

ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У СУК ЗА РІЗНОГО РІВНЯ ЕСТРАДІОЛУ ТА ПРОГЕСТЕРОНУ

М.М.Брошков,
Одеський державний аграрний університет

Вивчали зміни імунофізіологічних показників клітинного імунітету у сук за різного рівня естрадіолу та прогестерону в сироватці крові. Вплив естрадіолу та прогестерону на клітинний імунітет – дозозалежний. Висока концентрація естрадіолу в крові (вище 65 пг/мл) та прогестерону (вище 26 нг/мл) знижує кількість Т-хелперів та підвищує кількість Т-супресорів. За високих концентрацій статевих стероїдів спостерігали зниження імунорегуляторного індексу. Найбільша кількість НК-клітин відмічена за концентрацій статевих стероїдів, характерних для естрального періоду статевого циклу.

Клітинний імунітет, естрадіол, прогестерон, імунорегуляторний індекс, статеві стероїди.

Дисфункції репродуктивної системи у сук займають значну частину серед патологій. На клінічний прояв патологічних процесів статевої системи, безумовно, впливає генетична схильність, інфекційні процеси та гормональний дисбаланс[1,2]. До супутніх факторів можна віднести якість годівлі, утримання, вплив стресорів. Усе це знижує здатність до адекватної імунної відповіді організму та місцевого імунітету слизових оболонок, які є «воротами» для антигенів. Порушення місцевого імунітету приводить до агресивної поведінки умовно-патогенної мікрофлори, внаслідок переходу в патогенну[3].

Оскільки репродуктивні органи знаходяться під безпосереднім контролем гормонів, від їх рівня буде залежати і ступінь резистентності слизових оболонок. Це пов'язано з наявністю специфічних рецепторів на мембранах імунокомпетентних клітин та зміною їх активності залежно від рівня статевих стероїдів. Стосовно впливу прогестерону на імунну відповідь відомо, що, на відміну від естрогенних рецепторів, лімфоцити не мають класичних прогестеронових рецепторів, але, як і макрофаги, мають глюкокортикоїдні рецептори. Тому вважають, що вплив прогестерону на імунну систему здійснюється опосередковано: через глюкокортикоїдні рецептори [4]. Статеві стероїди володіють не тільки системним впливом на імунологічну реактивність, але й значно впливають на стан місцевого імунітету, зокрема, слизових оболонок статевих шляхів [5]. За даними літератури, імунний захист слизових оболонок статевої системи реалізується, в основному, під впливом гормонів яєчників. В літературі практично відсутні дані щодо впливу статевих стероїдів на імунофізіологічні показники крові собак, а також можливість проведення заходів з імунокорекції фармакологічними засобами з урахуванням як гормонального фону, так і показників імунітету[6,7].

Метою досліджень було з'ясування впливу різного рівня естрадіолу і

прогестерону в крові сук на імунфізіологічні показники крові.

Матеріалі методи досліджень. У дослідженнях, які проводили у березні-червні 2013 р., було вісім сук породи доберман, віком від 2 до 6 років. Крові брали з ліктьової вени вранці натще у пробірку для визначення імунфізіологічних показників та «епіндорфи» з подальшим центрифугуванням і виділенням сироватки. Рівень естрадіолу та прогестерону в сироватці крові сук визначали методом ІФА, тест системами фірми «Хема» (Москва). Граничним рівнем естрадіолу в період еструсу вважали 51–65 пг/мл, а прогестерону – 8-26 нг/мл. Субпопуляції Т-лімфоцитів досліджували тестом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана (Е тф. р.-РУЛ, Етф.ч-РУЛ). За розеткоутворюючу вважали клітину, що приєднала три і більше еритроцитів.

Результати досліджень. Порівнюючи відносний вміст лімфоцитів та їх субпопуляцій за різного вмісту естрадіолу та прогестерону в крові сук, слід відзначити, що за підвищення рівня естрадіолу в крові відбувається одночасне зменшення кількості лімфоцитів (табл. 1).

1. Відносна кількість лімфоцитів та їх субпопуляцій за різного рівня естрадіолу та прогестерону в крові сук ($M \pm m$)

Показник	За низької концентрації		За концентрації, характерної для еструсу		За високої концентрації	
	естрадіол	прогестерон	естрадіол	прогестерон	естрадіол	прогестерон
Лімфоцити, %	33,00± 14,90	24,02± 14,83	30,50± 21,45	39,25± 27,6	23,20± 3,35	25,75± 6,19
Т-хелпери, %	52,80± 9,01	51,11± 9,49	45,11± 10,15	46,40± 12,28	51,60± 5,18*	48,00± 11,14
Т-супресори, %	17,80± 9,23	16,44± 2,60	14,75± 3,85	17,60± 6,69	22,00± 6,48	21,60± 9,21
НК-клітини, %	5,8± 1,30	5,78± 1,30	6,22± 1,20	7,20± 1,79**	6,60± 2,07	6,00± 1,00

* $p \leq 0,05$ порівняно з концентрацією, характерною для еструсу; ** $p \leq 0,05$ порівняно з низькою концентрацією

Так, за концентрації цього гормону в межах 51-65 пг/мл, що характерно для еструсу, зниження відносної кількості лімфоцитів, порівняно з періодом, коли рівень естрадіолу низький, відбулося на 2,5 %. При цьому, більш суттєвим було зниження Т-хелперів, ніж Т-супресорів.

На відміну від Т-лімфоцитів, кількість НК-клітин збільшується разом із підвищенням концентрації естрадіолу. Так, при високому рівні цього гормону в організмі, відносна кількість НК-клітин становила $6,6 \pm 2,07\%$, проти $5,8 \pm 1,3\%$ за низької концентрації гормону. Високий рівень естрадіолу також сприяв збільшенню числа Т-супресорів. При цьому, кількість лімфоцитів знизилась. За концентрації прогестерону нижче 8 нг/мл (анестральний період), відносна кількість лімфоцитів становила $24,02 \pm 14,83\%$. При збільшенні концентрації цього гормону до рівня, характерного для лютеальної фази статевих циклу, кількість лімфоцитів збільшилася в 1,63 рази. При подальшому підвищенні концентрації прогестерону в крові, кількість лімфоцитів зменшилася до рівня анестрального періоду, в основному, за рахунок Т-хелперних (індукторних) клітин. Число Т-супресорів (цитотоксичних), навпаки, збільшилось. Оцінка абсолютної кількості лейкоцитів за різних концентрацій естрадіолу та прогестерону в крові сук показала, що цей показник змінювався не суттєво в різні періоди спостереження (табл. 2). Винятком був лише період еструсу, коли при рівні прогестерону 8-26 нг/мл кількість лейкоцитів була найбільшою.

2. Кількість лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій за різного рівня естрадіолу та прогестерону в крові сук ($M \pm m$)

Показники	За низької концентрації		За концентрації, характерної для еструсу		За високої концентрації	
	естрадіол	прогестерон	естрадіол	прогестерон	естрадіол	прогестерон
Лейкоцити, Г/л	$6,26 \pm 0,80$	$6,30 \pm 0,76$	$6,18 \pm 1,28$	$8,00 \pm 1,54$	$6,16 \pm 1,74$	$6,48 \pm 1,57$
Лімфоцити, Г/л	$1,93 \pm 0,99$	$1,60 \pm 0,85$	$1,81 \pm 0,73$	$1,83 \pm 0,90^*$	$1,39 \pm 0,20$	$1,76 \pm 0,36$
Т-хелпери, Г/л	$1,07 \pm 0,62$	$0,67 \pm 0,32$	$0,78 \pm 0,35$	$0,90 \pm 0,40$	$0,71 \pm 0,08$	$0,82 \pm 0,17$
Т-супресори, Г/л	$0,39 \pm 0,22$	$0,22 \pm 0,08$	$0,25 \pm 0,09$	$0,30 \pm 0,12$	$0,37 \pm 0,09$	$0,38 \pm 0,18$
Імунорегуляторний індекс	$2,84 \pm 0,89$	$2,96 \pm 0,47$	$3,12 \pm 0,49^*$	$3,02 \pm 0,59$	$2,56 \pm 0,99$	$2,50 \pm 1,04$
НК-клітини, Г/л	$0,12 \pm 0,07$	$0,09 \pm 0,06$	$0,11 \pm 0,05$	$0,12 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,03$

* $p \leq 0,05$ порівняно з низькою концентрацією

Найбільш вираженою була реакція субпопуляцій Т-лімфоцитів на зміну концентрацій естрадіолу та прогестерону в сироватці крові. Так, при збільшенні концентрації естрадіолу, відбувалося зменшення кількості Т-лімфоцитів, а за збільшення прогестерону, навпаки, кількість цих клітин збільшувалася. Високі концентрації естрадіолу спричинювали подальше зниження кількості Т-хелперів. При цьому, кількість Т-супресорів, навпаки, збільшувалася.

Оцінка величини імунорегуляторного індексу (IPI) показала, що за низьких концентрацій статевих стероїдів та за концентрацій, характерних для

еструсу, він мав нормальні значення (в межах 3,0). За підвищених концентрацій естрадіолу і прогестерону ІРІ знижувався до 2,5. Це свідчить про дисбаланс між імунорегуляторними субпопуляціями лімфоцитів (переважання Т-супресорів над Т-хелперами) і може бути одним з факторів ризику розвитку патологічних станів репродуктивної системи в постестральний період. Абсолютна кількість НК-клітин була найбільшою під час еструсу і становила $0,11 \pm 0,05$ Г/л за концентрації естрадіолу 51-65 пг/мл та $0,12 \pm 0,04$ Г/л – 8-26 нг/мл. Подальше збільшення вмісту стероїдів сприяло зниженню кількості цих клітин, яке більш вираженим було за високої концентрації естрадіолу.

Висновки

Встановлена дозозалежність впливу статевих стероїдних гормонів в організмі сук на абсолютну та відносну кількість лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій. Підвищена концентрація естрадіолу призводить до зниження кількості Т-хелперів, при цьому кількість Т-супресорів, навпаки, збільшується. Переважання Т-супресорів призводить до зниження імунорегуляторного індексу.

Література

1. Аллен В.Э. Полный курс акушерства и гинекологии собак. (Изд.Гэри К. У. Инглэнд) / пер. с англ. О. Суворова/ В. Э. Аллен. – М. : Аквариум ЛТД, 2002. – 448 с.
2. Фелдман Э., Нелсон Р. Эндокринология и репродукция собак и кошек (Пер. с англ.) / Э. Фелдман, Р. Нелсон. – М.: Софион, 2008. – 1256 с.
3. Федоров Ю.Н. Основы иммунологии и иммунопатологии собак / Ю. Н. Федоров, О. А. Верховский, И. В.Слугин. – М. : Издательско-информационный центр ООО «Информ-12», 2000. – 248с.
4. Holst Bodil Str. Leucocyte phagocytosis during the luteal phase in bitches / Bodil Str. Holst, M. Gustavsson, I. Lilliehook // Veterinary Immunology and Immunopathology. –Vol. 153. – 2013. – P. 77-82.
5. Reproductive endocrinology and physiology of the bitch and queen / P. N. Olson, P. W. Husted, T. A. Allen, T. M. Nett // Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. – 2000. –Vol.14. – P.927-946.
6. Schmidt P. M. Ovarian activity, circulating hormones and sexual behaviour in the cat II: relationships during pregnancy, parturition, lactation and the postpartum estrus / P. M. Schmidt, P. K. Chakraborty, D. E. Wildt // Biology of Reproduction. – 1999. –Vol. 28. – P.657-671.
7. Shille V. M. Follicular function in the domestic cats determined by estradiol 17 beta concentrations in plasma: relation to oestrous behavior and cornification of exfoliated vaginal epithelium / V. M. Shille, K. E. Lundstrom, G. H. Stabenfeldt // Biology of Reproduction. – 1999. – Vol. 21. –P. 953-963.

Изучали изменения иммунофизиологических показателей клеточного иммунитета у сук при различном уровне эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови. Влияние эстрадиола и прогестерона на клеточный иммунитет является дозозависимым. Высокая концентрация эстрадиола в крови (выше 65 пг/мл) и прогестерона (выше 26 нг/мл) снижает количество Т-хелперов и повышает количество Т-супрессоров. При высоких концентрациях половых стероидов наблюдали снижение иммунорегуляторного индекса. Наибольшее количество НК-клеток отмечено при концентрациях половых стероидов, характерных для эстрального периода полового цикла.

Клеточный иммунитет, эстрадиол, прогестерон, иммунорегуляторный индекс, половые стероиды.

Studied changes in indicators immunophysiological cellular immunity in females at different levels of estradiol and progesterone in serum. The influence of estradiol and progesterone on cellular immunity is dose-dependent. The high concentration of estradiol in the blood (greater than 65 pg/ml) and progesterone (above 26 ng/ml) reduces the number of T-helpers and increases the number of T-suppressors. Also, at high concentrations of sex steroids there is a decrease in the immunoregulatory index. The greatest number of NK-cells was noted at concentrations of sex steroids characteristic of the estrous period of the sexual cycle.

Cellular immunity, estradiol, progesterone, immunoregulatory index, sex steroids.