

УДК 612.128.618.019

## ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ЦУЦЕНЯТ УПРОДОВЖ НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРІОДУ

М. М. Брошков  
dolinavet@gmail.com

Одеський державний аграрний університет, вул. Пантелеймонівська, 13,  
Одеса, 65012, Україна

*В онтогенетичному розвитку собак є шість основних періодів: перші 10–12 діб життя; період соціалізації — другий–третій тиждень; четвертий–дев'ятий тиждень; ювенільний період — 10-й тиждень — статеве дозрівання; період зрілості; старечий період.*

*Вивчено динаміку показників імунофізіологічного стану у цуценят упродовж 60 діб після народження. Встановлено, що у тварин після народження значно знижена фагоцитарна активність нейтрофілів і високий відносний вміст лімфоцитів. Упродовж першого місяця життя відбувається дворазове зрівняння відносної кількості лімфоцитів та фагоцитуючих нейтрофілів у межах величин 39–42 %, що вказує на явище «фізіологічного перехресту». На 24 добу спостереження відзначається відносна сталість абсолютної кількості лімфоцитів і підвищення кількості субпопуляції Т-лімфоцитів в середньому на 7 % та зменшення кількості фагоцитуючих нейтрофілів на 14 %. За період від 24 до 30 добу на тлі поступового зменшення кількості лімфоцитів виявлено зростання активності фагоцитозу нейтрофілами. На 30 добу після народження відзначений найбільший рівень лейкоцитів упродовж дослідного періоду. Встановлено суттєве зниження абсолютної кількості лейкоцитів, всіх субпопуляцій лімфоцитів і фагоцитарної активності нейтрофілів на 60 добу життя. Оцінка стану відносного вмісту лімфоцитів та їх субпопуляцій, а також фагоцитуючої активності нейтрофілів показала, що найбільш виражене зниження лімфоцитів відзначалось на 30 та 60 доби експерименту. Після порівняння відносної кількості Т-хелперних клітин, то протягом дослідного періоду вони мали тенденцію як до зменшення (10, 30 та 60 доба), так і до збільшення (24 та 45 доба).*

**Ключові слова:** КЛІТИННИЙ ІМУНІТЕТ, ФАГОЦИТАРНА АКТИВНІСТЬ, «ФІЗІОЛОГІЧНИЙ ПЕРЕХРЕСТ», ЛІМФОЦИТИ, ПЕРІОДИ ОНТОГЕНЕЗУ

## DYNAMICS OF CELL IMMUNITY OF THE PUPPIES DURING TWO MONTH OF THEIR LIFE

М. М. Broshkov  
dolinavet@gmail.com

Odessa state agrarian university, Panteleimonovska str., 13, Odessa, 65012, Ukraine

*The six major periods are in ontogenetic development dogs: the first 10–12 days of life; socialization period — the second–third week; fourth–ninth week; juveniles period — 10<sup>th</sup> week — puberty; period of maturity; senile period.*

*The dynamics of indicators of the immunophysiology status of puppies within 60 days after birth were studied. Found that in animals after birth significantly decreased phagocytic activity of neutrophils and higher proportion of lymphocytes. On day 24 of observation noted there lative constancy of the absolute number of lymphocytes and an increasein T-lymphocytes ub populations by an average of 7 %, while then umberofphagocytic neutrophils — reducedby 14 %. Between 24 to 30 days against a gradual reduction of lymphocyte count, an increase phagocytosis activity of neutrophils. On day 30 after birth marked the highest level of white blood cells during the study period. A substantial reduction in the absolute number of leukocytes, all subpopulations of lymphocytes and phagocytic activity of neutrophils on day 60 of life.*

*Assessment of their relative content of lymphocytes and their subpopulations and phagocytic activity of neutrophils showed that the most marked reduction of lymphocytes was noted at 30 and 60 days of observation. When comparing their relative number of T-lymphocyte cells are then during the study period had a tendency as to decrease (10, 30, and day 60) and to increase (to 24 and 45 days).*

**Keywords:** CELL IMMUNITY, PHAGOCYTOSIS ACTIVITY, PHYSIOLOGICAL CROSSING, LYMPHOCYTES, ONTOGENETIC PERIODS

## **ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ЩЕНКОВ В ТЕЧЕНИЕ НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА**

*М. М. Брошков*  
dolinavet@gmail.com

Одесский государственный аграрный университет, ул. Пантелеймоновская, 13,  
Одесса, 65012, Украина

*В онтогенетическом развитии собак выделяют шесть основных периодов: первые 10–12 суток жизни; период социализации — вторая–третья неделя жизни; четвертая–девятая неделя; ювениальный период — 10-я неделя — половое созревание; период зрелости; старческий период.*

*Изучена динамика показателей иммунофизиологического состояния у щенков в течение 60 дней после рождения. Установлено, что у животных после рождения значительно снижена фагоцитарная активность нейтрофилов и высокое относительное содержание лимфоцитов. В течение первого месяца жизни происходит двукратное уравнивание относительного количества лимфоцитов и фагоцитирующих нейтрофилов в пределах 39–42 %, что свидетельствует о явлении «физиологического перекреста». На 24 сутки наблюдения отмечается относительное постоянство абсолютного количества лимфоцитов и увеличение количества субпопуляции Т-лимфоцитов в среднем на 7 %, а количество фагоцитирующих нейтрофилов снижается на 14 %. За период с 24 до 30 суток на фоне постепенного уменьшения количества лимфоцитов наблюдается увеличение активности фагоцитоза нейтрофилов. На 30 сутки после рождения отмечен наибольший уровень лейкоцитов в течение исследовательского периода. Установлено существенное снижение абсолютного количества лейкоцитов, всех субпопуляций лимфоцитов и фагоцитарной активности нейтрофилов на 60 сутки жизни. Оценка состояния относительного содержания лимфоцитов и их субпопуляций, а также фагоцитирующей активности нейтрофилов показала, что наиболее выраженное снижение лимфоцитов отмечалось на 30 и 60 сутки наблюдения. При сравнении относительного количества Т-лимфоцитов клеток то они в течение исследовательского периода имели тенденцию как к уменьшению (10, 30 и 60 сутки), так и к увеличению (24 и 45 сутки).*

**Ключевые слова:** КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ, ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ, «ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ПЕРЕКРЕСТ», ЛИМФОЦИТЫ, ПЕРИОДЫ ОНТОГЕНЕЗА

В онтогенетичному розвитку собак виділяють шість основних періодів: перші 10–12 діб життя; другий і третій тиждень, період соціалізації; із четвертого по дев'ятий тиждень; ювеніальний період — з 10-го тижня до статевого дозрівання; період зрілості; старечий період. Перші три періоди проходять упродовж перших двох місяців життя, тобто за дуже короткий період, за який цуценя стрімко росте (за перший тиждень його маса подвоюється), йде розвиток центральних механізмів сенсорних систем. До 18 доби життя

цуценята вже бачать і чують, здатні сприймати суку і диференціювати її, у цуценят виробляються умовні рефлекси та умовно-рефлекторні зв'язки. Починаючи з трьох тижнів, собаки вже здатні бігати, проявляти чітку орієнтувальну реакцію на подразники з навколишнього середовища. З 4–5 тижня цуценята переходять на самостійне харчування, оскільки молока матері не вистачає, у них починає розвиватися дослідницька поведінка. Цей період збігається з появою молочних

зубів і тварина намагається все навколо гризти.

Отже, протягом нетривалого часу у цуценят відбуваються важливі фізіологічні перетворення, які у людини тривають роками [1, 2].

Одночасно з ростом і розвитком тіла тварини відбуваються певні метаморфози і в імунній системі, оскільки саме від її сталості залежить здатність адекватно відповідати на зовнішні антигенні подразники. В останні роки у всьому світі пильна увага дослідників і практикуючих лікарів надається комплексу проблем, пов'язаних з вивченням онтогенезу імунної системи в нормі і в умовах патологічних станів упродовж перинатального періоду та раннього віку [3–5]. Дозрівання лімфоцитів і надбання цуценятами репертуару антигенрозпізнавальних рецепторів, формування імунної відповіді, імунної пам'яті, функцій цитотоксичності, забезпечення феномену імунної толерантності — ось далеко не повний перелік фундаментальних процесів, які відбуваються протягом перинатального періоду [6–8]. Враховуючи той факт, що за дуже короткий період життя у цуценят відбуваються складні фізіологічні перебудови в організмі, у тому числі пов'язані з вакцинацією, було доцільним визначити динаміку змін клітинного імунітету протягом перших двох місяців життя з метою упередження ймовірних розладів імунної системи шляхом імунокорекції.

Метою наших досліджень було з'ясування динаміки змін імунофізіологічних показників у цуценят протягом перших двох місяців життя.

### Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були домашні цуценята породи доберман, у кількості 18 тварин, які мали аналогічні умови існування та догляду. Матеріалом для досліджень була попередньо стабілізована, периферична кров цуценят, яку брали вранці натще. Кров доставляли в лабораторію імунології інституту очних

хвороб ім. В. П. Філатова, де проводили дослідження активності клітинного імунітету за методикою Дегтяренко Т. В. [6]. Кількість лейкоцитів визначали на сітці Горяєва лічильної камери, загальну кількість лімфоцитів визначали у пофарбованому за Романовським-Гімзою мазку крові. У крові визначали абсолютний та відносний вміст лімфоцитів та їх субпопуляції у реакції розеткоутворення з еритроцитами барана (Е-теофілінрезистентні розеткоутворюючі лімфоцити, Е-теофілінчутливі розеткоутворюючі лімфоцити), а інтенсивність фагоцитозу нейтрофілів — за здатністю фагоцитувати пекарські дріжджі у перерахунку на 50 клітин. За розеткоутворюючу вважали клітину, яка причепила три і більше еритроцити. За фагоцитуючий вважався нейтрофіл, який захопив одну і більше дріжджову клітину.

### Результати й обговорення

Аналізуючи абсолютний вміст лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій, а також фагоцитоз нейтрофілів у цуценят у динаміці, відзначаємо своєрідну динаміку показників (табл. 1). Характерним є те, що у перші дні життя кількість нейтрофілів здатних до фагоцитозу дуже низька, це може бути пов'язано, насамперед, із масовою загибеллю цих клітин у реакції фагоцитозу у перші години і доби життя, забезпечуючи таким чином захист шкіри та слизових оболонок. На десятю добу виявили значне збільшення абсолютної кількості лейкоцитів і лімфоцитів, за цих умов кількість лімфоцитів у цей період є найвищою у порівнянні з іншими періодами. Цей факт можна пояснити тим, що відбувається презентація великої кількості антигенів, і це дає потужний імпульс сформованому антенатальнолімфоїдному комплексу включитися у реакції імунної відповіді різким збільшенням продукції лімфоцитів. Одночасно відбулося збільшення всіх субпопуляцій лімфоцитів. На 24 добу виявлено відносну сталість абсолютної кількості лімфоцитів і підвищення кількості субпопуляції Т-

лімфоцитів у середньому на 7 %, а кількість фагоцитарних нейтрофілів знижується на 14 %. За період від 24 до 30 доби на тлі поступового зменшення кількості лімфоцитів виявлено збільшення активності фагоцитозу нейтрофілами. На 30 добу фагоцитарна активність нейтрофілів була найвищою за весь період

експерименту. Цей період співпадає з початком росту молочних зубів у цуценят, вони гризуть різні предмети додатково контамінують з різноманітними бактеріальними агентами. Для цього віку також характерним є підвищення абсолютної кількості лейкоцитів та Т-супресорів цитотоксичних.

Таблиця 1

**Показники абсолютного вмісту лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій у цуценят в динаміці упродовж неонатального періоду**

Показники	Доба досліджень					
	На 3-тю добу	На 10-ту добу	На 24-ту добу	На 30-ту добу	На 45-ту добу	На 60-ту добу
Лейкоцити • 10 <sup>9</sup> /л	6,32±2,12	10,0±1,41	9,26±2,37	13,44±3,32	8,75±1,92	5,9±1,42
Лімфоцити • 10 <sup>9</sup> /л	2,4±0,63	3,94±0,89	3,81±0,53	3,27±1,04	3,32±0,76	1,63±0,77
Т-лімфоцити, кл/мкл	1548±510,5	2673±915,4	2837,4±333,8	2573,4±745,3	2579±652,7	2342,3±615,9
Т-хелпери/ Індуктори, кл/мкл	1239± 443,9	1994,8± 408,25	2110,6± 247,1	1723,2± 696,5	1971± 566,0	776,3± 218,1
Т-супресори/ цитотоксичні, кл/мкл	307,7± 80,9	678,4± 130,75	726,6± 227,1	850,4± 190,3	788± 264,5**	430± 414,5
В-лімфоцити, кл/мкл	352,5± 127,6	519,8± 133,9	415,6±1 07,2	314,4± 146,02	375,8± 52,8	172,3± 81,0
Імунорегуляторний індекс	4,0± 0,74	2,94± 1,16	3,24± 1,44	2,02± 0,82	2,5± 1,2	2,8± 1,8
НК-клітини, кл/мкл	187,5± 60,4	339,4± 128,5	304,8±70,3	289,6± 153,5	278,25± 70,87***	145,3± 82,5
Фагоцитоз нейтрофілів, кл/мкл	608,0± 249,2	2535,6± 586,1	2189,0± 635,2	3976,8± 1043,3	2984± 812,5	1744,3± 163,8

Примітка: у цій та наступній таблиці статистично вірогідна різниця порівняно з тваринами на 60-ту добу: \*\* — p<0,01; \*\*\* — p<0,001

Відомо, що до вікових особливостей складу крові відноситься зрівняння у певні періоди кількості лімфоцитів і нейтрофілів, що отримало назву «фізіологічний перехрест». У людини починаючи з 4–5 доби після народження кількість лімфоцитів починає відносно переважати у крові над гранулоцитами — «перший фізіологічний перехрест». Фізіологічний лімфоцитоз триває декілька років. У віці 4–5 років має місце вирівнювання відносного вмісту лімфоцитів і нейтрофілів на рівні 40–45 % («другий фізіологічний перехрест»). У подальшому, фізіологічний відносний лімфоцитоз може зберігатися до 8–10 років [3, 4]. Пізніше остаточно встановлюється нейтрофільний профіль і склад крові в нормі стає стабільним. Природно, що для інших видів ссавців з

різною тривалістю життя і особливостями онтогенезу строки «фізіологічного перехресту» можуть відрізнитися. Це явище у нашому досліді трапляється вперше між 3 та 10 добою життя, вдруге — між 24 та 30 добою. На 60 добу дослідження виявили різке зниження як рівня лімфоцитів, так і кількості фагоцитарних нейтрофілів. Упродовж періоду експерименту імунорегуляторний індекс був у межах фізіологічної норми, за цих умов на 3 добу найвищий (4), а на 30 добу — найнижчий (2).

Оцінка стану відносного вмісту лімфоцитів та їх субпопуляцій, а також фагоцитарної активності нейтрофілів (табл. 2) показала, що найбільш виражене зниження лімфоцитів відзначалось на 30 та 60 доби експерименту.

**Показники відносного вмісту лімфоцитів і їх субпопуляцій та фагоцитозу нейтрофілів у цуценят в неонатальний період**

Показники	Доба досліджень					
	На 3-тю добу	На 10-ту добу	На 24-ту добу	На 30-ту добу	На 45-ту добу	На 60-ту добу
Лімфоцити	42,0±20,2	39,0±4,74	42,6±8,26	25,0±7,58	37,5±5,8	27,7±7,6
Т-лімфоцити	65,0±15,5	67,2±12,5	74,8±3,35	79,2±3,35	77,5±1,9	73,3±8,3
Т-хелпери/індуктори	52,0±13,56	49,6±14,0	56,0±7,6	52,0±8,37	53,0±9,6	50,7±13,6
Т-супресори/цитотоксичні	13,0±2,58	17,6±2,97	18,8±4,38	27,2±7,56	24,5±9,3**	22,7±11,7
В-лімфоцити	14,5±4,12	13,4±2,97	10,8±1,79	9,4±1,95	11,5±1,0	10,7±3,0
НК-клітини	8,0±2,16	8,6±2,07	8,0±1,58	8,6±2,04	8,5±1,9***	9,0±4,0
Фагоцитоз нейтрофілів	18,5±7,55	41,6±6,23	41,2±4,15	39,6±2,61	54,0±10,6	42,7±2,3

Відносна кількість Т-хелперних клітин протягом дослідного періоду мала тенденцію як до зменшення (10, 30 та 60 добу), так і до збільшення (24 та 45 доба). Одночасно відносна кількість субпопуляцій Т-супресорних (цитотоксичних) клітин до 30 доби збільшувалась, а після 30 доби мала тенденцію до зменшення. Абсолютна кількість натуральних кілерів (НК) збільшувалась до 24 доби життя, а до 60 доби — зменшувалась, проте відносна кількість коливалась лише в межах величин від 8 до 9 %.

### Висновки

1. Після оцінки динаміки імунофізіологічного статусу цуценят упродовж перших двох місяців життя виявлені зміни у стані імунологічній реактивності організму: низький рівень абсолютної кількості лімфоцитів на 3 та 60 доби після народження, а також зниження абсолютної кількості фагоцитуючих клітин поряд з підвищенням імунорегуляторного індексу на 3, 24 та 60-ту доби життя.

2. З 10 по 24 добу життя у крові цуценят відзначено вирівнювання відносної кількості лімфоцитів та фагоцитуючих нейтрофілів на рівні 39–42 %, що вказує на явище «фізіологічний перехрест».

### Перспективи подальших досліджень.

Провести спостереження за подальшими змінами імунофізіологічних показників у собак у

різні періоди онтогенезу, а також за умов введення біологічного подразника (вакцини). Дослідити роль «фізіологічного перехресту» на подальший прояв дисфункцій в імунній системі.

1. Blochin G. I., Gladkih M. Yu., Ivanov A. A., Ovsishcher B. R., Sidorova M. V. *Kinology. Textbook for universities.* Moscow LLC, Scriptorium Publisher 2000, 2001. p. 135–139 (in Russian).

2. Bobova L. P., Kuznetsov S. L., Saprykin V. P. *Gistophiziology of blood of hematopoiesis and immunogenesis.* M., Univ New Wave, 2003. p. 93–95 (in Russian).

3. Degtjarenko T. V., Makulkin R. F. *Biogenic stimulators and immunoreactivity.* Odessa, Light house. 176 p. (In Russian).

4. Zaychik A. S., Churilov L. P. *Mechanisms of disease and syndromes.* SPb, ELBI-SPb, 2002. 507 p. (In Russian).

5. Kazmirchuk V. E., Kovalchuk L. V., Maltsev D. V. *Clinical Immunology and Allergology with age characteristics: the textbook.* 2nd ed., Reprocessing and additions. K., TNI «Medicine», 2012. 520 p. (In Russian).

6. Kavtsevich N. N., Erohina I. A. On the estimation of the viability of seal pups on some parameters of blood. *Actual problems of veterinary biology.* St. Peterburg, 2009, Is. 3, № 3, P. 3–8 (in Russian).

7. Vlizlo V. V., Fedoruk R. S., Ratych I. B. et al. *Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary : Reference book.* Lviv, SPOLOM, 2012. 764 p. (In Ukrainian).

8. Fedotov Yu. N., Verhovskiy O. A., Slugin I. G. *Immunology and immunopathology dogs: monograph.* Moscow, INFORM-12, 2000. 248 p. (In Russian).