, Закарпаття.

Вступ. Головними засадами сучасної концепції охорони природи є збереження біорізноманіття, у тому числі рідкісних й зникаючих видів флори, цінних рослинних

угруповань та оселищ. Охорона рідкісних видів рослин може бути забезпечена лише тоді, коли охороняються фітоценози, компонентами, або едифікаторами яких во-