

ДИНАМІКА КІЛЬКОСТІ ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН КРОВІ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЯ У ТЕЛИЦЬ ПІД ЧАС ДІЇ БІОЛОГІЧНОГО ПОДРАЗНИКА

В. О. Трокоз

Національний університет біоресурсів і природокористування України

У статті наведені результати дослідження динаміки кількості імунокомпетентних клітин крові та можливості її корекції за дії біологічного подразника. У телиць української чорно-рябої молочної породи 6–7 місячного віку, масою 130–165 кг встановлена наступна кількість клітин: лімфоцити — 3,01–3,19 Г/л, Т-лімфоцити — 0,99–1,05 Г/л (32,38–32,88%), В-лімфоцити — 0,37–0,39 Г/л (12,00–12,12%) та О-лімфоцити — 1,65–1,75 Г/л (55,00–55,50%). Біологічне подразнення викликає збільшення числа лімфоцитів, зокрема Т- і В-популяцій як в абсолютних, так і відносних значеннях. Частка О-лімфоцитів зменшується з тенденцією до зниження їх абсолютного числа. Підтверджена ефективність гідрофільного екстракту із лялечок шовкопряда, превентивне введення якого в організм мінімізує викликаний дією біологічного подразника перерозподіл імунокомпетентних клітин крові за рахунок стимуляції неспецифічного імунітету.

Ключові слова: ТЕЛИЦІ, ІМУНІТЕТ, ЛІМФОЦИТИ, ПОПУЛЯЦІЇ, БІОЛОГІЧНИЙ ПОДРАЗНИК, КОРЕКЦІЯ, ЕКСТРАКТ ІЗ ЛЯЛЕЧОК ШОВКОПРЯДА

Імунітет або стійкість організму до антигенів забезпечується імунологічною реактивністю, основною формою якої є відповідь імунокомпетентної системи [1]. Головними компонентами цієї системи є Т- і В-лімфоцити. Вони забезпечують імунобіологічний гомеостаз і становлення загальної стійкості організму [2]. Т-лімфоцити — функціонально спеціалізовані і забезпечують як клітинний, так і гуморальний специфічний імунітет. В-клітини відіграють важливу роль у реалізації гуморального імунітету, а також беруть участь у синтезі антитіл. Порівняно з Т- і В-лімфоцитами, О-лімфоцити володіють незначною цитотоксичною активністю [3]. Корекція розладів імунної системи з використанням імуоактивних препаратів є перспективним напрямком досліджень, а пошук таких препаратів як і методів їх застосування з метою підвищення природної резистентності — актуальною проблемою, про що висловлюється більшість авторів [4–6].

Матеріали і методи

Експерименти на молодняку великої рогатої худоби здійснені в ТОВ «Гейсиске» Ставищенського р-ну Київської області. Лабораторні дослідження проведені на устаткуванні біохімічного відділу загальної токсикології і медико-біологічних досліджень НДІ екогігієни та токсикології ім. Л. І. Медведя. Для вивчення впливу гідрофільного екстракту (ГЕ) з лялечок дубового шовкопряда [7, 8] на телицях української чорно-рябої молочної породи 6–7 місячного віку, масою 130–165 кг за методом аналогів сформували дві групи тварин, по 8 голів у кожній. Телиці 2-ї дослідної групи одержували з інтервалом 5 діб 2 підшкірні ін'єкції ГЕ у дозі 0,1 мл на 1 кг маси тіла. Тваринам 1-ї контрольної групи вводили такі ж дози ізотонічного розчину NaCl. Через 10 діб після останнього введення екстракту тварин контрольної та дослідної групи вакцинували проти сальмонельозу. Відбір проб крові проводили на початку дослідження (дослідження № 1), через 10 діб після першого введення екстракту (№2), через 10 (№3), 20 (№4), 30 (№5), 45 (№6) та 65 діб (№7) після першої вакцинації. Оцінку ефективності ГЕ за кількістю популяцій лімфоцитів у крові піддослідних тварин проводили у тесті спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана [9]. Одержані результати опрацьовані статистично [10].

Результати й обговорення

Установлено, що за умов дії біологічного подразника відбувалися певні зміни відносної і абсолютної кількості клітин імунокомпетентної системи організму телиць (табл.).

Таблиця

Кількість лімфоцитів і їх популяцій, Г/л / % від загальної кількості лімфоцитів, n=8

№ дослідження	Лімфоцити	Т-лімфоцити	В-лімфоцити	О-лімфоцити
<i>I група — контрольна</i>				
1	$\frac{3,14 \pm 0,28}{100}$	$\frac{1,01 \pm 0,09}{32,38 \pm 0,72}$	$\frac{0,38 \pm 0,04}{12,12 \pm 0,68}$	$\frac{1,75 \pm 0,17}{55,50 \pm 0,81}$
2	$\frac{3,19 \pm 0,31}{100}$	$\frac{1,05 \pm 0,10}{32,88 \pm 1,11}$	$\frac{0,39 \pm 0,04}{12,12 \pm 0,54}$	$\frac{1,75 \pm 0,17}{55,00 \pm 1,04}$
3	$\frac{**4,61 \pm 0,28}{100}$	$\frac{***1,69 \pm 0,12}{*36,75 \pm 1,41}$	$\frac{***0,72 \pm 0,07}{**15,50 \pm 0,96}$	$\frac{2,20 \pm 0,16}{**47,75 \pm 2,04}$

4	$\frac{*4,23+0,30}{100}$	$\frac{***1,59+0,10}{***37,75+0,74}$	$\frac{***0,73+0,07}{***17,25+0,44}$	$\frac{1,91+0,14}{***45,00+0,59}$
5	$\frac{3,50+0,30}{100}$	$\frac{*1,31+0,07}{***38,50+0,89}$	$\frac{**0,63+0,05}{***18,00+0,44}$	$\frac{1,56+0,18}{***43,50+0,81}$
6	$\frac{2,99+0,20}{100}$	$\frac{1,08+0,06}{**36,38+1,11}$	$\frac{*0,52+0,05}{***17,00+0,74}$	$\frac{1,39+0,11}{***46,62+1,35}$
7	$\frac{3,04+0,21}{100}$	$\frac{1,01+0,06}{33,50+1,41}$	$\frac{0,43+0,04}{14,00+0,59}$	$\frac{1,60+0,13}{52,50+1,70}$
<i>2 група — дослідна</i>				
1	$\frac{3,01+0,37}{100}$	$\frac{0,99+0,14}{32,63+1,02}$	$\frac{0,37+0,05}{12,00+0,59}$	$\frac{1,65+0,19}{55,37+1,41}$
2	$\frac{3,50+0,35}{100}$	$\frac{1,23+0,14}{34,75+1,41}$	$\frac{0,44+0,05}{12,62+0,52}$	$\frac{1,83+0,18}{52,63+1,59}$
3	$\frac{3,60+0,27*}{100}$	$\frac{1,30+0,11*}{*36,00+1,18}$	$\frac{0,50+0,04*}{*13,87+0,52}$	$\frac{1,80+0,13}{*50,13+1,44}$
4	$\frac{3,43+0,26}{100}$	$\frac{1,28+0,10*}{**37,25+0,96}$	$\frac{*0,54+0,03**}{**15,75+1,18}$	$\frac{1,61+0,14}{**47,00+1,78}$
5	$\frac{3,34+0,15}{100}$	$\frac{1,25+0,07}{**37,50+1,04}$	$\frac{**0,56+0,03}{***16,75+1,04}$	$\frac{1,53+0,07}{***45,75+1,59}$
6	$\frac{3,18+0,20}{100}$	$\frac{1,16+0,08}{*36,50+1,04}$	$\frac{*0,50+0,02}{**16,00+1,04}$	$\frac{1,52+0,13}{**47,50+1,48}$
7	$\frac{3,12+0,28}{100}$	$\frac{1,03+0,10}{33,00+0,89}$	$\frac{0,41+0,03}{13,25+0,89}$	$\frac{1,68+0,17}{53,75+1,59}$

Примітка: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ перед значенням — порівняно з дослідженням № 1, після значення — стосовно контролю.

Динаміка загальної кількості лімфоцитів крові тварин свідчить, що обробка телиць ГЕ призводила до деякого підвищення кількості цих клітин у тварин 2-ї (дослідної) групи вже під час дослідження № 2 (рис. 1), проте біологічний подразник, очевидно внаслідок протекторного впливу ГЕ, майже не змінив даного показника. Винятком було лише дослідження № 3, коли кількість лімфоцитів у крові тварин дослідної групи відрізнялася від початкового показника ($p < 0,05$) після чого всі наступні дослідження не виявили змін кількості лімфоцитів. Контрольні телиці (1 група), які не отримували ГЕ, на біологічний подразник реагували значно суттєвішим підвищенням кількості лімфоцитів у крові. Зауважимо, що достовірна різниця між тваринами двох груп була встановлена під час дослідження №3. Описаний ефект свідчить про необхідність корекції специфічного захисту у тварин, які превентивно не одержували ГЕ.

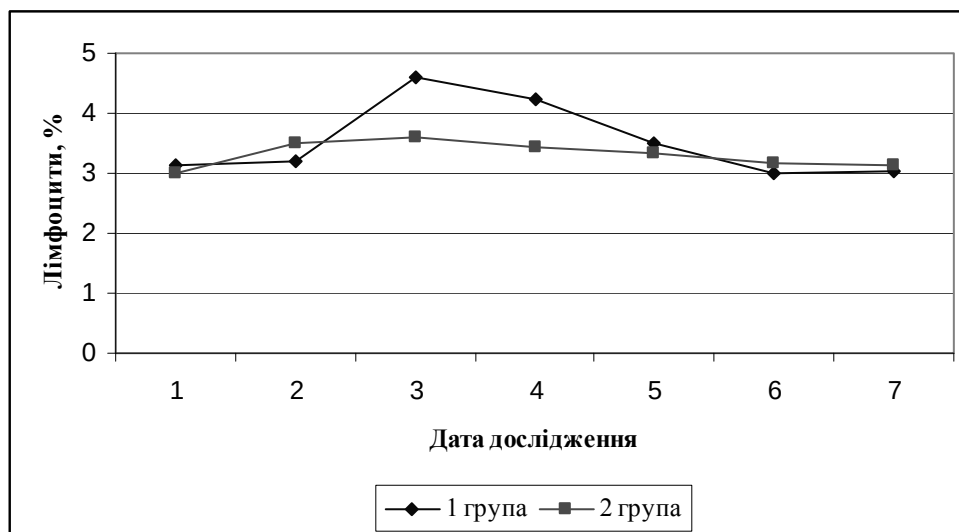


Рис. 1. Динаміка кількості лімфоцитів у крові піддослідних тварин

Механізм описаних змін можна деякою мірою зрозуміти при аналізі змін кількісних показників Т-, В- і 0-лімфоцитів під час експерименту. Абсолютна і відносна кількість Т-лімфоцитів у тварин обох груп збільшувалася під впливом вакцинації з поступовим поверненням до початкових значень наприкінці досліду. Проте такі зміни відрізнялися залежно від обробки ГЕ або її відсутності. Так, уже через 10 діб після першого введення ГЕ (табл., рис. 2, 3) телиці 2-ї дослідної групи відреагували

зростанням як абсолютного (на 24 %), так і відносного (на 6 %) числа Т-лімфоцитів порівняно з фоном. Біологічний подразник у тварин цієї групи меншою мірою впливав на кількість Т-лімфоцитів крові, ніж у їх контрольних аналогів, особливо в абсолютних величинах. Різниця між показниками у тварин дослідної і контрольної груп була достовірною в 3-му і 4-му дослідженнях і становила відповідно 30 і 24 % на користь других.

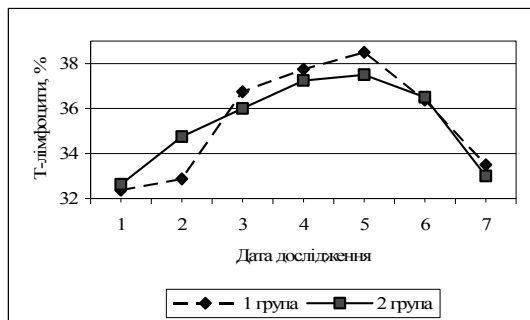


Рис. 2. Відносна кількість Т-лімфоцитів у крові телиць

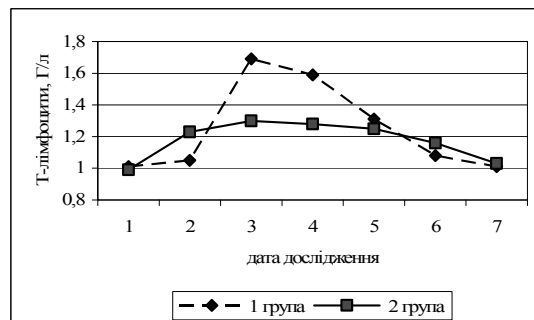


Рис. 3. Абсолютна кількість Т-лімфоцитів у крові телиць

Якщо основна функція Т-лімфоцитів — регулювати імунологічні реакції [11], то В-клітини синтезують антитіла і, що надзвичайно важливо, забезпечують імунологічну пам'ять [12]. У наших дослідженнях В-лімфоцити виявилися більш реактивними порівняно з Т-клітинами (табл., рис. 4, 5).

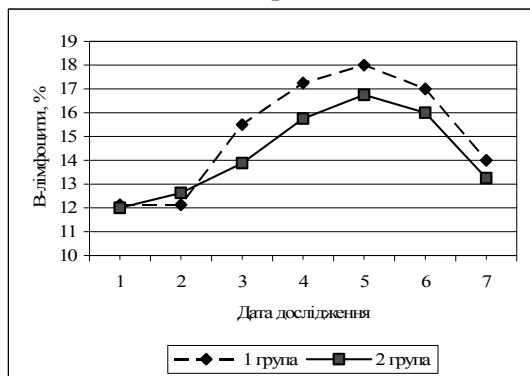


Рис. 4. Відносна кількість В-лімфоцитів у крові телиць

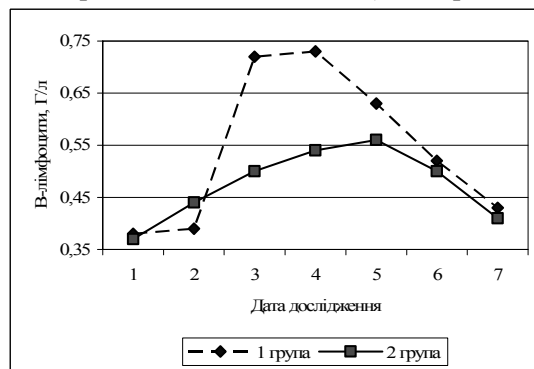


Рис. 5. Абсолютна кількість В-лімфоцитів у крові телиць

Абсолютна й відносна кількість В-лімфоцитів збільшилися у тварин контрольної групи після введення біологічного подразника відповідно на 13–92 % й 15–48 %, а у тварин 2-ї дослідної групи — на 11–51 % й 5–46 % порівняно з початковими параметрами. У останніх зміни числа В-лімфоцитів спостерігали вже після обробки цих телиць ГЕ, але вакцинація вплинула на обговорюваний показник меншою мірою порівняно з контролем. Достовірну ж різницю між телицями обох груп реєстрували лише під час досліджень № 3–4. Загальна для тварин обох груп динаміка кількості В-лімфоцитів була подібною до динаміки кількості Т-лімфоцитів: збільшення після вакцинації з поступовим поверненням до початкових меж.

Збільшення кількості Т- і В-лімфоцитів у крові тварин, викликане як дією на організм біологічного подразника, так і інгредієнтів ГЕ, призвело до зменшення недиференційованих, 0-лімфоцитів (табл., рис. 6, 7), причому відносна кількість цих клітин зазнала достовірного зменшення впродовж 3–6-го досліджень у крові тварин обох груп.

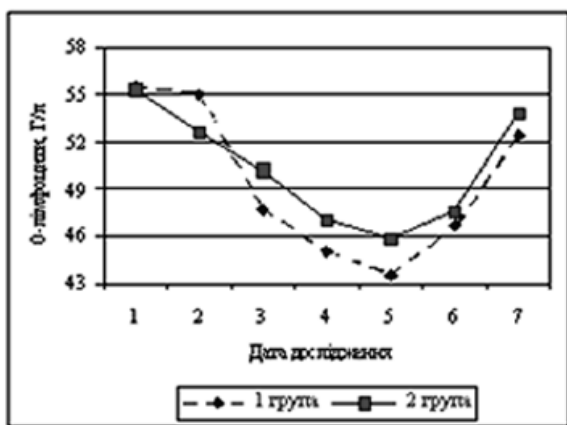


Рис. 6. Відносна кількість 0-лімфоцитів у крові телиць

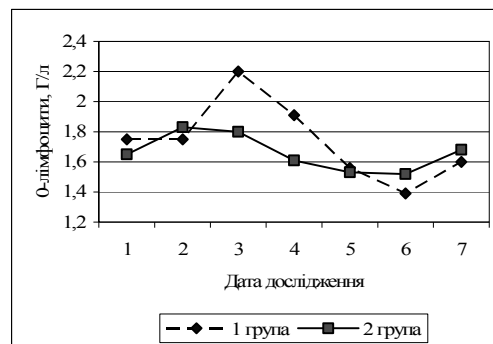


Рис. 7. Абсолютна кількість 0-лімфоцитів у крові телиць

Достовірної різниці абсолютних значень залежно від дії вакцинації та ГЕ не встановлено. Втім, не спостерігали й достовірних міжгрупових відхилень кількості 0-лімфоцитів, хоча на рисунках тенденція до більшої статичності вивчених імунобіологічних показників тварин під впливом ГЕ на представлених рисунках відслідковується досить яскраво.

Зміни кількості того чи іншого виду лімфоцитів можуть свідчити як про активацію імунних процесів, так і про можливі негативні наслідки впливу препарату, а відхилення кількості лейкоцитів на 20–25 % у той чи інший бік від норми може свідчити про ймовірний імунотоксичний вплив препарату [13, 14]. Подібна картина спостерігалася у наших дослідженнях. Очевидно, біологічний подразник у вигляді вакцини спричинив значне підвищення кількості імунокомпетентних клітин крові, але телиці 2-ї дослідної групи, яких перед вакцинацією обробляли ГЕ реагували менш вираженими змінами в імунофізіологічному статусі організму, що очевидно пов'язано зі стимуляцією неспецифічного імунітету [15].

Висновки

1. У крові телиць української чорно-рябої молочної породи 6–7-місячного віку, масою 130–165 кг встановлена така кількість імунокомпетентних клітин: лімфоцити — 3,01–3,19 Г/л, Т-лімфоцити — 0,99–1,05 Г/л (32,38–32,88%), В-лімфоцити — 0,37–0,39 Г/л (12,00–12,12 %) та 0-лімфоцити — 1,65–1,75 Г/л (55,00–55,50 %).
2. Біологічне подразнення (вакцинація проти сальмонельозу) викликає збільшення числа лімфоцитів, зокрема їх Т- і В-популяцій як в абсолютних, так і відносних значеннях. При цьому відносна кількість 0-лімфоцитів зменшується з тенденцією до зниження їх абсолютного числа.
3. Відновлення лімфоцитарного гомеостазу відбувається наприкінці вироблення поствакцинального імунітету (45–65-та доба після щеплення).
4. Превентивним засобом зменшення наслідків дії біологічного подразника може служити гідрофільний екстракт із лялечок шовкопряда, введення якого в організм мінімізує перерозподіл імунокомпетентних клітин крові. Це відбувається за рахунок стимуляції неспецифічної ланки імунітету.

Перспективи подальших досліджень. З огляду на можливість застосування гідрофільного екстракту із лялечок шовкопряда для корекції стану імунітету організму тварин за впливу біологічних подразників слід провести дослідження впливу біологічно активних речовин вказаного екстракту на показники резистентності та продуктивності худоби, а також вивчити шляхи впровадження препарату на основі екстракту в практику ветеринарної медицини.

V. O. Trokoz

DYNAMICS OF THE IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS QUANTITY AND ITS CORRECTION DURING THE BIOLOGICAL STIMULUS IN HEIFERS

Summary

The results of the dynamics of immunocompetent blood cells and its possible correction of the biological stimulus studies presents. In the Ukrainian black spotted dairy breed cows 6–7 months of age, weighing 130–165 kg the following number of cells: lymphocytes — 3,01–3,19 G/l, T-lymphocytes — 0,99–1,05 g/l (32,38–32,88 %), B-lymphocytes — 0,37–0,39 G/l (12,00–12,12 %) and 0-lymphocytes — 1,65–1,75 G/l (55,00–55,50%). Biological irritation an increase in the number of lymphocytes, including T-and B-

populations in both absolute and relative values causes. Share of 0-lymphocytes decreases with the tendency to decrease in absolute numbers. Effectiveness hydrophilic silkworm pupae extract, preventive administration which minimizes the body caused by the action of a biological stimulus redistribution of immunocompetent blood cells by stimulation of nonspecific immunity.

В. А. Трокоз

ДИНАМИКА КОЛИЧЕСТВА ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ И ЕЁ КОРРЕКЦИЯ У ТЕЛОК ВО ВРЕМЯ ДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗДРАЖИТЕЛЯ

Аннотация

В статье приведены результаты исследования динамики количества иммунокомпетентных клеток крови и возможности его коррекции под действием биологического раздражителя. У телок украинской черно-пестрой молочной породы 6–7 месячного возраста, массой 130–165 кг установлено следующее количество клеток: лимфоциты — 3,01–3,19 Г/л, Т-лимфоциты — 0,99–1,05 Г/л (32,38–32,88%), В-лимфоциты — 0,37–0,39 Г/л (12,00–12,12 %) и 0-лимфоциты — 1,65–1,75 Г/л (55,00–55,50 %). Биологическое раздражение вызывает увеличение числа лимфоцитов, в частности Т- и В-популяций как в абсолютных, так и относительных значениях. Доля 0-лимфоцитов уменьшается с тенденцией к снижению их абсолютного числа. Подтверждена эффективность гидрофильного экстракта из куколок шелкопряда, превентивное введение которого в организм минимизирует вызванное действием биологического раздражителя перераспределение иммунокомпетентных клеток крови за счет стимуляции неспецифического иммунитета.

1. *Иванов Л. Н.* Иммуногенная реактивность организма / Л. Н. Иванов // Экспериментальная и клиническая аллергология. — Чебоксары, 1986. — №3. — С.42–46.
2. *Даугалиева Э. Х.* Особенности иммунитета при гельминтозах / Э. Х. Даугалиева, К. Г. Курочкина, А. В. Арипкин // Ветеринария. — М., 1996. — № 7. — С. 37–38.
3. *Гариб Ф. Ю.* Сравнительная цитотоксическая активность опосредованных антителами Т-, В- и «нулевых» лимфоцитов / Ф. Ю. Гариб, М. В. Залялиева // Реактивность организма в норме и патологии. — Уфа, 1983. — С. 32.
4. *Дахно И. С.* Влияние иммуностимуляторов L-аргинина и РНК на иммунный статус коров при фасциозе [Электронный ресурс] / И. С. Дахно // Режим доступа: http://www.agromage.com/stat_id.phpPid=183. — Дата доступа: 20.05.2011. — Название с экрана.
5. *Israf D. A.* Dietary protein influences upon immunity to *Nematodirus battus* infection in lambs / D. A. Israf, R. L. Coop, L. M. Stevenson et al. // Veterinary Parasitology (ISSN: 0304-4017). — 1996. — Vol. 61, Iss. 3–4. — P. 273–286.
6. *Жилякова Т. П.* Повышение резистентности организма животных путем применения препарата гумитон: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / Т. П. Жилякова. — Томск : Томский гос. ун-т, 2006. — 20 с.
7. Патент на винахід 16965. Україна, МПК А61К35/00, А61К/35/78. Спосіб одержання лікувального екстракту / В. О. Трокоз, Т. Д. Лотош, А. Б. Абрамова та ін. (UA); Націон. аграрний ун-т. — № 4746744/SU; Заявл. 03.10.89; Опубл. 29.08.97. — Бюл. № 4.
8. Препарат біологічно активний «Антерин-ТАД». Технічні умови / ТУ У 24.4-00493706-001:2009. — ДКПП 24.42.13. — УКНД 11.220. / В. О. Трокоз, Т. Б. Аретинська, Н. В. Трокоз. — Затверджено НУБіП України. 25.05.2009. — Погоджено ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок 09.06.2009, Держкомветмедицини України 13.07.2009. — 14 с.
9. *Чумаченко В. Е.* Определение естественной резистентности и обмена веществ у сельскохозяйственных животных / В. Е. Чумаченко, А. М. Высоцкий, Н. А. Сердюк, В. В. Чумаченко. — К. : Урожай, 1990. — 136 с.
10. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Microsoft Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — К. : Морион, 2000. — 319 с.
11. Т-лимфоциты. Виды Т-лимфоцитов. НК-клетки [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://medicalplanet.su/Patfiz/305.html>. — Дата доступа: 25.05.2011. — Название с экрана.
12. В-лимфоциты. Созревание В-лимфоцитов [Электронный ресурс] // Режим доступа: <http://medicalplanet.su/Patfiz/304.html>. — Дата доступа: 25.05.2011. — Название с экрана.
13. *Арзамасцев Е. В.* Современные требования к доклиническому изучению безопасности новых лекарственных препаратов / Е. В. Арзамасцев, Б. И. Любимов // Эксперим. и клин. фармакол. — 1995. — № 3. — С. 7–11.

14. *Лісова Н. Е.* Імунофізіологічний статус телят за впливу антимікробних препаратів та імуномодуляторів: Автореф. дис. ... канд. с.-г. наук: 03.00.13 / Н. Е. Лісова. — Львів : Львівська Національна академія ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького, 2007. — 20 с.
15. *Трокоз В. О.* Деякі показники неспецифічного імунітету та їх корекція у телиць біологічно активним екстрактом із лялечок шовкопряда / В. О. Трокоз // Біологія тварин. — 2010. — Т. 12, № 2. — С. 431–435.

Рецензент: доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН Р. С. Федорук, Інститут біології тварин НААН.