

СТАН КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ПОРОСЯТ РАНЬОГО ВІКУ ЗА ВВЕДЕННЯ ПРЕПАРАТІВ «ЛІПОВІТ» ТА «ТРИВІТ»

Н. З. Огородник

Інститут біології тварин НААН

У статті наведено результати експериментальних досліджень впливу різних форм вітамінів А, D₃, Е при парентеральному їх введенні поросятм раннього віку на кількість Т- і В-лімфоцитів крові та їх функціональну активність. Показано, що дворазове введення поросятм 5-добового віку жиророзчинних вітамінів у формі масляного розчину — препарат «Тривіт» та у формі ліпосомальної емульсії — препарат «Ліповіт» стимулює в їхньому організмі Т- і В-клітинну ланку імунітету. Зокрема, введення препарату «Тривіт» спричиняє збільшення у крові поросят 12-добового віку кількості Т-загальних лімфоцитів та В-лімфоцитів. Дія препарату «Ліповіт» виявляється в усі періоди досліджень і характеризується збільшенням у крові поросят відносної кількості Т-лімфоцитів та їх регуляторних популяцій і кількості В-лімфоцитів. Проведені дослідження показали, що вплив препарату «Ліповіт» на активність Т- і В-клітинної ланки імунітету був виражений більшою мірою, ніж застосування препарату «Тривіт».

Ключові слова: Т- і В-ЛІМФОЦИТИ, ІМУНІТЕТ, ПОРОСЯТА, ВІТАМІНИ А, D₃, Е, ЛІПОСОМАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ

На сьогодні однією із актуальних проблем тваринництва і ветеринарної медицини є забезпечення високої імунобіологічної реактивності та збереження здоров'я молодняку тварин. Функції імунної системи виконують Т- та В-лімфоцити, макрофаги, а також їх продукти — імуноглобуліни, лімфокіни і монокіни. Новонароджений молодняк на відміну від дорослих тварин має недостатньо сформовану імунну систему для захисту від дії факторів навколишнього середовища [1]. Здатність імунної системи відповідати на антигенну стимуляцію у тварин розвивається через певний час після народження. У поросят у перші дні життя спостерігається низький рівень Т- і В-лімфоцитів, у зв'язку із цим практично до 10–14-добового віку в організмі поросят не виробляються імуноглобуліни [2, 3]. Тому у захисті молодого організму в період становлення імунобіологічної реактивності головну роль виконують антитіла матері — імуноглобуліни, які створюють пасивний (колостральний) імунітет, основну їх кількість новонароджені отримують з молозивом матері [4].

Як відомо формування процесів адаптації в організмі тварин у ранній постнатальний період онтогенезу відбувається за безпосереднього впливу різноманітних стрес-чинників [5]. Встановлено, що введення тваринам жиророзчинних вітамінів, до деякої міри, знижує негативну дію стрес-факторів на організм тварин, водночас вітаміни посилюють імунобіологічну реактивність у тварин, підвищують їх здатність протистояти інфекційному процесу і створювати імунітет до збудників захворювань [6]. Виражена дія вітамінів А та Е на імунітет обумовлена їх антиоксидантними властивостями, завдяки яким вони захищають лімфоцити від кисень залежних видів апоптозу. Однак, суттєвим недоліком вітамінних препаратів є їх швидкий метаболізм і виведення з організму, що вимагає наступного введення. Вирішенням цієї проблеми може бути використання вітамінів у формі ліпосомальних емульсій, які, на відміну від звичайних форм, забезпечують більш тривалу циркуляцію лікарського засобу в організмі, що в свою чергу дає можливість значно зменшити дозу препарату та збільшити час його дії [7, 8].

Зважаючи на вищесказане метою роботи було дослідження впливу жиророзчинних вітамінів у вигляді препарату «Тривіт» та у формі ліпосомальної емульсії (препарат «Ліповіт») на показники Т- і В-клітинної ланки імунітету поросят раннього віку.

Матеріали і методи

Дослідження виконані у фермерському господарстві «Нагорянка» Пустомитівського району Львівської області на поросятах великої білої породи, розділених за принципом аналогів на контрольну і дві дослідні групи по 5 тварин у кожній. На 5-й день після народження поросят контрольної групи внутрішньом'язово вводили ізотонічний розчин NaCl, першої дослідної групи — препарат «Тривіт», другої дослідної групи — препарат «Ліповіт». Препарат «Ліповіт» — розроблений у лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН. Препарати вводили поросят двічі з інтервалом у 15 днів з розрахунку 0,1 мл на кг маси тіла. Матеріалом для досліджень була кров, яку брали у поросят з краніальної порожнистої вени у 5-, 12-, 20- та 28-добовому віці. У крові поросят визначали загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) в реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана (Jondal M. et al., 1972), кількість «активних» А-РУЛ (Kerman et al., 1976), кількість Т-хелперів — методом розеткоутворення (Shohat et al., 1992), кількість В-лімфоцитів (ЕАС-РУЛ) — в реакції комплементарного розеткоутворення з еритроцитами барана (Чернушенко Е.Ф., Когосовой П.С., 1981). Активність розеткоутворення визначали за щільністю рецепторів: 0 — не активні, 3–5 — рецептори з малою щільністю, 6–10 — рецептори з середньою щільністю. Результати дослідження опрацьовували за допомогою програми Microsoft Excel пакета Microsoft Office Professional XP.

Результати й обговорення

На рисунку представлено вікові зміни кількості Т- і В-лімфоцитів крові поросят за впливу препаратів «Тривіт» та «Ліповіт». Як показали результати досліджень, внутрішньом'язове введення поросят препаратів «Тривіт» та «Ліповіт» збільшує у крові відносну кількість Т- і В-лімфоцитів.

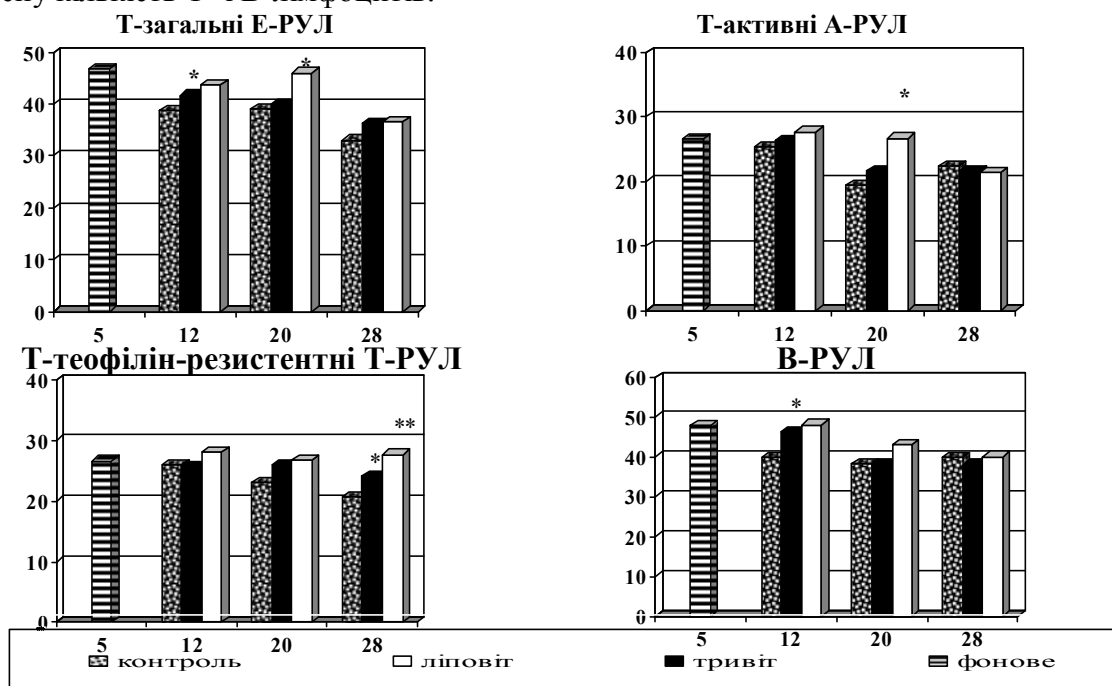


Рис. Відносна кількість Т- і В-лімфоцитів у крові поросят ($M \pm m$, %, $n=3-5$)

Примітка: На рисунку та у таблиці статистично вірогідні різниці між показниками у поросят дослідних груп, порівняно до контрольної групи: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

Так, у крові поросят першої групи у 12-добовому віці, порівняно із поросятами контрольної групи, зростає кількість Т-загальних лімфоцитів та В-лімфоцитів ($p < 0,05$). У 28-

добовому віці препарат «Тривіт» викликав збільшення відносної кількості теофілін-резистентних Т-лімфоцитів ($p<0,05$). Введення поросятam другої дослідної групи препарату «Ліповіт» спричинило збільшення у крові у 20-добовому віці відносної кількості Т-загальних і Т-активних лімфоцитів ($p<0,05$), при цьому у 28-добових поросят «Ліповіт» викликав збільшення кількості теофілін-резистентних Т-лімфоцитів ($p<0,01$).

Таблиця

Функціональна активність Т- і В-лімфоцитів у крові поросят, % ($M\pm m$, $n=3-5$)

Показники	Групи тварин	Вік тварин, доба			
		5	12	20	28
1	2	3	4	5	6
Т-загальні Е-РУЛ, 0	К	53,14±	61,33±0,67	61,0±2,89	67,0±1,15
	Т	1,47	58,33±0,67*	60,0±2,52	64,33±0,88
	Л		56,33±2,67	54,0±1,53*	63,33±1,67
3-5	К	37,14±	29,33±1,33	33,67±2,03	28,0±2,31
	Т	1,12	33,33±2,33	33,67±1,20	30,0±2,52
	Л		33,33±2,19	34,67±1,33	31,33±0,66
6-10	К	6,86±	6,0±1,15	4,33±0,88	4,0±1,15
	Т	0,63	6,33±0,88	5,0±1,53	4,67±0,88
	Л		7,0±1,53	7,0±0,58*	3,67±0,88
М	К	2,86±	3,33±1,33	1,0±0,01	1,0±0,01
	Т	0,51	2,0±0,10	1,33±0,33	1,67±0,67
	Л		3,33±1,45	4,33±1,67	1,67±0,67
Т-активні А-РУЛ, 0	К	73,43±	74,67±1,45	80,67±1,45	77,67±0,67
	Т	0,84	73,67±1,45	78,33±1,20	79,0±0,58
	Л		72,33±0,67	73,33±1,20*	78,67±0,88
3-5	К	21,14±	23,33±0,67	16,0±1,15	20,33±0,33
	Т	0,96	22,33±0,88	18,67±1,76	18,33±0,88
	Л		24,33±0,33	24,0±2,08*	17,33±1,33*
6-10	К	5,43±	2,0±0,01	3,33±1,20	2,0±0,58
	Т	0,57	4,0±0,78*	3,0±0,58	3,33±0,88
	Л		3,33±0,88	2,67±1,20	4,0±0,58*
Т-хелпери Т-РУЛ, 0	К	73,43±	74,0±2,0	77,0±2,65	79,33±1,20
	Т	1,02	74,33±0,67	74,0±1,53	76,67±0,67
	Л		72,0±1,53	73,33±2,03	72,33±0,88**
3-5	К	21,43±	23,33±1,85	19,0±1,73	19,33±1,45
	Т	1,38	22,67±1,45	23,33±0,67*	22,0±0,58
	Л		25,0±2,08	22,33±1,45	24,33±0,33*
6-10	К	5,14±	2,67±0,33	4,0±0,10	1,33±0,33
	Т	0,74	3,0±0,10	2,67±0,12***	2,0±0,58
	Л		3,0±0,58	4,33±0,67	3,33±0,88
В-РУЛ, 0	К	52,29±	60,33±2,91	61,67±4,37	60,33±3,18
	Т	1,78	53,67±0,88*	61,67±1,85	62,0±3,61
	Л		52,0±4,0	57,0±3,61	60,0±2,65
3-5	К	32,57±	32,0±1,53	27,0±3,06	28,0±1,15
	Т	1,48	33,0±1,53	26,0±1,53	28,33±1,76
	Л		32,0±1,15	32,33±1,45	28,0±2,0
6-10	К	9,29±	6,33±1,85	7,0±0,58	8,67±0,88
	Т	0,42	10,33±0,67	8,0±0,58	5,0±0,10*
	Л		9,67±1,20	6,67±2,40	7,0±0,58
М	К	5,86±	1,33±0,33	4,33±0,88	3,0±0,20
	Т	0,67	3,0±0,20*	4,33±0,67	4,67±2,03
	Л		6,33±2,73	4,0±0,30	5,0±2,31

Із отриманих даних випливає, що внутрішньом'язове введення поросят вітамінів А, D₃, Е у формі масляного розчину і у складі ліпосомального препарату проявляє стимулювальний вплив на формування клітинних механізмів специфічного захисту. Водночас, введення поросят препарату «Ліповіт» збільшує не тільки загальну кількість Т-лімфоцитів та їх функціональну активність, але й кількість регуляторних популяцій (теофілін-резистентних Т-лімфоцитів), які як відомо позитивно впливають на формування імунної відповіді в організмі тварин.

З наведених у таблиці даних бачимо, що збільшення відносної кількості Т- та В-лімфоцитів у крові поросят 12-добового віку при введенні препарату «Тривіт» головним чином відбувалось за рахунок зменшення кількості їх недиференційованих форм і зростання високоавідних у функціональному відношенні форм В-РУЛ ($p < 0,05$). За дії препарату «Тривіт» вказані зміни у кількості Т- і В-лімфоцитів у крові поросят 20-добового віку відбувались за рахунок збільшення кількості низькоавідних форм ($p < 0,05$) та зменшення кількості середньоавідних форм теофілін-резистентних Т-лімфоцитів ($p < 0,001$), а у 28-добовому віці шляхом зменшення кількості середньоавідних форм В-лімфоцитів ($p < 0,05$). Проведені дослідження показали, що введення поросят препарату «Ліповіт» призводить до збільшення у крові кількості Т-загальних і Т-активних лімфоцитів у 20-добовому віці вказані зміни відбувались за рахунок зменшення у крові поросят дослідної групи кількості недиференційованих форм Е-РУЛ і А-РУЛ ($p < 0,05$), а також завдяки зростанню середньоавідних форм Т-загальних лімфоцитів ($p < 0,05$) і низькоавідних форм Т-активних лімфоцитів ($p < 0,05$). Введення поросят препарату «Ліповіт» у 28-добовому віці призвело до зменшення низькоавідних і зростання середньоавідних форм Т-активних лімфоцитів ($p < 0,05$) та зменшення кількості недиференційованих форм теофілін-резистентних Т-лімфоцитів ($p < 0,01$) і зростання Т-хелперів із низькою щільністю рецепторів ($p < 0,05$).

Отримані результати свідчать про те, що препарати «Тривіт» і «Ліповіт» при внутрішньом'язовому введенні поросят раннього віку сприяють активації Т- та В-клітинної ланок імунітету. Очевидно це відбувається завдяки наявності у їх складі жиророзчинних вітамінів А, D₃ та Е. Дія вітаміну А на показники неспецифічного імунітету обумовлена його участю у синтезі імуноглобулінів класів М і G [9], які як відомо, пов'язані із В-лімфоцитами та Т-кіллерами. Встановлено, що вітамін D відіграє важливу роль у регуляції активності моноцитів та лімфоцитів, впливає на процеси клітинної проліферації та апоптоз дендритних клітин і Т-хелперів [10]. Рецептори до вітаміну D знайдені на Т-лімфоцитах і макрофагах, а особливо високою є їх концентрація в незрілих клітинах у тимусі та зрілих теофілін-резистентних Т-лімфоцитів (CD8). Що стосується вітаміну Е, він проявляє імунокорегуючу дію, стимулює клітинний та гуморальний імунітет, застосування α -токоферолу сприяє збільшенню у крові кількості Т-клітин [11]. Також слід зазначити, що вплив від застосування поросят препарату «Ліповіт» був виражений більшою мірою, ніж препарату «Тривіт». Це можна пояснити перебуванням жиророзчинних вітамінів у складі препарату «Ліповіт» всередині ліпосомальної оболонки та частково на поверхні ліпосом. У такому вигляді вони поступають в організм, досягають органів і клітин-мішеней та вивільняють наявні вітаміни. До речі, в ліпосомальному вигляді біодоступність діючої речовини збільшується, що вкрай важливе для їхньої дії. Ліпосомальні форми препаратів діють тільки тоді, коли досягають клітин-мішеней, при цьому діюча речовина надійно захищена від деградації ферментами і довше зберігається в активній формі [12–14].

Висновки

1. Дворазове внутрішньом'язове введення поросят у ранньому віці препаратів «Тривіт» і «Ліповіт» проявляє стимулювальний вплив на активність Т- та В-клітинної ланок імунної системи.

2. Встановлено, що при введенні препарату «Тривіт» кількість Т-загальних лімфоцитів та В-лімфоцитів у крові поросят 12-добового віку була більшою, ніж у контролі. Дія препарату «Ліповіт» на клітинну ланку імунітету поросят проявляється у всі періоди досліджень, але вірогідні різниці отримали лише на останніх етапах.

3. Вплив препарату «Ліповіт» на кількість та функціональну активність Т- і В-лімфоцитів у крові поросят був виражений більшою мірою, ніж застосування препарату «Тривіт», що обумовлено використанням даних вітамінів у формі ліпосомальної емульсії.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення впливу вітамінів А, D₃, Е, введених у формі ліпосомальної емульсії на окремі ланки обміну в організмі тварин.

N. Z. Ohorodnyk

STATE OF CELLULAR IMMUNITY OF PIGLETS OF EARLY AGE AFTER INTRODUCTION OF PREPARATIONS OF «LIPOVIT» AND «TRIVIT»

S u m m a r y

The results of experimental researches of influence of different forms of vitamins A, D₃, E after parenterall introduction the piglets of early age on the amount of T- and B-limfocytes of and them functional activity have been presented in the article. It is shoun that double introduction piglets 5-day's age of vitamins in form oily solution of preparation of «Trivit» and in form liposomal emulsion — preparation of «Lipovit» leads to rise of activity of T- and B-cellular link of immunity in their organism. In particular, introduction of preparation of «Trivit» is drawn by an increase in blood of piglets 12-day's age of amount T-general limfocytes and B-limfocytes. The action of preparation of «Lipovit» appears in all periods of researche and characterized by increase in blood of piglets of relative amount of T-cell and them regulator populations and amount of B-limfocytes. The conducted researches shoun that influence of preparation of «Lipovit» on activity of T- and B-cellular link of immunity had been expressed in a greater degree, than introduction of preparation of «Trivit».

Н. З. Огородник

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ПОРОСЯТ РАННЕГО ВОЗРАСТА ПРИ ВВЕДЕНИИ ПРЕПАРАТОВ «ЛИПОВИТ'» И «'ТРИВИТ'»

А н н о т а ц и я

В статье приведены результаты экспериментальных исследований влияния различных форм витаминов А, D₃, Е при парэнтеральном их введении поросётам раннего возраста на количество Т- и В-лимфоцитов крови и их функциональную активность. Показано, что двукратное введение поросётам 5-суточного возраста жирорастворимых витаминов в форме масляного раствора — препарат «Тривит» и в форме липосомальной эмульсии — препарат «Липовит» стимулирует в их организме Т- и В-клеточное звено иммунитета. В частности, введение препарата «Тривит» влечёт увеличение в крови поросят 12-суточного возраста количества Т-общих лимфоцитов и В-лимфоцитов. Действие препарата «Липовит» оказывается во все периоды исследований и характеризуется увеличением в крови поросят относительного количества Т-лимфоцитов и их регуляторных популяций и количества В-лимфоцитов. Проведенные исследования показали, что влияние препарата «Липовит» на активность Т- и В-клеточной ланок иммунитета было выражено в большей степени, чем применение препарата «Тривит».

1. Максимюк Н. Н. Особенности обмена веществ и естественная резистентность организма поросят / Н. Н. Максимюк // Вопросы физико-химической биологии в ветеринарии. — 2005. — С. 171–178.
2. Нікітенко А. М. Стимуляція природної резистентності та продуктивності свиней / А. М. Нікітенко, М. В. Козак, В. В. Малина. — Львів, 2001. — 145 с.
3. Жучаев К. В. Формирование адаптивных качеств и продуктивности свиней в процессе микроэволюции : автореф. дис. д-ра биол. наук / К. В. Жучаев. — Москва, 2005. — 41 с.
4. Петров А. М. Формирование колострального иммунитета у животных / А. М. Петров // Ветеринария. — 2006. — № 8. — С. 35–41.
5. Чумаченко В. Стрес у тварин (етіологія та патогенез) / В. Чумаченко // Ветеринарна медицина України. — 2008. — № 5. — С. 15–18.
6. Куртяк Б. М. Використання жиророзчинних вітамінів у ветеринарній медицині і тваринництві / Б. М. Куртяк, В. Г. Янович. — Львів : Тріада плюс, 2004. — 376 с.
7. Кузякова Л. М. Конструирование трансдермальных липосомальных препаратов с заданными свойствами / Л. М. Кузякова // Вестн. моск. ун-та. Сер. 2. Химия. — 2005. — Т. 46, № 1. — С. 74–79.
8. Савченкова Л. В. Некоторые стороны механизма терапевтического действия липофлавона с ацелизином при экспериментальной сердечной недостаточности / Л. В. Савченкова, Т. В. Афоніна, М. В. Оглобіна // Укр. мед. альманах. — 2006. — № 4, додаток. — С. 154–155.
9. Aukrust P. Decreased vitamin A levels in common variable immunodeficiency: vitamin A supplementation in vivo enhances immunoglobulin production and downregulates inflammatory responses / P. Aukrust, F. Muller, T. Ueland et al. // Eur J Clin Invest. — 2000. — V. 30, № 3. — P. 252–259.
10. Лукьянова Е. Л. Вітамін D и его роль в обеспечении здоровья детей и беременных женщин / Е. Л. Лукьянова, Ю. Г. Антипкин, Л. И. Омельченко, Л. И. Апуховская. — К. : Эксперт, 2005. — 230 с.
11. Донченко Г. В. Нові аспекти механізму біологічної дії вітаміну E, його активних метаболітів та похідних / Г. В. Донченко // Український біохімічний журнал. — 2002. — Т. 74, № 4а (дод. 1). — С. 8–12.
12. Ishida T. Accelerated blood clearance of PEGylated liposomes following preceding liposome injection: effects of lipid dose and PEG surface-density and chain length of the first-dose liposomes / T. Ishida, M. Harada, X. Y. Wang // J. Control Release. — 2005. — V. 105. — P. 305–317.
13. Chen T. Distal cationic poly(ethyleneglycol) lipid conjugates in large unilamellar vesicles prepared by extrusion enhance liposomal cellular uptake / T. Chen, L. R. Palmer, D. B. Fenske // J. Liposome Res. — 2004. — V. 14. — P. 155–173.
14. Батурич В. А. Определение длительности сохранения противомикробной активности липосомальных форм цефазолина / В. А. Батурич, Е. Н. Шиханова, Л. М. Кузякова // Мед. вестн. Северного Кавказа. — 2006. — № 4. — С. 64–67.

Рецензент: старший науковий співробітник лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин, кандидат біологічних наук Салига Н. О.