

УДК 636:636.5.087.7
© 2017

М.М. БРОШКОВ,
доктор ветеринарних наук

Л.І. ГАЛУЗІНА,
кандидат сільськогосподарських наук

Л.М. СТЕПЧЕНКО,
кандидат біологічних наук

В.О. ТРОКОЗ,
доктор сільськогосподарських наук

А.А. СЕМЕНОВА,
аспірант

Одеський національний
медичний університет –
Дніпропетровський державний
аграрно-економічний університет –
Національний університет біоресурсів
і природокористування України
– Одеський державний аграрний
університет, Україна
E-mail: mr_t_t@ukr.net

вул. Ольгіївська, 4, м. Одеса
вул. С. Єфремова, 25, м. Дніпро
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ
вул. Пантелеймонівська, 13, м. Одеса

ПІДВИЩЕННЯ
ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ
ТА ІМУНОЛОГІЧНОЇ
РЕАКТИВНОСТІ ЦУЦЕНЯТ
ШЛЯХОМ ДОДАВАННЯ
ДО ОСНОВНОГО РАЦІОНУ
КОРМОВОЇ ДОБАВКИ
ГУМІНОВОЇ ПРИРОДИ

Наведено результати дослідження динамічних змін гематологічних показників та встановлення сенсibiliзації з боку організму домашніх тварин за дії кормової добавки гумінової природи "Гумілід". Відомо, що кормові добавки гумінової природи метаболізуються та мають поліфункціональну дію на організм тварин, оскільки володіють високими адаптогенними властивостями, підтримують імунний статус та беруть активну участь у регуляції метаболізму. Визначено, що біологічно активна кормова добавка Гумілід не викликає сенсibiliзації організму до складових діючих речовин, а навпаки, має десенсибілізуючий ефект, про що свідчить зменшення кількості еозинофілів у крові дослідних тварин. Основні кількісні зміни популяції клітин крові, за дії Гуміліду, пов'язані з клітинною ланкою вродженого імунітету організму, що підтверджує збільшення загальної кількості гранулоцитів та моноцитів.

Ключові слова: собаки, біологічно активна кормова добавка гумінової природи "Гумілід", сенсibiliзація, природна резистентність, імунологічна реактивність.

Починаючи зі 70-х років минулого століття різко підвищився інтерес до речовин, які

активують або стимулюють імунологічний го-меостаз тварин. Пов'язано це було з тим, що

імуностимулятори виявились ефективними в лікуванні пухлин, хронічних інфекцій та аутоімунних процесів [6, 8]. Але під час клінічного застосування імунотропних препаратів виникла низка проблем. Наприклад, виявились їх побічні дії, що примусило вилучити деякі з них із виробництва (спленін) або обмежити їх показання до використання (левамізол) [2, 3, 8].

У процесі вивчення та застосування імунотропних препаратів було зафіксовано “феномен маятника” – протилежний вплив на імунітет одного і того ж самого засобу. Виявилось, що кінцевий результат залежить від початкового імунного статусу, генетичних особливостей організму, тобто біологічного виду, до якого належить досліджуваний об’єкт (людина або експериментальна тварина), а також від дози препарату, часу і схеми введення [1, 5, 8]. Тому щодо засобів, які можуть впливати на стан імунітету тварин, сьогодні частіше застосовується термін “імуномодулятори”. Терміни “імуносупресанти” та “імуностимулятори” вживаються лише в разі класифікації цих речовин, аби увиразнити їх головний, переважний вплив на функцію імунокомпетентних клітин [5–8].

До імуномодуляторів або імунокорегуючих засобів належать речовини хімічної або біологічної природи, які здатні моделювати (стимулювати або пригнічувати) реакції імунної відповіді через вплив на імунокомпетентні клітини, процеси їх міграції або на взаємодію таких клітин чи їх продуктів (лімфокіни, антитіла) з відповідними мішенями. При цьому можливі три варіанти імунокорекції: замісний, стимулюючий, пригнічуючий. Характер корекції визначається конкретною метою. Наприклад, для профілактики інфекційних захворювань призначають вакцини або засоби замісної терапії (сироватки, імуноглобуліни). У лікуванні інфекційних захворювань разом з хімотерапевтичними засобами (особливо з тими, які самі мають імуносупресивну дію – пеніциліни, стрептоміцини, тетрацикліни, протитуберкульозні, протигрибкові антибіотики, ко-тримоксазол тощо) призначають препарати, які стимулюють імунітет. Пригнічуючу імунокорекцію застосовують під час пересадки органів і тканин. У разі аутоімунних процесів, а також за деяких онкозахво-

рювань підвищення ефективності основних лікувальних заходів досягається за рахунок комбінованої імунокорекції, тобто поєднаного або альтеруючого призначення імуносупресантів та імуностимуляторів [4, 6, 7].

Імунокорекція може бути медикаментозною, немедикаментозною, інкорпоральною та екстракорпоральною. Тобто, імунокорекція – це комплекс етіотропних і патогенетичних заходів, які передбачають активну дію на імунологічну реактивність організму [2, 3].

Серед сполук природного походження виділяють групу біологічно активних речовин гумінової природи. Відомо, що кормові добавки гумінової природи метаболізуються та мають поліфункціональну дію на організм тварин, оскільки володіють високими адаптогенними властивостями, підтримують імунний статус та беруть активну участь у регуляції метаболізму [5, 10–16]. До таких добавок належить біологічно активна кормова добавка гумінової природи “Гумілід” (ТУ У 15.7-00493675-004:2009), що була отримана з екологічно чистого українського торфу шляхом кислотно-лужної екстракції [4, 5, 9–12]. Отже, дослідження ефективності використання кормової добавки гумінової природи “Гумілід” в основному раціоні домашніх тварин, таких як собаки та кішки з метою підвищення їх природної резистентності та імунологічної реактивності є доцільним і актуальним.

Мета наших досліджень полягала у встановленні динамічних змін гематологічних показників в організмі цуценят за дії кормової добавки гумінової природи “Гумілід” та процесів сенсibilізації з боку організму.

Матеріали та методи. Дослідження складалися з двох етапів. На першому етапі проводили клінічне випробування кормової добавки “Гумілід” для визначення можливої сенсibilізуючої реакції організму на неї. Біологічно активну кормову добавку додавали перорально, з розрахунку 1 мл на 1 кг маси тіла тварини, індивідуально, з використанням одноразових шприців, попередньо розчинивши дозу у фізіологічному розчині в пропорції 1:10. Біологічно активну добавку використовували клінічно здоровим 10-ти безпородним собакам віком від 3-х місяців до 1-го року (4 тварини) і від 1-го до 7-ми

років (6 тварин). Протягом періоду використання та наступного тижня спостереження у тварин не зареєстровано клінічних дисфункцій з боку шлунково-кишкової, серцево-судинної, дихальної та імунної систем. Рухова активність тварин не змінювалась, ознак, що характеризують інтоксикацію організму, не виявлено. На підставі отриманих даних було зроблено висновок про можливість застосування біологічно активної кормової добавки “Гумілід” для собак із встановленням у них динамічних змін гематологічних показників.

На другому етапі досліджень сформували дві групи цуценят породи доберман 2-місячного віку по 3 собаки: дослідну і контрольну. Щоденно дослідним тваринам протягом трьох тижнів додавали біологічно активну добавку перорально, з розрахунку 1 мл “Гуміліду” на 1 кг маси тіла тварини. Добавку вводили в такий самий спосіб, як і на першому етапі досліджень. Кров відбирали з ліктьової вени чотириразово: вперше – перед початком дослідження і ще тричі, з інтервалом у тиждень. У крові піддослідних тварин визначали абсолютну кількість еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, гранулоцитів, моноцитів, лімфоцитів, рівень гемоглобіну та показник гематокриту; відносну кількість еозинофілів – у стабілізованій крові; загальний білок; білкові фракції – у сироватці крові.

Концентрацію загального білка в сироватці крові визначали біуретовим, а співвідношення фракцій білка сироватки крові – турбідиметричним (нефелометричним) методами. Абсолютну кількість лейкоцитів обчислювали за стандартною методикою в камері Горяєва з використанням реактиву Тюрка та абсолютну кількість лейкоцитів, відносну кількість еозинофілів та моноцитів визначали ще автоматизованим гематологічним аналізатором BC-2800Vet з використанням реактивів фірми MINDRAY (Південна Корея). Клітини підраховували і вимірювали згідно з інструкціями до аналізатора імпедансним методом. Диференціювання лейкоцитів проводили за допомогою розчинника та лізуючого реагенту. По гістограмі аналізатора отримували значення кількості лімфоцитів, моноцитів і гранулоцитів у відсотках. Кількість еритроцитів визначали за допомогою автоматизованого гематологічного аналізатора BC-2800Vet імпедансним методом; за допомогою цього ж аналізатора розраховували й концентрацію гемоглобіну (г/л) за формулою: $HGB (г/л) = \text{Константа} \cdot \text{Log}_{10}$. Отримані результати досліджень обробляли статистично.

Результати дослідження та їх обговорення. Аналізуючи показники, які представлені в табл. 1, зазначимо, що найбільш

1. Динаміка показників загального білка і білкових фракцій за введення біологічно активної речовини гумінової природи ($M \pm m, n=3$) ***

Показник	До введення препарату	7 доба	14 доба	21 доба
Загальний білок, ммоль/л	$45,20 \pm 2,25$ $41,6 \pm 5,76$	$45,37 \pm 5,57$ $38,23 \pm 6,70$	$46,77 \pm 2,88$ $33,60 \pm 6,41$	$48,40 \pm 6,41^*$ $28,80 \pm 5,4^*$
Альбуміни, %	$50,8 \pm 3,81$ $51,7 \pm 6,49$	$48,13 \pm 4,62$ $50,33 \pm 5,31$	$47,43 \pm 1,16$ $48,90 \pm 2,08$	$49,20 \pm 3,81^*$ $4,60 \pm 0,09^*$
λ_1 -глобулін, %	$3,0 \pm 0,35$ $1,30 \pm 0,31$	$2,17 \pm 0,23$ $1,37 \pm 0,02$	$2,40 \pm 0,69$ $0,83 \pm 0,27$	$1,43 \pm 0,29^*$ $0,63 \pm 0,06^*$
λ_2 -глобулін, %	$2,5 \pm 0,69$ $2,0 \pm 0,37$	$2,97 \pm 0,85$ $2,93 \pm 0,75$	$2,70 \pm 0,21$ $5,57 \pm 1,33$	$2,37 \pm 0,12^{**}$ $0,13 \pm 0,02^{**}$
β -глобулін, %	$6,8 \pm 1,91$ $6,23 \pm 0,75$	$5,66 \pm 1,37$ $3,80 \pm 0,87$	$4,77 \pm 0,29$ $3,23 \pm 1,44$	$4,57 \pm 0,46^*$ $3,00 \pm 0,12^*$
γ -глобулін, %	$9,9 \pm 1,45$ $11,3 \pm 2,41$	$12,87 \pm 1,85$ $10,63 \pm 2,19$	$14,73 \pm 1,27$ $14,83 \pm 0,40$	$15,53 \pm 1,44^*$ $13,90 \pm 0,18^*$

Тут і далі: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$ – відносно введення препарату;
*** чисельник – дослідні значення, знаменник – контрольні.

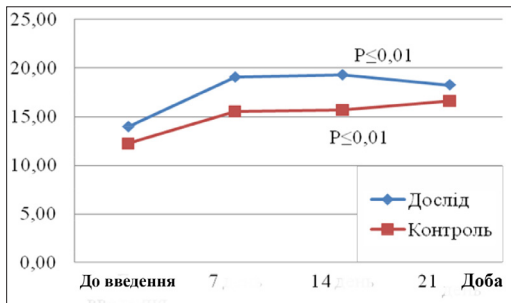


Рис. 1. Динаміка лейкоцитів протягом експерименту, 10⁹/л

виражені зміни, за використання біологічно активної кормової добавки гумінової природи Гумілід, стосувалися вмісту загального білка та γ -глобулінової фракції. Так, у тварин дослідної групи кількість γ -глобуліну до введення добавки в раціон становила в середньому $9,9 \pm 1,45$ % від загальної кількості білка, а через три тижні цей показник підвищився до $15,53 \pm 1,44$ % (різниця 5,63 %). У контрольній групі на початок експерименту кількість γ -глобуліну дорівнювала $11,3 \pm 2,41$, а через три тижні – $13,90 \pm 0,18$ (різниця 2,63 %). Тобто за використання біологічно активної речовини гумінової природи відбувається підвищення рівня γ -глобуліну в крові тварин дослідної групи в середньому на 3 % відносно контрольних. Одночасно подібна динаміка реєструється і за показниками вмісту альбумінів, λ_1 - та λ_2 - та β -глобулінів.

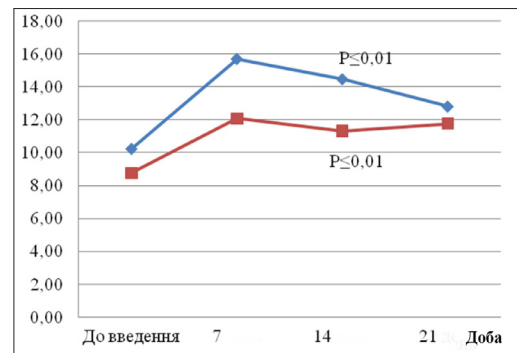
На рис. 1 представлена зміна загальної кількості лейкоцитів протягом проведеного експерименту. У тварин дослідної групи відбулося більш виражене збільшення популяції цих клітин крові на 7-му та 14-ту добу, на відміну від контрольної групи, порівняно зі значенням цього показника на початок експерименту.

Така ж сама динаміка змін зареєстрована і під час аналізу абсолютної кількості гранулоцитів (рис. 2,а).

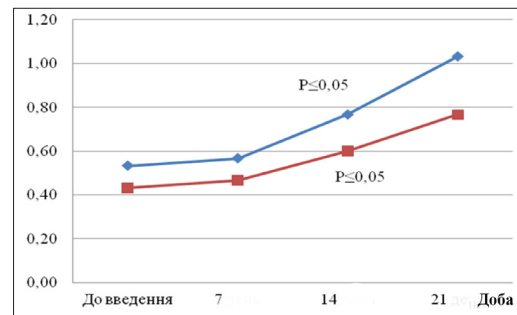
Популяція абсолютної кількості моноцитів за використання біологічно активної речовини гумінової природи "Гумілід" (рис. 2,б) збільшується протягом усього експерименту як у дослідній, так і в контрольній групах тварин. Однак у тварин дослідної групи

зростання було більш вираженим, оскільки гранулоцити та моноцити належать до клітин уродженого імунітету.

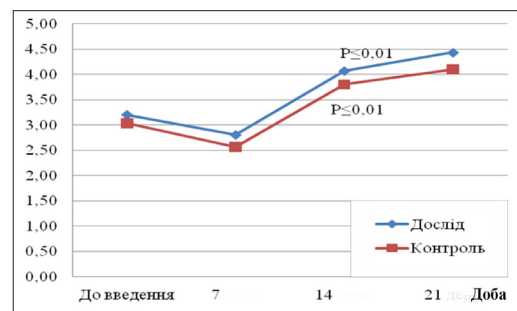
Аналіз динаміки показника абсолютної кількості лімфоцитів (рис. 2,в) показав, що кількісні зміни цих клітин у тварин піддослідних груп практично не відрізнялися між собою, тобто синхронно відбувалось як зменшення кількості цих клітин на початок



а



б



в

Рис. 2. Зміни в абсолютній кількості: а – гранулоцитів; б – моноцитів; в – лімфоцитів абсолютних, 10⁹/л

2. Динаміка еритроцитів, еозинофілів, тромбоцитів, гемоглобіну та гематокриту у цуценят за дії біологічно активної добавки гумінової природи “Гумілід” ($M \pm m, n=3$)

Показник	До введення препарату	7 доба	14 доба	21 доба
Еритроцити	$5,783 \pm 0,115^*$ $6,223 \pm 0,219^*$	$5,263 \pm 0,114$ $6,017 \pm 1,485$	$5,78 \pm 0,104$ $6,12 \pm 0,901$	$5,557 \pm 0,439$ $5,767 \pm 0,167$
Еозинофіли	$3,367 \pm 1,501$ $4,933 \pm 2,540$	$2,8 \pm 0,346$ $4,567 \pm 0,404$	$2,733 \pm 0,808$ $5,2 \pm 0,693$	$2,367 \pm 0,482$ $5,367 \pm 1,501$
Тромбоцити	$385,667 \pm 79,097$ $317,0 \pm 10,392$	$336,333 \pm 83,716$ $243,333 \pm 75,056$	$535,000 \pm 109,119$ $282,667 \pm 161,658$	$656,333 \pm 120,666^*$ $409,333 \pm 49,652^*$
Гемоглобін	$122,667 \pm 4,041$ $128,0 \pm 5,196$	$110,667 \pm 1,155$ $125,667 \pm 30,60$	$123,667 \pm 4,619$ $128,667 \pm 18,475$	$119,667 \pm 10,97$ $118,667 \pm 2,877$
Гематокрит	$41,067 \pm 1,443$ $42,867 \pm 1,27$	$36,967 \pm 0,981$ $41,167 \pm 10,335$	$40,6 \pm 1,212$ $42,233 \pm 5,947$	$39,1 \pm 3,637$ $39,533 \pm 0,924$

експерименту, так і подальше їх збільшення на 7-му, 14-ту та 21-шу доби.

Враховуючи той факт, що лімфоцити відносяться до клітин адаптивного імунітету, можна припустити відсутність специфічних рецепторів на поверхні клітинних мембран біологічно активної кормової добавки гумінової природи “Гумілід”. Вплив відбувається на більш архаїчні ланки імунного захисту організму.

Що стосується характеристики еритроїдного ряду, тобто кількості еритроцитів,

вмісту гемоглобіну та показника гематокриту, то достовірних змін тут не встановлено (табл. 2). Одночасно визначена тенденція до зменшення популяції еозинофілів у крові дослідних тварин. При цьому кількість цих клітин у тварин контрольної групи, навпаки, збільшується. Протилежна реакція спостерігається й щодо кількості тромбоцитів у крові дослідних тварин. У динаміці популяція тромбоцитів у контрольній групі зменшується, а в дослідній збільшується в межах фізіологічних значень.

Висновки

Додавання до основного раціону домашніх тварин біологічно активної кормової добавки гумінової природи “Гумілід” не викликає сенсibiliзації організму до складових діючих речовин кормової добавки. Включення до основного раціону домашніх тварин “Гуміліду”, навпаки, має десенсибілізуючий ефект, про що свідчить зменшен-

ня кількості еозинофілів у крові дослідних тварин. Основні кількісні зміни популяції клітин крові, за дії біологічно активної кормової добавки гумінової природи “Гумілід”, пов’язані з клітинною ланкою вродженого імунітету організму, що підтверджує збільшення загальної кількості гранулоцитів та моноцитів.

Бібліографія

1. Брошков М.М. Показатели иммунограмм собак при разной степени сенсibiliзации т-“активных” лимфоцитов к адреналину и гаммааминомасляной кислоте / М.М. Брошков // Agrarian science, Ştiinţa agricolă. – Chişinău, 2015. – nr. 2. – P. 128–132.
2. Брошков М.М. Прогнозування тривалості проведення імунокорекції у собак на підставі визначення індивідуальної адренер-

гічної імунореактивності / М.М. Брошков // Науковий вісник Луганського НАУ. – 2013. – № 53. – С. 15–20.
3. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / [Влізлоб В.В. та ін.]. – Львів: СПОЛОМ. – 2012. – С. 234–237.
4. Галузіна Л.І. Морфо-функціональні показники крові страусів у динаміці росту за

умови введення до їх раціону кормової добавки “Тумілід” / *Л.І. Галузіна* // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2013. – Вип. 14, № 1–2. – С. 72–78.

5. *Галузіна Л.І.* Стан білкового обміну у динаміці росту страусів за їх промислового вирощування на тлі застосування “Туміліду” / *Л.І. Галузіна* // Науково-технічний бюлетень науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДА-ЕУ. – Дніпропетровськ, 2014. – Т. 2, № 1. – С. 48–53.

6. *Дегтяренко Т.В.* Теоретико-методичні засади клінічного застосування спрямованої нейроімунomodуляції шляхом адекватного біостимулюючого впливу на зорову сенсорну систему / *Т.В. Дегтяренко, О.В. Богданова, А.Г. Чаура* // Досягнення біології та медицини. – 2008. – № 2(12). – С. 8–16.

7. *Дегтяренко Т.В.* Биогенные стимуляторы и иммунореактивность / *Т.В. Дегтяренко, Р.Ф. Макулькин*. – Одесса: Маяк, 1997. – 286 с.

8. *Казмирчук В.Е.* Клиническая иммунология и аллергология с возрастными особенностями / *В.Е. Казмирчук, Л.В. Ковальчук, Д.В. Мальцев*. – К.: Медицина, 2012. – 520 с.

9. *Кцюян А.А.* Адренорецепторы в иммуномодуляции – современные представления и будущие направления / *А.А. Кцюян, А.А. Петросян* // Терапевтический архив. – 2002. – № 10. – С. 45–48.

10. *Степченко Л.М.* Механизмы адаптивного действия препаратов из торфа / *Л.М. Степченко* // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – 2001. – № 2. – С. 125–128.

11. Механизмы влияния гуминовых веществ на физиологическое состояние и продуктивность сельскохозяйственных животных / *Л.М. Степченко, В.Г. Ефимов,*

М.В. Коваленко, Е.В. Гончарова, Л.И. Галузіна // Научные труды III Съезда физиологов СНГ / Под ред. *А.И. Григорьева, О.А. Крышталя, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили*. – М.: Медицина–Здоровье, 2011. – С. 314–315.

12. *Степченко Л.М.* Показатели гуморального иммунитета у цыплят-бройлеров в зависимости от кормового фактора / *Л.М. Степченко* // Науковий вісник НАУ. – 2004. – Вип. 78. – С. 182–186.

13. *Степченко Л.М.* Биологически активные вещества гуминовой природы как регуляторы гомеостаза организма сельскохозяйственной птицы / *Л.М. Степченко* // Материалы VII Междунар. конф. Radostim–2011 [“Фитогормоны, гуминовые вещества и другие биорациональные пестициды в сельском хозяйстве”], (Минск, 2–4 ноября 2011 г.) / Институт биоорганической химии НАН Беларуси. – Минск, 2011. – С. 164–167.

14. *Stepchenko L.M.* Influence of National Humic Preparations on the stage of general adaptation syndrome / *L.M. Stepchenko* // Wise Use of Peatlands: 12th International Peat Congress. – Tampere, Finland, 2004. – Vol. 1. – P. 121–125.

15. The efficiency of feed additives from peat in ostrich farming in Ukraine / *L. Stepchenko, L. Galuzina, S. Koliada, E. Goncharova* // 14th International Peat Congress, Peatlands in Balance, Extended abstract (3–8 June, 2012). – Stockholm, Sweden. – № 128. – P. 1–4.

16. *Stepchenko L.* Use of feed additives in the commercial humic nature breeding ostriches in Ukrainian conditions / *L. Stepchenko, L. Galuzina* / Trird International Conference of CIS IHSS on Humic Innovative Technologies Tenth International Conference daRostim [“Humic Substances and Other Biologically Active Compounds in Agriculture”], HIT–daRostim – 2014 (Book of abstracts). – Moscow, 2014. – P. 34–35.