

УДК 612.128.618.019

**ІМУНОФІЗІОЛОГІЧНИЙ СТАН СОБАК ЗА РІЗНОГО ПОКАЗНИКА
ІМУНОРЕГУЛЯТОРНОГО ІНДЕКСУ****БРОШКОВ М. М.**, к. вет. н., доцент
СМОЛЯНІНОВ Б. В., д. біол. н., професор
СТУС С. П., здобувачОдеський державний аграрний університет,
м. Одеса
dolinavet@gmail.com

Наведено дані щодо сезонних змін імунорегуляторного індексу (ІРІ) у собак, а також вплив цього показника на імунізаційний статус. Встановлено, що найбільшим ІРІ був у зимовий період, а навесні – мінімальним.

За низького показника ІРІ (<2,5) встановлена висока кількість Т-супресорів, фагоцитарна активність нейтрофілів та здатність нейтрофілів до розеткоутворення. ІРІ >3,5, супроводжується збільшенням абсолютної кількості лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій, в той час як фагоцитарна активність нейтрофілів знижується на 20% ($p < 0,01$), а здатність цих клітин до розеткоутворення на 6% ($p < 0,001$).

Імунофізіологічний статус, імунорегуляторний індекс, Т-лімфоцити, В-лімфоцити, фагоцитоз нейтрофілів.

Постановка проблеми. Дослідження останніх десятиріч вказують на те, що в усі процеси, які перебігають у імунній системі на рівні як вродженого, так і адаптивного імунітету, повинні бути включені механізми імунної специфічності, окрім тієї, що визначається імуноглобулінами і Т-клітинними рецепторами [1].

Важливим є розробка методик, що дозволять об'єктивно оцінити імунний статус окремих особин, і результати потім екстраполювати на всю популяцію [2, 3, 4]. Проведений нами порівняльний аналіз ефективності використання методів розеткоутворення і імунофенотипування лімфоцитів за допомогою моноклональних антитіл показав, що кожен з цих методів має свої особливості при визначенні Т-хелперів та Т-супресорів [5].

Поряд із пошуком методик з 70-х років минулого сторіччя активно триває вивчення впливу імунотропних засобів на організм як тварин, так і людей, оскільки ці засоби виявилися ефективними при лікуванні пухлин, хронічних інфекцій та аутоімунних захворювань [6]. Разом з тим, проведення корекції імунітету передбачає не тільки добір імунотропних засобів та визначення кількісних показників імунітету, але і визначення інтегральних показників, що характеризують напруженість імунної системи. Найбільш цінними для клінічної гу-

манної медицини виявився показник співвідношення Т-хелперів і Т-супресорів (Тх\Тс) – імунорегуляторний індекс (ІРІ) [1]. Значення цього показника при оцінці імунофізіологічного статусу у людей детально описаний в монографії К.А. Лебедева [7]. У сучасній науковій літературі даних про цей показник і його значення при оцінці імунітету у тварин обмаль [8].

Метою наших досліджень було встановлення особливостей імунофізіологічного статусу собак при різному імунорегуляторному індексі та його сезонні коливання.

Матеріали та методи. Матеріалом для досліджень слугувала периферійна попередньо стабілізована кров собак віком від 1 до 6 років. Дослід проводили в два етапи. У першому етапі дослідженню піддали 48 голів собак службових порід які після оцінки імунофізіологічного статусу були поділені на три групи: 1 (n=14) – з показником ІРІ до 2,5; 2 (n=20) – з показником ІРІ 2,6-3,5; 3 (n=14) – з показником ІРІ 3,6 і вище. На другому етапі у 15 голів собак у різні сезони року був визначений показник ІРІ.

З імунофізіологічних показників були визначені наступні: абсолютна кількість лейкоцитів, абсолютна та відносна кількість Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій у реакції розеткоутворення з еритроцитами барана, абсолют-

на та відносна кількість В-лімфоцитів у реакції розеткоутворення з еритроцитами миші, абсолютна та відносна кількість ПК-клітин, абсолютна та відносна кількість фагоцитуючих нейтрофілів із використанням культури пекарських дріжджів, а також відносна кількість розеткоутворюючих нейтрофілів та індекс навантаження [9, 10, 11].

Результати досліджень. На рисунку показана динаміка ІРІ у собак протягом року з якої видно, що найбільшим цей показник був зимою і становив $5,71 \pm 1,15$ з настанням весни він суттєво знизився до $2,33 \pm 0,64$ (у 2,45 рази). Зимове збільшення ІРІ за нашими даними пов'язане із значним підвищенням Т-хелперних клітин, а весняне зменшення, при відносно сталій кількості Т-хелперів, зі значним збільшенням Т-супресорів. Аналіз показника ІРІ у літній період показав, що він збільшився до $3,37 \pm 1,1$ ($p < 0,05$), а з настанням осені тенденція до збільшення збереглась і ІРІ становив вже $3,49 \pm 1,21$ ($p < 0,01$). Отже, регуляторними клітинами, які в більшій мірі впливають на ІРІ є субпопуляція Т-супресорів. Кількісна зміна цих клітин визначає величину ІРІ залежно від сезону року.

У таблиці 1 представлені абсолютні показники імунофізіологічного статусу залежно від показника ІРІ. Аналіз абсолютної кількості лейкоцитів за різного імунорегуляторного індексу показав, що існує залежність цих показників.

Так встановлено, що при ІРІ $< 2,5$ абсолютна кількість лейкоцитів становить $9,45 \pm 5,28$, а при ІРІ в межах 2,5-3,5 кількість лейкоцитів зменшилась на 0,41 Г/л ($p < 0,001$). При показнику ІРІ $> 3,5$ встановлено збільшення лейкоцитів на 15,5 % ($p < 0,001$).

Дещо схожу динаміку встановлено і при визначенні абсолютної кількості лімфоцитів. Так при ІРІ $< 2,5$ абсолютна кількість лімфоцитів становила $2,28 \pm 0,68$, збільшення ІРІ в межах 2,5-3,5 супроводжувалось зменшенням кількості цих клітин на 6,5%, а при ІРІ $> 3,5$ їх кількість збільшилась у 1,88 рази ($p < 0,001$).

Кількість Т-хелперних клітин із збільшенням ІРІ збільшується з $1,09 \pm 0,215$ Г/л при ІРІ $< 2,5$ до $2,66 \pm 0,61$ Г/л при ІРІ $> 3,5$, при цьому кількість Т-супресорних клітин навпаки мала тенденцію до достовірного зниження при підвищенні ІРІ ($p < 0,001$).

Тимчасове збільшення частки Т-супресорів і підвищення їх функціональної активності при більшості інфекцій є нормальною імунорегуляторною реакцією, що направлена на обмеження надмірного посилення механізмів специфічної імунної відповіді. Однак активація Т-супресорів нерідко набуває стійкий характер і не піддається зворотному розвитку. Така імуносупресія може носити як антиген специфічний, так і антигеннеспецифічний характер, чим визначається спектр її імунопатологічних наслідків [12, 13]

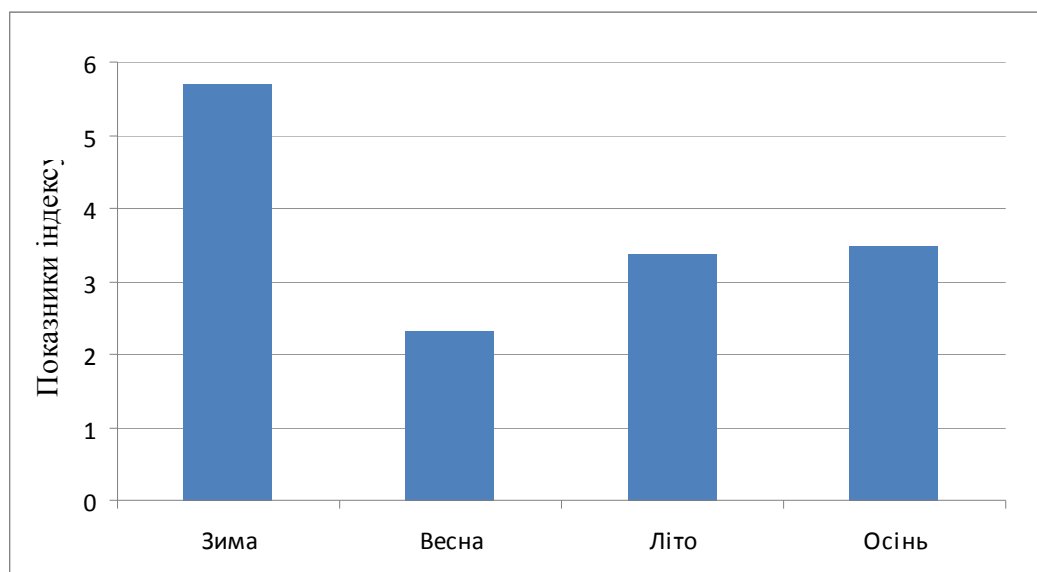


Рисунок. Динаміка імунорегуляторного індексу у собак в різні сезони року

Таблиця 1. Абсолютні кількості лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій за різного імунорегуляторного індексу у собак

	Показники	Різні показники імунорегуляторного індексу		
		<2,5	2,6 – 3,5	>3,5
Кількість клітин крові, Г/л	Лейкоцити	9,45±5,28	9,04±2,63**	10,7±8,6**
	Лімфоцити	2,28±0,68	2,13±0,54	4,02±0,53**
	T – лімфоцити	1,747±0,56	1,603±0,491	3,065±1,01
	T – хелпери	1,09±0,215	1,208±0,258	2,66±0,61
	T – супресори	0,652±0,088	0,395±0,038	0,405±0,105**
	B – лімфоцити	0,252±0,016	0,23±0,03	0,33±0,048

Примітка: * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$ – порівняно з групою де $IPI < 2,5$

У таблиці 2 представлені показники абсолютної кількості природних лімфоцитів та їх субпопуляцій за різного імунорегуляторного індексу в собак.

Встановлено, що на тлі підвищення абсолютної кількості імункомпетентних клітин разом зі збільшенням IPI фагоцитарна активність нейтрофілів (ФАН) та кількість рецепторів адгезії на поверхні цих клітин навпаки зменшується. Так при $IPI < 2,5$ ФАН складає $5,0 \pm 0,39$ Г/л, а збільшення IPI до $> 3,5$ супроводжується достовірним зменшенням ФАН до $4,1 \pm 0,13$ Г/л ($p < 0,01$). Також відбулося зменшення здатності нейтрофілів до розеткоутворення на 6% ($p < 0,001$) порівняно між тваринами з $IPI < 2,5$ та $> 3,5$.

Оцінка показника індексу навантажень залежно від IPI , показала, що цей показник мав

тенденцію до збільшення разом зі збільшенням IPI з $1,26 \pm 0,2$ при $IPI < 2,5$ до $1,42 \pm 0,38$ при $> 3,5$ ($p < 0,01$).

Аналіз змін відносних показників імунорегуляторних залежно від IPI , які представлені в таблиці 3 показав, що найбільш виражені зміни стосувалися субпопуляцій T-хелперних та T-супресорних а також фагоцитарної активності нейтрофілів.

Так при $IPI < 2,5$ відносна кількість T-хелперів становила в середньому $48,2 \pm 8,29$ Г/л збільшення $IPI > 3,5$ супроводжувалось підвищенням цих клітин на 14% ($p < 0,001$). У той самий час відносна кількість T-супресорів мала зворотну тенденцію і зі збільшенням IPI кількість цих клітин зменшилась на 15,4% ($p < 0,01$).

Певні зміни були відмічені і при аналізі аб-

Таблиця 2. Абсолютні кількості природних лімфоцитів та їх субпопуляцій за різного імунорегуляторного індексу у собак

Показники	Різні показники імунорегуляторного індексу		
	< 2,5	2,6 – 3,5	> 3,5
ПК-клітини, Г/л	0,198±0,06	0,194±0,067	0,331±0,08
Фагоцитоз нейтрофілів, Г/л	5,0± 0,39	4,4±0,21	4,1±0,13*
Розеткоутворюючі нейтрофіли (E – РУН), %	61,0±15,0	59,0±11,0	55,0 ±17,0**
Індекс навантаження (E – РУЛ/ E – РУН)	1,26±0,2	1,32±0,23	1,42±0,38*

Примітка: * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$ – порівняно з групою де $IPI < 2,5$

Таблиця 3. Відносна кількість лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій і фагоцитозу нейтрофілів за різного імунорегуляторного індексу у собак

Показники		Різні показники імунорегуляторного індексу		
		< 2,5	2,6 – 3,5	>3,5
Кількість клітин крові, %	Лімфоцити	26,5±6,69	25,1±7,27	28,1±8,53
	Т – лімфоцити	75,6±11,1	76,2±5,11	74,4±9,13
	Т – хелпери	48,2±8,29	57,6±4,3	62,4±8,63**
	Т – супресори	27,4±6,73	18,6±1,89	12,0±3,12*
	В-лімфоцити	10,7±2,73	10,5±2,99	9,2±2,7**
	ПК-клітини	8,9±1,97	9,3±2,0	8,5±1,84
	Фагоцитоз нейтрофілів	67,6±14,2	63,2±15,86	62,4±12,1**

Примітка: * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$ – порівняно з групою де $IPI < 2,5$

солотної та відносної кількості В-лімфоцитів, що характеризують гуморальну ланку імунітету. Так абсолютна кількість цих клітин мала тенденцію до збільшення а відносна, навпаки до зменшення ($p < 0,001$).

Отже характер змін імунітофізіологічного статусу собак залежно від ІРІ має певні закономірності і повинен бути врахований при оцінюванні показників імунограм та проведенні корекції імунітету.

Висновки.

1. Встановлено, що імунорегуляторний індекс має сезонні коливання, у зимовий період він є найбільшим і складає $5,71 \pm 1,15$ а у весняний – найменшим $2,33 \pm 0,64$.

2. Збільшення величини імунорегуляторного індексу супроводжується збільшенням абсолютної кількості лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій в той час як фагоцитарна активність нейтрофілів та кількість рецепторів адгезії на мембрані нейтрофілів навпаки зменшується ($p < 0,001$). Найбільш оптимальними імунітофізіологічний стан собак є при імунорегуляторному індексі в межах 2,5-3,5.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення динаміки ІРІ залежно від віку та з врахуванням статі. Аналіз динаміки цього показника у сук протягом еструсу та вагітності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лебедев К.А. Иммунология образ распознающих рецепторов : Интегральная иммунология / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина. — М.: Книжный дом “ЛИБРОКОМ”, 2013.— 256 с .
2. Бакшеев А.Н. Становление, породные особенности и возможности коррекции иммунной системы у свиней: Автореф. дис. докт. биол. наук. / А.Н. Бакшеев // – Новосибирск, 1998. – 32 с.
3. Верещак Н.А. Характеристика иммуноморфологических показателей крупного рогатого скота разных экологических зон Среднего Урала : Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук : 03.00.13 / Н.А.Верещак // – Троицк, 2001. – 22 с.
4. Исаева А.Г. Иммунобиологические особенности адаптации свиней к технологическому стрессу в условиях Среднего Урала : Дисс. ученой степени кандидата биол. наук. / А.Г. Исаева / –Троицк, 2002. – 167 с.

5. Брошков М.М. Порівняльний аналіз ефективності використання методів розеткоутворення та імунофенотипування лимфоцитів за допомогою моноклональних антитіл в контролі за станом імунної системи у практично здорових та хворих на дерматити собак / М.М. Брошков // Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України : серія ветеринарна медицина, якість та безпека продукції тваринництва. – Київ, 2015. – Вип. 227. – С. 29 – 34.
6. Кресюн В.Й. Імунотропні лікарські засоби / В.Й. Кресюн // Лікування та діагностика : журн. для практ. лікарів. – Київ. – 2003. – №1. – С. 31–38.
7. Лебедев К.А. Иммунология в клинической практике / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина // [под ред. проф. К.А. Лебедева]. – Москва, 1996. – 387 с.
8. Лопатина М.Ю. Показатели иммунной системы и эффективность иммунокоррекции у собак с хроническими заболеваниями кожи : дис ...канд. вет. наук. 16.00.03 “Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология” / М.Ю. Лопатина. – Екатеринбург, 2004. – 166 с.
9. Дегтяренко Т. В. Биогенные стимуляторы и иммунореактивность : Биогенные стимуляторы – универсальные адаптогены / Т. В. Дегтяренко, Р. Ф. Макулькин. – Одесса, 1997
10. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / під ред. проф. В.В. Влізло. – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 764 с.
11. Кульберг А.Я. Новый подход к оценке взаимосвязи гуморального и клеточного иммунитета при инфекционных заболеваниях / А.Я Кульберг., И.А Тарханова., Л.Н Черноусова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1984. – №6. – С. 14–20.
12. Лебедев К.А. Иммунограмма в клинической практике / К.А Лебедев., И.Л Понякина // – М.: Наука, 1990. – 224 с.

ИМУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ СОБАК ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПОКАЗАТЕЛЯХ ИММУНОРЕГУЛЯТОРНОГО ИНДЕКСА

Брошков М. М., Смолянинов Б. В., Стус С. П.

Одесский государственный аграрный университет, г. Одесса

Приведены данные по сезонным изменениям иммунорегуляторного индекса (ИРИ) у собак, а также влияние этого показателя на иммунофизиологический статус. Установлено, что наибольшим ИРИ был в зимний период, а весной минимальным.

При низком показателе ИРИ (<2,5) установлено высокое количество Т-супрессоров, фагоцитарная активность нейтрофилов и способность нейтрофилов к розеткообразованию. ИРИ >3,5, сопровождается увеличением абсолютного количества лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций, в то время как фагоцитарная активность нейтрофилов снижается на 20% ($p<0,01$), а способность этих клеток к розеткообразованию на 6% ($p<0,001$).

Имунофизиологический статус, иммунорегуляторный индекс, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, фагоцитоз нейтрофилов.

IMMUNOPHYSIOLOGICAL DOGS STATE WITH DIFFERENT INDICATORS OF IMMUNOREGULATORY INDEX

M. Broshkov, B. Smolyaninov, S. Stus

Odessa State Agrarian University, Odessa

The studies in recent decades indicate that all the processes occurring in the immune system at both innate and adaptive immunity mechanisms should be included immune specificity expecting processes, which determined by the immunoglobulin and T cell receptors. We conducted the comparative analysis of the efficiency of methods rosette and lymphocyte immuno-phenotype using monoclonal antibodies, it showed that each of these methods has its own characteristics in determining the T-helper and T-suppressor.

The article presents the data of the seasonal changes of the immunoregulatory index (IRI) in dogs and the influence of this index for immuno-physiologicstatus.

Previously stabilized peripheral blood of dogs aged from 1 to 6 years served as material for the research. The immuno-physiologic indicators were: the absolute leukocyte count, the absolute and relative number of T- lymphocytes and their subpopulations in reaction of rosette with erythrocytes of the ram, the absolute and relative number of B- lymphocytes in response rosette of erythrocytes of the mouse, the absolute and relative number NK -cells, the absolute and relative number of phagocytic neutrophils using bakery yeast culture, and the relative number of neutrophils with ability to rosette and the index of capacity.

Established that IRI was greatest during the winter and the minimal in the spring. It was observed the high number of T-suppressors, neutrophil phagocytic activity of neutrophils and ability to rosette for low indicator of IRI (<2,5). Higher indicator of IRI (>3,5) accompanied by the increasing of the absolute number of leukocytes, lymphocytes and their subpopulations while phagocytic activity of neutrophils is reduced by 20% ($r < 0,01$), and the ability of these cells to the rosette – by 6% ($r < 0,001$).

So the character of immunophysiological changes that depending on the status of dogs IRI has certain laws and should be taken into account during assessment of the immunogrammes and correction of the immunity.

In conclusion, it's established that the immunoregulatory index has seasonal fluctuations, in the winter it is the highest and is $5,71 \pm 1,15$ in spring and lowest $2,33 \pm 0,64$. The increasing of the value of immunoregulatory index is accompanied by the increase in the absolute number of leukocytes, lymphocytes and their subpopulations while phagocytic activity of neutrophils and the number of receptors on the membrane of neutrophil adhesion contrast decreases ($r < 0,001$). The most optimal condition of the immunophysiological state of the dogs observed when the immunoregulatory index is within 2.5–3.5.

Immunophysiological status, immunoregulatory index, T-lymphocytes, B-lymphocytes, neutrophil phagocytosis.
