

УДК 591.1 636.7 612.6 612.083 612

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОВЕДЕННЯ ПРОТИВІРУСНОЇ ІМУНОКОРЕКЦІЇ У СОБАК НА ПІДСТАВІ ОЦІНКИ РІВНЯ СЕНСИБІЛІЗАЦІЇ «АКТИВНИХ» Т-ЛІМФОЦИТІВ ДО ГЕРПЕТИЧНОГО АНТИГЕНУ**БРОШКОВ М.М.**, к. вет. н., доцентОдеський державний аграрний університет,
м. Одеса
dolinavet@gmail.com

Проведена оцінка показників імунограм собак залежно від рівня сенсibilізації «активних» Т-лімфоцитів до герпетичного антигену з врахуванням імунорегуляторного індексу (ІРІ) а також проаналізовано доцільність проведення противірусної імунокорекції за різних показників відсотку інверсії. В дослід підбирали тварин, які мали хронічні ураження шкіри, що характеризувалися зоначними алопеціями, депегмінтацією, свербіжем, висипами та періодично виникаючими рецидивуючими екземами шкіри. У дослідних тварин було диференціально виключено паразитарні захворювання. Тварин після проведення імунологічних досліджень розділили на три групи: перша група (рівень сенсibilізації до 10%) – на фоні симптоматичного лікування призначена противірусна імунокорекція; друга група (рівень сенсibilізації більше 10%) – симптоматичне лікування без призначення противірусної імунокорекції; третя група (рівень сенсibilізації більше 10%) - на фоні симптоматичного лікування призначена противірусна імунокорекція. З метою імунокорекції використовували препарат «Неовір – 12,5%» з діючою речовиною *Oxodihydroacridinylacetate sodium* з розрахунку 10 мг на кг. живої ваги внутрішньом'язево один раз на 48 години, всього п'ять ін'єкцій. За тваринами спостерігали протягом 6 місяців на предмет необхідності продовження та повторення курсів імунокорекції.

За рівнем герпесвірусної рецeпції «активних» Т-лімфоцитів визначали необхідність проведення противірусної імунокорекції: інверсія до 10%- низька ступінь сенсibilізації. При збільшенні інверсії відсотку «активних» Е-РУЛ в дослідних пробах більше 10% – призначають фармакологічні засоби противірусної дії.

Встановлено, що додаткове призначення противірусних фармакологічних засобів собакам з відсотком інверсії вище 10 вдвічі знижує тривалість імунокорекції і втричі зменшує можливість повторного клінічного прояву дисфункції імунної системи.

Оцінка абсолютної кількості лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій за різного імунорегуляторного індексу показала, що при зниженні ІРІ підвищується кількість Т-супресорних клітин та В-лімфоцитів, а при збільшенні ІРІ підвищується абсолютна кількість Т-хелперних клітин

Імунорегуляторний індекс, Т-хелперні клітини, лейкоцити, відсоток інверсії, герпесвірусний антиген

Відомо, що імунна система здійснює контроль сталості антигенного складу організму, знищуючи і елімінуючи усе чужорідне, яке потрапляє в організм із зовнішнього середовища або базується в ньому [1]. Надважливим інструментом для досягнення цієї мети слугує запальна реакція, що виникає за допомогою широкого спектра протизапальних цитокінів. Однак симбіотичне співіснування організму і його мікрофлори може порушуватись. При певних умовах мікроорганізми можуть викликати тяжкі ендогенні запальні процеси. Безпере-

чно, що будь-який багатоклітинний організм повинен жорстко контролювати ці мікроорганізми не допускаючи їх потрапляння до тканин організму, а коли вони потрапили – знищити. Однак дуже часто імунна система не справляється з чужорідним в зв'язку з недостатністю її функціонування. Дисбаланс в імунній системі призводить до розвитку хронічних запальних процесів, при цьому організм притискає патоген, але не може повністю від нього позбутися, а це призводить до нового загострення тобто фази ремісії. Одними з основних патогенів, які персистують в організмі є віруси [2].

Герпесвірусна інфекція – найбільш розповсюджена серед людей і тварин. Вірус характеризується відносно коротким реплікативним циклом (до 24 годин), швидкою руйнацією уражених клітин і здатністю перебувати в латентній формі переважно в нервових клітинах. За даними літератури перебіг у вигляді інпаратних, субклінічних і клінічних форм, можливе лише за умов первинного або вторинного імунодефіциту, а висока частота приховано перебігаючої інфекції робить неможливим імунопрофілактику. Серологічні дослідження показують високу розповсюдженість CPV-1 серед собак: 50-70% серопозитивних виявлено серед всього поголів'я в США, Японії та Швейцарії [3].

За даними інших авторів практично всі люди інфіковані вірусами герпесу і цитомегаловірусу і лише у частини з них з імунодефіцитами, розвивається герпетична хвороба [4, 5]. Отже всі ці данні вказують на достатньо широку розповсюдженість вірусів, їх існування в латентній формі та періодичну активацію під час дисбалансу в імунній системі.

Метою наших досліджень було обґрунтувати доцільність проведення противірусної імунокорекції у тварин на підставі визначення сенсibilізації організму до герпетичного антигену.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проведені в умовах ветеринарної клініки. Об'єктом дослідження були домашні собаки від 1-го до 6-ти років, які мали аналогічні умови існування та догляду (n=48). Вранці на тещерце у собаки відбирали 0,3-0,5мл периферичної крові і виділяли лейкоцитарно – лімфоцитарну суміш клітин.

Розкапували лейкоцитарно – лімфоцитарну суміш клітин по 0,05 мл у лунки імунологічних планшет. Додавали в дослідні лунки 100 мкл розчину герпетичного антигену, а контрольні лунки 0,05 мл фізіологічного розчину. Проводили інкубацію суміші в імунологічних планшетах у термостаті протягом 30 хвилин при t=37°C.

Додавали у лунки імунологічних планшет до всіх проб 0,05 еритроцитів барана (КБ) в стандартній концентрації. Проводили інкубацію 5 хвилин при кімнатній температурі, відразу готували мазки та забарвлювали за Романовським – Гімзою. Рахували відносну кіль-

кість «активних» Е-РУЛ на 100 клітин лімфоїдного ряду в контрольних і дослідних зразках; різниця у відсотку «активних» Т-лімфоцитів в контрольних і дослідних зразках визначає ступінь сенсibilізації організму собак до вірусного антигену. У крові також визначали абсолютний та відносний вміст лімфоцитів та їх субпопуляцій в реакції розеткоутворення з еритроцитами барана (Е тф. р.-РУЛ, Етф.ч-РУЛ), а також інтенсивність фагоцитозу нейтрофілів за здатністю фагоцитувати пекарські дріжджі в перерахунку на 50 клітин. За розеткоутворюючу вважали клітину, яка приєднала три і більше еритроцити. За фагоцитуючий вважався нейтрофіл, який поглинув одну і більше дріжджових клітин.

За рівнем герпесвірусної рецепції «активних» Т-лімфоцитів визначали необхідність проведення противірусної імунокорекції: інверсія до 10% – низька ступінь сенсibilізації. При збільшенні інверсії відсотка «активних» Е-РУЛ в дослідних пробах більше 10% – призначали фармакологічні засоби противірусної дії.

Імунологічні дослідження проводили в лабораторії ветеринарної клініки «Долина» на 48 собаках. Для дослідження підбирали тварин, які мали хронічні ураження шкіри, що характеризувалися зональними алопеціями, депігментацією, свербжею, висипами та періодично виникаючими рецидивуючими екземами шкіри. У дослідних тварин було диференціально виключено паразитарні захворювання. Тварин після проведення імунологічних досліджень розділили на три групи: перша група (рівень сенсibilізації до 10%) – на фоні симптоматичного лікування призначена противірусна імунокорекція; друга група (рівень сенсibilізації більше 10%) – симптоматичне лікування без призначення противірусної імунокорекції; третя група (рівень сенсibilізації більше 10%) – на фоні симптоматичного лікування призначена противірусна імунокорекція. З метою імунокорекції використовувався препарат «Неовір – 12,5%» з діючою речовиною Oxodihydroacridinylacetate sodium з розрахунку 10 мг на кг живої ваги внутрішньом'язево один раз на 48 години, всього п'ять ін'єкцій. За тваринами спостерігали протягом 6 місяців на предмет необхідності продовження та повторення курсів імунокорекції.

Результати досліджень та їх обговорення.

Імунологічні результати дослідження представлені у таблиці 1. Оцінка показників показала, що у тварин з високою сенсibiliзацією (% інверсії більше 10) абсолютна кількість лейкоцитів більше на $1,96 \cdot 10^9$ літ ніж у тварин другої групи (% інверсії менше 10).

Абсолютна кількість лімфоцитів та їх субпопуляцій теж була вищою у тварин першої групи, в основному за рахунок Т-лімфоцитів в той час як абсолютна кількість В-лімфоцитів навпаки дещо вища у тварин другої групи. Що стосується фагоцитарної активності нейтрофілів, то вона у собак першої групи у 1,44 рази більша ніж у тварин другої групи. Слід відмітити, що зниження імунорегуляторного індексу (ІРІ) відбувається за рахунок підвищення абсолютної кількості Т-супресорних клітин, тобто пригнічення клітинної імунної відповіді, а одночасне збільшення у цих тварин В-лімфоцитів, можливо, є компенсаторним механізмом. У собак з високим ІРІ відмічається висока кількість Т-хелперних клітин і одночасне збільшення фагоцитарної активності нейтрофілів тобто переважає клітинна імунна відповідь.

Аналіз показників таблиці 2 показав, що

тривалість терапевтичного курсу у тварин з низьким ступенем сенсibiliзації (до 10%) – перша група; та тварин з високим ступенем сенсibiliзації (більше 10%) – друга група, без додаткового застосування протівірусних препаратів, була майже однаковою. Проте, у тварин третьої групи, яким під час симптоматичного лікування додатково призначали протівірусний препарат, період протягом якого зникли симптоми ураження шкіри був вдвічі коротше.

Спостереження за дослідними тваринами протягом 6 місяців показали, що 70% тварин перших двох груп потребували повторення терапевтичних курсів в той час як в третій групі лише 20% собак.

Оцінка цих даних свідчить про те, що збільшення сенсibiliзації Т-лімфоцитів до антигенів пов'язане зі збільшенням кількості специфічних поверхневих рецепторів на імунокомпетентних клітинах. Поверхневі рецептори специфічно розпізнають різні молекулярні структури чужорідного, що контактують з клітиною або проникають до неї. Ця система рецепторів через сигнальні провідні шляхи до ядра клітини активує певні структури ДНК,

Таблиця 1. Абсолютна кількість лейкоцитів, лімфоцитів, їх субпопуляцій та рівень фагоцитозу нейтрофілів залежно від рівня сенсibiliзації до герпетичного антигена та з врахуванням показника імунорегуляторного індексу

Показники	Групи тварин			
	Рівень сенсibiliзації до герпетичного антигену до 10%	Рівень сенсibiliзації до герпетичного антигену вище 10% за різних показників імунорегуляторного індексу		
		Показник імунорегуляторного індексу =2,5	Показник імунорегуляторного індексу =2,5-3,5	Показник імунорегуляторного індексу =3,5
Лейкоцити, $\cdot 10^9$ літ	8,24±2,34	7,96±3,01	6,68±2,69	9,3±2,30
Лімфоцити, $\cdot 10^9$ літ	2,11±0,49	2,01±0,31	1,66±0,36	2,03±0,42
Т-лімфоцити, $\cdot 10^9$ літ	1,72±0,36	1,65±0,271	1,31±0,253	1,58±0,229
Т-хелпері/індуктори, $\cdot 10^9$ літ	1,292±0,26	0,98±0,142**	0,937±0,218	1,35±0,20
Т-супресори/цитотоксичні, $\cdot 10^9$ літ	0,430±0,10	0,67±0,168*	0,373±0,078	0,237±0,046
В-лімфоцити, $\cdot 10^9$ літ	0,165±0,065	0,205±0,043	0,172±0,06	0,169±0,058
Імунорегуляторний індекс, Тх\Тс	3,06±0,5	1,5±0,33	2,56±0,65	5,76±1,13
ЕК-клітини, $\cdot 10^9$ літ	0,207±0,07	0,188±0,051	0,143±0,043	0,19±0,066
Фагоцитоз нейтрофілів, $\cdot 10^9$ літ	4,688±0,94	3,95±1,11	3,23±0,97	4,68±1,02

Примітка. У цій таблиці статистично вірогідні різниці стосовно до тварин групи з імунорегулятором індексом 2,5-3,5: * — $p < 0,01$; ** — $p < 0,001$

Таблиця 2. Тривалість імунотерапії за різного рівня сенсibiliзації «активних» Т-лімфоцитів до герпетичного антигена

Групи тварин (відсоток інверсії)	Кількість тварин у групі, гол.	Середня тривалість курсу імунотерапії, днів	Повторення курсів протягом 6 місяців, гол/%
До 10 %, з використанням противірусного препарату	16	20,7±1,97	11\69
Вище 10 % без використання противірусного препарату	18	24,3±1,13	13\72
Вище 10 % з використанням противірусного препарату	14	12±1,87	3\21

що призводить до продукції цитокінів [6].

Таким чином, проведені дослідження вказують на те, що оцінка сенсibiliзації «активних» Т-лімфоцитів на герпетичний антиген надає можливість корегувати терапевтичні заходи і обґрунтовувати призначення фармакологічних засобів противірусної дії. Показники імунотерапії у собак за різного імунорегуляторного індексу мають бути враховані при різноманітних клінічних станах у клініці дрібних хатніх тварин.

Висновки. 1. При зменшенні показника імунорегуляторного індексу (ІРІ) у собак з рівнем аутосенсibiliзації вище 10% відмічається збі-

льшення Т-супресорних лімфоцитів, у той час як збільшення ІРІ, відбувається за рахунок превалювання Т-хелперних лімфоцитів.

2. Встановлено, що застосування фармакологічних засобів противірусної та імунотропної дії під час імунотерапії тваринам зі ступенем аутосенсibiliзації до герпетичного антигену вище 10% – значно знижує тривалість курсу імунотерапії та кратність рецидивів.

Перспектива подальших досліджень. Вивчення кореляції між аутосенсibiliзацією «активних» Т-лімфоцитів до герпетичного антигену і титром специфічних протигерпетичних антитіл у крові тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Canvright E.J. Paramyxoviruses and Paget's disease / E.J. Canvright, M.T. Gordon, A.J. Freemont, D.C. Anderson, P.T. Sharpe // Journal Medical Virology.—2003.—№ 40.—р. 133—141.
2. Вирусные болезни животных / [Сюрин В.Н., Самуйленко А.Я., Соловьев Б.В., Фомина Н.В.]—Москва: ВНИТИБП, 1998.—928 с.
3. Неонатальные вирусные инфекции щенков. Герпесвирусная инфекция собак. [<http://kissmekiss.ucoz.ru/forum/58-573-1>]
4. Козлова В.И. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гонимых / В.И. Козлова, А.Ф. Пухнер.— Москва, 1993.—190с.
5. Клиническая иммунология / [Гришина Т.И., Кузьменко Л.Г., Матвеев Н.В. и др.]; под ред. Е.И. Соколова.—М.: Медицина, 2012.—272 с.
6. Лебедев К.А. Иммунология образраспознающих рецепторов: Интегральная иммунология / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина.—М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2013.—256 с.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ИММУНОКОРРЕКЦИИ У СОБАК НА ОСНОВАНИИ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ «АКТИВНЫХ» Т-ЛИМФОЦИТОВ К АНТИГЕНУ ВИРУСА ГЕРПЕСА

Брошков М.М.

Одесский государственный аграрный университет, г. Одесса

Проведена оценка показателей иммунограмм собак в зависимости от уровня сенсibiliзации «активных» Т-лимфоцитов к антигену вируса герпеса с учетом иммунорегуляторного индекса (ИРИ), а также проанализирована целесообразность проведения противовирусной иммунокор-

рекции при различных показателях процента инверсии.

В опыт подбирали животных с хроническими повреждениями кожи, характеризующиеся зональными алопециями, депигментацией, зудом, высыпаниями и периодически возникающими рецидивирующими экземами кожи. У опытных животных дифференциально исключили паразитарные заболевания.

Животных после проведения иммунологических исследований разделили на три группы: первая группа (уровень сенсибилизации до 10%) – на фоне симптоматического лечения назначена противовирусная иммунокоррекция; вторая группа (уровень сенсибилизации более 10%) – симптоматическое лечение без назначения противовирусной иммунокоррекции; третья группа (уровень сенсибилизации более 10%) – симптоматическое лечение с назначением противовирусной иммунокоррекции. С целью иммунокоррекции использовался препарат «Неовир-12,5%» с действующим веществом Oxodihydroacridinylacetate sodium из расчета 10 мг на кг живого веса внутримышечно один раз в 48 часов всего 5 инъекций. За животными вели наблюдения на протяжении 6 месяцев на предмет необходимости продолжения или повтора курсов иммунокоррекции.

По уровню герпесвирусной рецепции Т-«активных» лимфоцитов определяли необходимость проведения противовирусной иммунокоррекции: инверсия до 10% – низкая степень сенсибилизации. При увеличении процента инверсии «активных» Э-РОЛ в опытных пробах более 10% – назначали противовирусные фармакологические средства.

Установлено, что дополнительное назначение противовирусных фармакологических средств собакам с процентом инверсии выше 10 вдвое снижает продолжительность иммунокоррекции и втрое уменьшает возможность повторного клинического проявления дисфункции иммунной системы.

Оценка абсолютного количества лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций при различном значении иммунорегуляторного индекса показала, что при снижении ИРИ повышается количество Т-супрессорных клеток и В-лимфоцитов а при увеличении ИРИ повышается абсолютное количество Т-лимфоцитов клеток

Иммунорегуляторный индекс, Т-хелперные клетки, лейкоциты, процент инверсии, герпесвирусный антиген

ANTIVIRAL EFFECTIVENESS OF IMMUNOTHERAPY IN DOGS UNDER EVALUATION OF "ACTIVE" T-LYMPHOCYTES SENSITIZATION TO HERPETIC ANTIGEN

M. Broshkov

Odesa State Agrarian University, Odesa

It was conducted the evaluation of dogs immunogram depending on the level of "active" T-lymphocytes sensitization to herpetic antigen taking into account the immunoregulatory index (IRI) and it was analyzed the expediency of carrying out antiviral immunocorrection parameters at different percentage of inversion. Animals which had chronic skin lesions, characterized zonary alopecia, unpigmentation, pruritus, rash and recurrent skin's eczema were selected in the experiment. Parasitic diseases were differentially excluded in experimental animals. After immunological studies animals were divided into three groups: the first group (the level of sensitization up to 10%) –antiviral immunocorrection was appointed with symptomatic treatment; the second group (level of sensitization more than 10%) – it was appointed symptomatic treatment without antiviral immunocorrection; the third group (level of sensitization more than 10%) - antiviral immunocorrection was appointed with symptomatic treatment. With the immunocorrection purpose the drug "Neovir - 12.5%" with active ingredient of Oxodihydroacridinylacetate sodium was used at 10 mg per kg body weight intramuscularly every 48 hours and five injec-

tions totally. The animals were observed for 6 months in terms of the immunocorrection necessity.

By the level of herpes viral "active" T-lymphocytes reception it was determined the need of antiviral immunocorrection: inversion up to 10% - low level of sensitization. With increased percentage of inversion "active" E-RUL in test samples more than 10% -it was prescribed pharmacological agents of antiviral activity.

It had been established that additionally appointment of antiviral pharmacological preparations for dogs with percentage of inversion more than 10% reduced twice the duration of immunocorrection and in three times reduced the ability of repeated clinical manifestations of immune system's dysfunction.

The estimation of the absolute number of leukocytes, lymphocytes and their subpopulations at different immunoregulatory index showed that when IRI is being decreased the number of T-suppressor cells and B lymphocytes is increasing and when IRI is being increased the absolute number of T-helper cells is increasing

Immunoregulatory index, T-helper cells, leukocytes, the percentage of inversion, herpes antigen
