

ВЕТЕРИНАРНІ НАУКИ

УДК 636.7:612.12:57.017.4

DOI: 10.37000/abbsl.2021.100.02

ІМУНОФІЗІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЦУЦЕНЯТ ЗА БІОЛОГІЧНОГО ПОДРАЗНИКА

М. Брошков¹, Т. Федькалова¹, О. Віщур²¹Одеський державний аграрний університет²Інститут біології тварин НААН

Регуляція імунного статусу організму тварин за умов вакцинації, та пошук для цього нових імунотропних препаратів і способів їх застосування є актуальною проблемою. Метою наших досліджень було визначення індивідуальних імунофізіологічних показників крові у цуценят, після введення полівалентної вакцини в якості біологічного подразника

Дослідження показали, що у тварини №2, порівняно з іншими дослідними тваринами, введення полівалентної вакцини призвело до зниження глобулінів, абсолютної кількості лейкоцитів, абсолютної кількості Т-лімфоцитів їх субпопуляцій, В-лімфоцитів та природніх кілерів на фоні підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів і вмісту заліза.

Ключові слова: цуценята, Т-лімфоцити, біологічний подразник, імунітет, залізо.

Вступ. Незважаючи на масштабну вакцинацію, вірусні інфекції собак залишаються провідною причиною смертності собак, особливо серед молодих тварин. Які чинники, пов'язані з вакцинацією і є вирішальними щодо невдалої вакцинації, в значній мірі невідомо [1]. За даними Decaro N., C., Barrs V.R. найбільш важливою проблемою в викоріненні інфекційних хвороб є невдалі спроби імунізації, включаючи: а) наявність титрів материнських антитіл, що заважають; б) відсутність реакції імунної системи; в) можливе повернення до вірулентності [2]. Проведені нами раніше моніторингові дослідження вказують на те, що значна частина цуценят в період рекомендований для проведення щеплень мають мінімальний вміст гемоглобіну і еритроцитів у більш ніж 65% та високий відносний вміст лімфоцитів у більш ніж 50 % цуценят [3].

Введення вакцини в організм тварин, як біологічний подразник, в будь-якому випадку веде до змін імунних параметрів поствакцинального періоду, в той же час вакцинація потенційно може привести до одного з широкого спектру можливих несприятливих наслідків [4]. Дослідження проведені Altman K.D., Kelman M., Ward M.P. підтверджують, що вакцинація проти вірусних інфекцій неефективна в Австралії і вказує на те, що ветеринарні лікарі повинні розглядати основні інфекції як диференціальний діагноз у випадках з відповідною клінічною картиною, незалежно від вакцинного статусу собаки. Дослідження мозочку і головного мозку 4 вакцинованих собак у віці від 3 до 60 міс., у яких спостерігалися клінічні ознаки інфекції вірусу чуми собак (CDV) та які померли через 7-40 днів після розвитку неврологічних симптомів виявили південноамериканські штами дикого типу, що не включені в комерційні вакцини проти CDV, доступні в Уругваї [5]. Профілактика інфекції ґрунтується на використанні вакцин з модифікованими живими вірусами, які здатні стимулювати як антитіла, так і клітинно-опосередковану імунну відповідь, викликаючи сильний, тривалий захист від подальшого зараження вірулентними вірусами [6].

Дослідження вакцин які є у продажу, модифікованої живого парвовірусу собак, на предмет їх імуносупресивних властивостей на восьми випадково обраних собаках, всі з циркулюючими антитілами показало, що у трьох із восьми собак спостерігається значне зменшення бластогенезу лімфоцитів після введення вакцин [7]. Поствакцинальна чума собак, яку здебільшого пов'язують з вірулентним вакцинним вірусом, може також виникати у собак [8, 9].

Проведено значну кількість досліджень по вивченню застосування імуномодуляторів при вакцинації тварин для підвищення напруженості адаптивного імунітету до збудників інфекційних

захворювань у сільськогосподарських тварин[10]. Проте недостатньо таких наукових досліджень для таких тварин як собаки.

Розробка стратегій профілактики вірусних інфекцій і програм вакцинації з метою створення колективного імунітету ускладненні через нестачу досліджень, які моделюють вірусні інфекції домашніх тварин і дають уявлення про основні показники імунітету[11].

Незважаючи на інтенсивну вакцинацію (принаймні у розвинених країнах), зараження залишається провідною причиною смерті від інфекційних хвороб серед домашніх собак у всьому світі, і на даний момент ми далекі від викорінення хвороби [6].

Отже проведений аналіз наукових досліджень вказує на те, що вакцинація тварин, особливо в ранньому постнатальному періоді є надпороговим біологічним подразником який може спричинити не тільки формування сталого адаптивного імунітету але і розвиток дисфункцій з боку імунної відповіді організму.

Мета досліджень. Визначення індивідуальних імунофізіологічних показників крові у цуценят, після введення полівалентної вакцини в якості біологічного подразника.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на кафедрі фізіології, патофізіології та біохімії Одеського державного аграрного університету. Окремі етапи досліджень були виконані в умовах лабораторії імунології ДП інституту очних хвороб та тканинної терапії ім. В.П.Філатова та багатопрофільної лабораторії ветеринарної медицини ОДАУ. Для дослідження використовували кров 5 цуценят породи «німецька вівчарка» віком 2,5 місяці. Тваринам попередньо за 14 днів до відбору крові ввели полівалентну вакцину «Вангард 5/CV-L (з коронавірусом). Для дослідження відбирали цільну кров у пробірки з активатором згортання крові (SiO₂), сироватка була ретельно відокремлена від формених елементів крові, протягом 1 години після забору крові. В сироватці крові визначали: вміст альбумінів та глобулінів на біохімічному аналізаторі Evolution 3000 (Італія), з використанням тест-системи для визначення альбумінів фірми DAC (Молдова); вміст заліза – біохімічному аналізаторі Stat fax 1904® Plus, з використанням тест-системи для визначення концентрації заліза фірми «СпайнЛаб» (Україна); абсолютний та відносний вміст лімфоцитів. Дослідження популяційного складу Т- і В-лімфоцитів крові проводили методом розеткоутворення з еритроцитами барана в якості маркерів – за В.В. Влізло [12].

Результати власних досліджень. Результати кількісних показників клітин еритроїдного та лімфоїдного ряду представлені в таблиці 1. Встановлено, що у тварини №2 абсолютна кількість лейкоцитів, хоча і знаходиться в межах референтних значень, є нижчою за інших дослідних тварин. Проте кількість нейтрофільних гранулоцитів у цієї тварини є вищою за цуценят №1,3 у яких абсолютна кількість лейкоцитів складає 16,27 та 16,96 Г/л проти 13,24 Г/л.

Таблиця 1. Абсолютна кількість клітин лімфоїдного ряду та показників еритропоезу у дослідних тварин

Показник	Результат дослідження					Референтні значення
	1♀	2♀	3♂	4♂	5♂	Собаки
Лейкоцити (WBC), Г/л	16,27	13,24	16,96	16,48	14,64	6,0-17,0
Лімфоцити (LYM), %	6,46	2,42	6,97	5,18	2,97	1,0-4,8
Моноцити (MID), %	1,37	0,79	1,36	0,49	1,31	0,2-1,5
Нейтрофільні гранулоцити (GRA), %	8,44	10,03	8,64	10,81	10,36	3,0-12,0
Еритроцити (RBC), Т/л	6,45	4,83	5,22	5,31	5,58	5,5-8,5
Гемоглобін (HGB), ммоль/л	125	91	101	102	108	120,0-180,0
Середній вміст Нб в еритроциті (MCH), Пг	19,4	18,9	19,3	19,2	19,4	19,5-24,5
Середня концентрація Нб в еритроциті (MCHC), г/л	323	305	311	307	299	310–340
Ширина розподілу еритроцитів (RDWc), %	15,5	14,9	15,5	14,9	15,1	

Аналіз абсолютної кількості показників «червоної» крові показав, що у тварини №2 також найменші значення кількості еритроцитів (RBC) (4,83Т/л). також у цієї тварини нижчі показники гемоглобіну (Hb), вмісту Hb в RBC, концентрація Hb в RBC та ширина розподілу RBC. В таблиці 2 представлені показники вмісту альбумінів, глобулінів та заліза в сироватці дослідних тварин. Слід зазначити, що у дослідної тварини №2 за вмісту альбуміну 29,0 г/л, що знаходиться в межах референтного значення, вміст глобулінів є найменшим серед усіх тварин і склав лише 0,6 г/л. Проте вміст заліза в сироватці крові у цієї тварини складає 40,2 мкмоль/л і є вищим за інших дослідних тварин. У дослідної тварини №5 за низького вмісту Hb вміст заліза також вище за референтного значення. За даними[12], у людей проліферативна фаза активації лімфоцитів є кроком, що потребує заліза.

Таблиця 2. Вміст альбумінів, глобулінів та заліза у сироватці крові цуценят

Показники	Результат дослідження					Референтні значення
	1♀	2♀	3♂	4♂	5♂	Собаки
Альбумін г/л	21,2	29,0	21,0	32,3	20,6	26-40
Альбумін/Глобулін ум.од.	1,45	48,3	2,39	8,73	2,10	0,7-1,1
Глобулін г/л	14,6	0,6	8,8	3,7	9,8	21-37
Залізо мкмоль/л	15,1	40,2	13,4	17,3	38,0	18-30

Аналіз показників клітинної ланки імунітету у дослідних цуценят показав, що у тварини №2 абсолютна кількість Т-лімфоцитів їх субпопуляції, В- лімфоцити та природні кілери є нижчою ніж у інших дослідних тварин (таблиця 3). Проте фагоцитарна активність нейтрофілів становить 6,27 Г\л, що в порівнянні з іншими тваринами є вищим показником. Слід зазначити, що не зважаючи на зменшену кількість імунокомпетентних клітин у тварини №2 імунорегуляторний індекс знаходиться у фізіологічних межах (2-4). Саме адекватна взаємодія між популяціями клітин впливає на фізіологічність каскаду реакцій пов'язаних з реакцією організму на імуноген.

Таблиця 3. Показники клітинної ланки імунітету у цуценят

Показники клітинного імунітету	Результат дослідження				
	1♀	2♀	3♂	4♂	5♂
Т-лімфоцити, Г\л	3,31	1,68	3,53	3,47	2,46
Т-хелпери, Г\л	2,67	1,34	2,77	2,91	1,69
Т-супресори, Г\л	0,639	0,336	0,724	0,560	0,424
В-лімфоцити, Г\л	0,813	0,336	0,604	0,672	0,540
Імунорегуляторний індекс (Т-хелпери\ Т-супресори), ум.од	4,2	4,0	3,8	5,2	4,0
Природні кілери, Г\л	0,697	0,280	0,845	0,560	0,424
Фагоцитарна активність нейтрофілів	4,47	6,27	5,85	5,76	6,55

Можна припустити, що у тварини №2 на фоні зменшення кількості клітин які формують адаптивний імунітет відбувається активація вроджених факторів захисту організму.

В наших дослідженнях отримані дані потребують додаткового аналізу оскільки у тварин з високим вмістом заліза встановлені нижчі показники абсолютної кількості лейкоцитів. Потребує подальших досліджень, також встановлення маркерів, за якими можна визначати готовність організму до введення біологічного подразника. Прогнозування адекватної імунної відповіді надасть можливість унеможливити дисфункції організму під час щеплень.

Висновок. Встановлено, що реактивність організму цуценят за дії біологічного подразника має індивідуальні особливості, що необхідно враховувати для формування адекватної імунної відповіді при вакцинаціях.

У подальших дослідженнях будуть апробовані методи корекції імунологічних показників у цуценят після вакцинації.

Список використаних джерел

1. Buonavoglia C., Decaro N., Canine parvovirus-A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c., *Vet. Microbiol.* 2012; 155:1–12. DOI:<https://doi.org/10.1016/2011.09.007>.
2. Buonavoglia C., Barrs V.R., Decaro N., Canine parvovirus vaccination and immunisation failures: Are we far from disease eradication? NIH National Library of Medicine., *Vet. Microbiol.* 2020 Aug; 247:108760. DOI:<https://doi.org/10.1016/2020.108760>.
3. Брошков М.М. Імунний статус організму собак залежно від фізіологічних особливостей і його корекція: дис.. на здобуття вч. звання до 03.0013- фізіологія людини і тварин: / М.М. Брошков ; 2016.- 141 с.
4. Брошков М. М. Утворення специфічних антитіл у цуценят за різних гематологічних показників / М. М. Брошков // Аграрний вісник Причорномор'я: Серія «Ветеринарні науки». – Одеса, 2014. – Вип. 72. – С. 12–17
5. Delucchi L., Feijoo G., Yamasaki K., Verdes J.-M., Central nervous system lesions caused by canine distemper virus in 4 vaccinated dogs., *J.Vet. Diagn. Investig.*, 2021 Jul;33(4):640-647 DOI:<https://doi.org/10.1177/10406387211009210/2021/17>.
6. Day M.J., Horzinek M.C., Schultz R.D., Squires R.A., Vaccination guidelines group (VGG) of the world small animal veterinary association (WSAVA) *J. Small Anim. Pract. WSAVA Guidelines for the vaccination of dogs and cats.*, 2016;57:4–8. DOI:https://doi.org/10.1111/jsap.2_12431.
7. Axthelm M., Mastro J.M., Mathes L. E., Krakowka S., Ladiges W., Olsen R.G., Repeated suppression of lymphocyte blastogenesis following vaccinations of CPV-immune dogs with modified-live CPV vaccines., 1986 Sep;12(3):201-11. DOI:[https://doi.org/10.1016/0378-1135\(86\)90049-0](https://doi.org/10.1016/0378-1135(86)90049-0).
8. McCandlish I.A., Cornwell H.J., Thompson H., Nash A.S., Lowe C.M., Distemper encephalitis in pups after vaccination of the dam., 1992 Jan 11;130(2):27-30. DOI:<https://doi.org/10.1136/vr.130.2.27>.
9. Fairley R.A., Knesl O., Pesavento P.A., Elias B.C., Post-vaccinal distemper encephalitis in two Border Collie cross littermates., 2015 Mar;63(2):117-20. DOI:<https://doi.org/10.1080/00480169.2014.955068>. Epub 2015 Jan 19.
10. Віщур О.І. Біохімічні особливості формування та регуляції імунної відповіді у телят і поросят у ранньому віці : Дис... д-ра наук: 03.00.04 - 2008.
11. Kim D.Y., Zinn M.M., Odemuyiwa S.O., Mitchell W.J., Johnson C., Myocarditis caused by naturally acquired canine distemper virus infection in 4 dogs., *J Vet Diagn Invest.*, 2021 Jan;33(1):167-169. DOI:<https://doi.org/10.1177/1040638720971828>. Epub 2020 Nov 9.
12. Jason J., Archibald L.K., Nwanyanwu O.C., Bell M., Jensen R.J., Gunter E., et al. The effects of iron deficiency on lymphocyte cytokine production and activation: Preservation of hepatic iron but not at all cost. *Clin Exp Immunol.* 2001;126(3):466–473.) DOI:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2001.01707.x>.
13. Влізла В.В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В.В. Влізла, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін.; за редакцією В.В. Влізла. – Л.:СПОЛОМ, 2012. – 443с.

IMMUNOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN PUPPIES WITH A BIOLOGICAL STIMULUS

M. Broshkov, T. Fedkalova, O. Vishchur

This review focuses on the regulation of the immune status of animals under vaccination, and the search for new immunotropic drugs and methods for their application. Hence, the aim of our research was to determine individual immunophysiological parameters of blood in puppies after polyvalent vaccine administration as a biological stimulus.

Studies have shown that in animals No. 2, compared with other experimental animals, the administration of a polyvalent vaccine led to a decrease in total globulins, the absolute number of

leukocytes, the absolute number of T-lymphocyte subpopulations, B-lymphocytes and natural killer cells against the background of an increase in the phagocytic activity of neutrophils and the amount of iron.

Keywords: *puppies, T-lymphocytes, biological stimulus, immunity, Ferum*

ИМУНОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ЩЕНКОВ ИЗ-ЗА БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗДРАЖИТЕЛЯ

М. Брошков, Т. Федькалова, О. Вищур

Регуляция иммунного статуса организма животных в условиях вакцинации, и поиск для этого новых иммуностропных препаратов и способов их применения является актуальной проблемой. Целью наших исследований было определение индивидуальных иммунофизиологических показателей крови у щенков, после введения поливалентной вакцины в качестве биологического раздражителя

Исследования показали, что у животного №2 по сравнению с другими исследовательскими животными, введение поливалентной вакцины привело к снижению глобулинов, абсолютного количества лейкоцитов, абсолютной количеству Т-лимфоцитов их субпопуляций, В-лимфоцитов и естественных киллеров на фоне повышения фагоцитарной активности нейтрофилов и содержания железа .

Ключевые слова: *щенки, Т-лимфоциты, биологический раздражитель, иммунитет, железо*