

ДИНАМІКА ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У СОБАК ЗА ВВЕДЕННЯ ФОСПРЕНІЛУ

М. М. БРОШКОВ, кандидат ветеринарних наук

Одеський державний аграрний університет

Показано динаміку змін відносної кількості лімфоцитів та їх субпопуляцій, фагоцитарної активності нейтрофілів, еозинофілів, тромбоцитів, моноцитів, еритроцитів та гемоглобіну за введення препарату Фоспреніл. Встановлено, що після курсу застосування імуностимулюючого препарату відбувається зниження відносної кількості Т-лімфоцитів за одночасного збільшення кількості В-лімфоцитів. Разом з тим відзначено зростання фагоцитарної активності нейтрофілів після використання імуностимулюючого препарату. Оцінка гематологічних показників у дослідних тварин показала виражене збільшення абсолютної кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та гематокриту.

Ключові слова: *собаки, імунітет, корекція, імуностимулюючий препарат, Т-лімфоцити, В-лімфоцити, фагоцитарна активність нейтрофілів, еозинофіли, тромбоцити, моноцити, еритроцити, гемоглобін,*

У 70-х роках ХХ століття збільшився інтерес до речовин, які мають стимулювальний вплив на імунітет. Пов'язано це з тим, що імуностимулятори виявились ефективними за лікування пухлин, хронічних інфекційних і аутоімунних захворювань. Нині через різке зростання популяції хатніх тварин, а відповідно і збільшення дисфункцій імунної системи скринінг ефективних імуностимуляторів та удосконалення способів їх використання є особливо актуальним [5, 9].

У процесі клінічного застосування імуностимулюючих препаратів виникла низка проблем. По-перше, виявились їх побічні дії, що призвело до обмежень показань до використання. По-друге, при вивченні та застосуванні імуностимулюючих

препаратів було виявлено «феномен маятника» – протилежний вплив на імунітет одного й того самого засобу. З'ясувалось, що кінцевий результат залежить від дози препарату, часу і схеми введення, початкового імунного стану, генетичних особливостей організму, а також біологічного виду, до якого належить досліджуваний об'єкт [7, 10].

За умов, коли для організму необхідне проведення імунокорекції, обов'язковим є визначення чутливості імунокомпетентних клітин цього організму до імуотропного засобу, який планується використовувати. Відсутність поверхневих мембранних (Т-лімфоцитарних) рецепторів на імунокомпетентних клітинах знижує ефект від введення в організм імуностимулятора [3, 4, 8]. Саме тому за активації цих рецепторів може відбутися адекватна імунна відповідь.

У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що існує індивідуальна чутливість організму собак до різних імуотропних препаратів. У середньому, на різні засоби імунокорекції близько 25 % собак мають низьку, 70 % – високу, і лише 5 % – надмірну індивідуальну чутливість. Уведення тварині препарату, до якого в неї надмірна індивідуальна чутливість, як правило, провокує розвиток анафілактичного шоку [1].

У доступних літературних джерелах немає повідомлень щодо впливу введення рекомендованих доз імуотропних препаратів на зміну індивідуальної чутливості організму, а саме активності поверхневих рецепторів Т-лімфоцитів. Тому вважаємо доцільним проведення експериментальних досліджень які дозволять визначити зміну індивідуальної чутливості організму собак до імуотропних препаратів під час їх застосування та динаміку гематологічних показників під час проведення імунокорекції.

Метою наших досліджень було вивчити динаміку гематологічних показників за введення препарату фоспреніл.

Матеріали та методи досліджень. Дослід проводили на вісьмох безпородних цуценятах 4-місячного віку, народжених однією сукою. Тварин розділили на дві групи (контрольну та дослідну), по 4 голови в кожній. У

тварин вранці натще відбирали периферичну кров і після її стабілізації визначали показники клітинного імунітету: відносну кількість лімфоцитів та їх субпопуляцій, фагоцитарну активність нейтрофілів, а також індивідуальну чутливість Т-лімфоцитів до імунотропних препаратів. Відносний вміст лімфоцитів та їх субпопуляції визначали в реакції розеткоутворення з еритроцитами барана (Е тф. р.-РУЛ, Етф.ч-РУЛ) [2], індивідуальну чутливість до імунотропних препаратів – за відсотком інверсії «активних» Т-лімфоцитів у дослідних пробах (з додаванням препарату). Інверсія вища 10 % порівняно з контрольними пробами (з додаванням фізіологічного розчину) оцінювалась як високий ступінь чутливості. Фагоцитарну активність нейтрофілів досліджували, використовуючи суспензію клітин пекарських дріжджів [2]. За фагоцитуючу вважали клітину (нейтрофіли), яка захопила одну і більше дріжджових клітин. Абсолютну кількість еритроцитів, моноцитів і тромбоцитів, відносну кількість еозинофілів визначали інпедансним методом; вміст гемоглобіну (колориметрично), гематокрит – автоматичним гематологічним аналізатором MINDRAY “BC-2800Vet”. Під час визначення чутливості Т-лімфоцитів дослідних тварин до імунотропних препаратів було встановлено, що оптимальною вона є до препарату фоспреніл – продукту фосфорилування поліпренолів хвої. Тваринам дослідної групи цей препарат був призначений у вигляді внутрішньом’язових ін’єкцій у рекомендованій виробником дозі протягом 5 діб. Цуценятам контрольної групи вводили аналогічну дозу ізотонічного розчину натрію хлористого. Після закінчення курсу введення препарату та плацебо у тварин вдруге відбирали кров і визначали вищевказані гематологічні показники.

Статистичну обробку даних проводили за комп’ютерною програмою Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх обговорення. На першому етапі досліджень визначили основні показники імунограм і гематологічні показники тварин дослідної і контрольної груп, а також ступінь індивідуальної чутливості до імунотропних препаратів.

Під час визначення основних імунофізіологічних показників клітинного імунітету встановлено, що відносна кількість лімфоцитів, а також фагоцитарна активність нейтрофілів знаходиться у фізіологічних межах [6]. При цьому відзначено, що відносна кількість Т-лімфоцитів у тварин дослідної і контрольної груп перевищувала фізіологічні межі, а кількість натуральних кілерів (широкоплазмених лімфоцитів) виявилася зниженою. Після визначення індивідуальної чутливості до імунотропних препаратів (за відсотком інверсії Т-активних лімфоцитів) з'ясовано, що оптимальною вона є до препарату фоспреніл (відсоток інверсії більше 10).

Наступним етапом наших досліджень було порівняння стану імунореактивності організму за змінами показників імунограм у дослідній і контрольній групах після 5-добового курсу фоспренілу (табл. 1).

1. Динаміка відносної кількості імунокомпетентних клітин та показника фагоцитозу нейтрофілів за введення фоспренілу, %, n=4

Показник	До введення препарату		Після введення препарату		Фізіологічні межі*
	контроль	дослід	контроль	дослід	
Лімфоцити	26,0±12,67	30,3±9,61	26,6±3,51	26,6±1,15	19–37
Т-лімфоцити	74,0±9,16	73,3±14,05	73,3±8,32	67,3±9,45	55–70
Т-хелпери	56,6±7,57	56,0±14,0	56,6±4,6	50,66±10,2	40–60
Т-супресори	17,34±5,0	16,6±1,15	17,66±8,3	17,3±1,15	10–20
В-лімфоцити	12,0±3,46	11,3±7,02	12,6±3,05	14,6±4,16**	6–15
Природні кілери	5,0±1,73	3,3±1,15	5,0±1,0	6,6±1,52	10–20
Фагоцитоз нейтрофілів	46,0±12,16	44,0±5,2	49,3±7,57	54,6±11,01***	40–95

Примітка. У цій і наступній таблицях статистично достовірною різниця порівняно з тваринами контрольної групи: **p<0,01; ***p<0,001; *фізіологічні межі показників подані за В. В. Влізло та ін. [6].

Дослідження клітинного імунітету у тварин за введення препарату показало зменшення кількості лімфоцитів за незмінного показника у цуценят контрольної групи. У дослідних тварин спостерігали тенденцію до зниження кількості субпопуляцій Т-лімфоцитів, при цьому воно відбулося лише стосовно клітин з хелперною активністю (на 5,36 %), а кількість цитотоксичних (супресорних) клітин, навпаки, дещо підвищилася (на 0,9 %). Такі зміни субпопуляцій Т-лімфоцитів можуть свідчити про імунорегуляторний ефект досліджуваного препарату, який проявляється підвищенням противірусного захисту (збільшення Т-супресорних клітин). Кількість Т-лімфоцитів у крові тварин контрольної групи не змінилася, крім незначного збільшення субпопуляції клітин з супресорною активністю.

На відміну від Т-лімфоцитів, субпопуляція В-лімфоцитів у цуценят дослідної групи збільшилась на 3,3 %, проти 0,6 % в контролі. Після введення фоспренілу у тварин дослідної групи відносна кількість В-лімфоцитів перевищувала контроль на 2 % ($p < 0,01$).

Встановлено, що у тварин, яким вводили фоспреніл, спостерігали тенденцію до збільшення числа широкоплазмених лімфоцитів (NK-клітин), у середньому на 3,3 %. У тварин контрольної групи цей показник не змінився. Відомо, що ці клітини забезпечують захист від спонтанно змінених власних клітин (у тому числі пухлинних), а також беруть участь у руйнуванні вірус-інфікованих клітин [9, 10].

Фагоцитарна активність нейтрофілів у тварин дослідної групи після введення препарату порівняно з контролем збільшилась на 6,3 % ($p < 0,001$). До початку досліджень у тварин контрольної групи цей показник був вищим на 2 %.

Вивчення змін чутливості Т-лімфоцитів до імунотропного препарату до та після його введення показало значне зниження активності поверхневих рецепторів Т-лімфоцитів, що виявлялось у зменшенні відсотка інверсії. Дослідженнями було доведено, що відсоток інверсії Т-«активних» лімфоцитів може слугувати інтегральним показником активності цих клітин під час

імунних реакцій [2], хоча шлях імунологічної відповіді в організмі залежатиме не тільки від поверхневих рецепторів імунокомпетентних клітин, а й від характеру антигена. Разом із тим активність та доступність рецепторів Т-лімфоцитів забезпечують адекватність каскаду імунних реакцій.

Окрім специфічної імунної відповіді, яка забезпечується переважно макрофагами й лімфоцитами, значна кількість інших клітин і речовин неспецифічно впливають на повноцінність та адекватність імунних реакцій. Певна кількість неспецифічних факторів імунної відповіді нами досліджена одночасно з показниками імунограм (табл. 2).

2. Динаміка гематологічних показників за введення фоспренілу, n=4

Показник	До введення препарату		Після введення препарату		Фізіологічні межі
	контроль	дослід	контроль	дослід	
Еритроцити, Т/л	5,97±0,76	5,44±0,78	6,94±0,79	7,57±1,88**	5,5–8,0
Гемоглобін, г/л	126±18,9	118±19,3	157,3±21,5	177,3±42,9***	120–180
Гематокрит, %	42,23±5,87	37,9±6,30	49,36±6,43	54,46±13,78	39–56
Моноцити, Г/л	0,73±0,15	0,8±0	0,6±0,1	0,87±0,15	до 1,8
Еозинофіли, %	2,33±0,06	2,63±0,57	2,16±0,95	1,6±0,56	0–5
Тромбоцити, Г/л	451,7±109,4	457,3±49,3	185,67±78,3	406,0±76,3	117–460

Оцінка гематологічних показників показала більш виражене збільшення абсолютної кількості еритроцитів на 2,13 Т/л у тварин дослідної групи, тоді як у тварин контрольної групи воно становило лише 0,97 Т/л. Одночасно із збільшенням кількості еритроцитів у тварин дослідної групи відмічено підвищення вмісту гемоглобіну. Важлива роль еритроцитів під час імунної відповіді пов'язана з їх дезінтоксикаційною функцією, а також із постачанням фіксованих патогенів для макрофагів селезінки і печінки [9].

Під час аналізу показників абсолютної кількості тромбоцитів достовірних змін не встановлено, хоча слід відзначити, що ці формені елементи є активними

учасниками імунних реакцій. Так, тромбоцити переносять антигени та імунні комплекси і володіють вираженими цитотоксичними властивостями.

Таким чином, порівняльний аналіз імунограм при проведенні курсу лікування фоспренілом, до якого встановлена оптимальна індивідуальна чутливість організму собак, показав, що під час застосування імуотропних засобів у рекомендованих дозах чутливість до них лімфоцитів знижується. Динаміку цих змін необхідно враховувати при проведенні курсів імунокорекції за різноманітних клінічних станів в клініці дрібних хатніх тварин.

ВИСНОВКИ

1. Застосування імуотропних препаратів, до яких встановлена оптимальна чутливість, сприяє збільшенню відносної кількості лімфоцитів, переважно за рахунок Т-супресорів і В-лімфоцитів, фагоцитарної активності нейтрофілів і широкоплазмених лімфоцитів (NK-клітин). При цьому активність поверхневих рецепторів Т-лімфоцитів знижується.

2. За використання імуотропного препарату спостерігається помітне збільшення абсолютної кількості еритроцитів, моноцитів та вмісту гемоглобіну за зменшення абсолютної кількості еозинофілів.

Перспективи подальших досліджень. Заплановано вивчення впливу малих доз імуотропних препаратів на імунореактивність організму собак з урахуванням індивідуальної чутливості до цих препаратів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Брошков М. М. Оцінка впливу імуномодельюючих препаратів на імунологічну реактивність організму собак / М. М. Брошков, Б. В. Смолянінов // Біологія тварин. – 2012. – Т. 14, № 1–2. – С. 479–484.

2. Дегтяренко Т. В. Биогенные стимуляторы и иммунореактивность: Монография (в двух томах), Т. 2. / Т. В. Дегтяренко, Р. Ф. Макулькин. – Одесса: Маяк, 1997. – 192 с.

2. Козлов И. Г. Лекарственное воздействие через рецепторы врожденного иммунитета / И. Г. Козлов // Пептек. – Москва, 2005. – 256 с.
3. Козлов И. Г. Рецепторы контактного взаимодействия/ И. Г. Козлов, Н. К. Горлина, А. Н. Чередеев // Клеточная иммунология. – 1995. – 312с.
4. Кресюн В. Й. Імунотропні лікарські засоби / В. Й. Кресюн // Клінічні лекції. – 2003. – № 1. – С. 31–38.
5. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.; за ред. В. В. Влізла. – Львів: СПОЛОМ, 2012. – 764 с.
6. Лебедев К. А. Дозированная иммунотерапия – принцип лечения хронических воспалительных процессов / К. А. Лебедев // Физиол. человека. – 2005. – Т. 31, № 1. – С. 100–113.
7. Маррак Ф. Т-клетка и ее рецепторы / Ф. Маррак, Дж. Каплер // В мире науки. – 1986. – № 4. – С. 24-28.
8. Соколов Е. И. Клиническая биохимия / Е. И. Соколов. – М.: Медицина, 1998. – 272 с.
9. Федоров И. Н. Основы иммунологии и иммунопатологии собак / И. Н. Федоров, О. А. Верховский, И. В. Слугин. – М.: Информ-12, 2000. – 248 с.

ДИНАМИКА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У СОБАК ПРИ ВВЕДЕНИИ ФОСПРЕНИЛА

Брошков М. М.

Представлена динамика изменений относительного количества лимфоцитов и их субпопуляций, фагоцитарной активности нейтрофилов, эозинофилов, тромбоцитов, моноцитов, эритроцитов и гемоглобина при введении препарата фоспренил. Установлено, что после курса применения иммуностропных препаратов происходит снижение относительного количества Т-лимфоцитов. При этом количество В-лимфоцитов, наоборот, увеличивается. Вместе с тем отмечено увеличение фагоцитарной активности нейтрофилов. Оценка гематологических показателей у опытных животных показала

выраженное увеличение абсолютного количества эритроцитов, уровня гемоглобина и гематокрита.

Ключевые слова: *собаки, иммунитет, коррекция, иммуотропный препарат, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, фагоцитарная активность нейтрофилов, эозинофилы, тромбоциты, моноциты, эритроциты, гемоглобин*

THE DYNAMICS OF HEMATOLOGICAL PARAMETERS AT DOGS BY ADMINISTRATION OF FOSPRENIL

Broshkov M. M.

The article shows the dynamics of the relative number of lymphocytes and their subpopulations, phagocytic activity of neutrophils, eosinophil's, platelets, monocytes, erythrocytes and hemoglobin by the administering of Fosprenil. It was establish that, after application of immunotropic drug the relative number of T-lymphocytes decreased, amount of B-lymphocytes increased conversely. The phagocytic activity of neutrophils decreased. Evaluation of hematological parameters in experimental animals showed a marked increase in the absolute number of red blood cells, hemoglobin and hematocrit levels.

Keywords: *dogs, immunity, correction, immunotropic drug, T-lymphocytes, B-lymphocytes, phagocytic activity of neutrophils, eosinophil's, platelets, monocytes, erythrocytes, hemoglobin*