

ГЕМАТОЛОГІЧНИЙ ПРОФІЛЬ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКСИДАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА ЗА ДІЇ ЛІПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ

***М. І. ХАРІВ, аспірант кафедри біотехнології та радіології,
Б. В. ГУТИЙ, доктор ветеринарних наук,
професор кафедри фармакології та токсикології,
І. І. ХАРІВ, кандидат біологічних наук,
доцент кафедри фармакології та токсикології
Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького
E-mail: bvh@ukr.net***

Анотація. У статті наведено результати досліджень впливу розробленого комплексного ліпосомального препарату на показники гематологічного профілю крові щурів за умов змодельованого оксидативного стресу, спричиненого застосуванням тетрахлорметану. Доведено, що внутрішньом'язова ін'єкція щурам дослідних груп 50%-го олійного розчину тетрахлоретану у дозі 0,25мл на 100г маси тіла тварини зумовлює антигенне навантаження на організм і призводить до порушення фізіологічного рівня гематологічних показників організму дослідних тварин. На це вказує зменшення кількості еритроцитів, умісту гемоглобіну, концентрації гемоглобіну в еритроциті, збільшення кількості лейкоцитів, маси гемоглобіну в еритроциті, збільшення кольорового показника та зміна лейкограми.

Для нормалізації гематологічних показників організму щурів за розвитку оксидативного стресу доцільно застосовувати ліпосомальний препарат, який містить бутафосфан, інтерферон, розторопшу пляmistу та вітаміни. У разі застосування ліпосомального препарату щурам за умов оксидативного стресу у крові настає нормалізація гематологічних показників, а саме на 14-у добу показники кількості еритроцитів, умісту гемоглобіну, кількості лейкоцитів, індексів червоної крові та лейкограми передують у межах фізіологічних величин порівняно з контролем, що вказує на відновлення гемопоетичної функції кісткового мозку.

Ключові слова: щурі, кров, лейкограма, тетрахлорметан, печінка, бутафосфан, інтерферон, розторопша пляmistа, вітаміни.

Актуальність. Розроблення методів інтегральної корекції оксидативного стану в організмі тварин за дії різних чинників ризику є важливим фактором у процесі створення біобезпечних і

високоєфективних препаратів парентерального та перорального призначення. Для підвищення адаптаційної здатності й імунобіологічної реактивності організму, посилення протеїнсинтезувальної та ензимної функції тварин в останні роки з успіхом використовують нові комплексні препарати [2, с. 10; 5, с. 29; 6, с. 93]. Окремими авторами встановлено стимулювальний вплив бутафосфану, розторопші, вітамінів на активність захисних систем організму та гепатопротекторної дії у тварин [7, с. 154]. Однак метаболічна дія цих препаратів на функцію печінки та гематологічні показники на сьогодні в науковій літературі висвітлена недостатньо. Тому є доцільним дослідження впливу комплексного ліпосомального препарату, до складу якого входять бутафосфан, інтерферон, розторопша та вітаміни, на формування імунітету і забезпечення високої природної резистентності у тварин, їхнього впливу на функцію печінки, кровотворної функції кісткового мозку, позитивного впливу на обмін речовин в їхньому організмі, підвищення росту і збереженості поголів'я.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Оксидаційний стрес був вперше визначений як порушення рівноваги між прооксидантами і антиоксидантами на користь перших [11, с. 12]. Протягом останніх десяти років дослідники визначили роль оксидаційного стресу за різних токсичних уражень печінки. З літературних джерел відомо, що надлишкове накопичення продуктів ПОЛ спричинює набряк мітохондрій, роз'єднання процесів дихання й окисного фосфорилування, ушкодження сульфгідрильних груп тіолових ферментів [10, с. 225]. Фактори, що спричинюють оксидаційний стрес, – порушення окисно-відновної рівноваги в бік окиснення й утворення вторинних вільних радикалів. До патологічних порушень гомеостазу, які призводять до оксидаційного стресу відносять, зокрема, зміну гомеостазу внаслідок дії патологічних чинників; зміну гомеостазу внаслідок порушення генетичної інформації; дефект регульовальної системи або органу-мішені [9, с. 357]. За дії патологічного чинника відбувається зміна інтенсивності перекисного окиснення ліпідів, накопичення в крові концентрації продуктів вільнорадикального окиснення й активних форм кисню, зниження буферної ємності крові відносно підтримування оптимальних параметрів інтенсивності вільнорадикальних реакцій. Деякі автори [4, с. 128; 10, с. 225] зазначають, що токсична дія тетрахлорметану на печінку також супроводжується порушенням гемопоетичної функції кісткового мозку, що характеризується зміною морфологічних показників крові. Згідно з літературними даними зміна морфологічних показників крові тісно пов'язана із порушенням еритропоетичної функції кісткового мозку [5, с. 29; 7, с. 154]. У проведених дослідках встановлено, що у тварин у разі інтоксикації тетрахлорметаном настає пригнічення кровотворної функції кісткового мозку. На це вказує зменшення кількості еритроцитів і зниження вмісту гемоглобіну крові. Після зменшення кількості

еритроцитів і зниження рівня гемоглобіну крові настає тканинна гіпоксія, внаслідок чого сповільнюються оксигенувально-відновні процеси і погіршується обмін речовин у тканинах організму.

Метою наших досліджень було вивчити гематологічний профіль крові щурів за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводили на молодих білих лабораторних щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 180-200г, яких утримували у стандартних умовах інститутського віварію Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок. Протягом усього експерименту щурів утримували на збалансованому раціоні, що містив усі необхідні компоненти, питну воду тварини отримували без обмежень із скляних поїлок об'ємом 0,2л.

Було сформовано три групи щурів по 20 тварин у кожній. Щурам першої і другої дослідних груп групи для отримання оксидативного стресу на першу і третю добу досліджень вводили внутрішньом'язово 50% тетрахлорметан у дозі 0,25мл на 100г маси тіла тварини, яку визначали їх щоденним зважуванням, що дозволило чітко дотримуватися досліджуваної дози препарату протягом усього експерименту. Тварини контрольної групи отримували аналогічний об'єм води для ін'єкцій. Теоретично можливий вплив води на аналізовані геметологічні та біохімічні показники був однаковим як на дослідні, так і на контрольну групу тварин. Другій дослідній групі тварин на першу і третю доби досліджень за годину після введення тетрахлоретану додатково вводили ліпосомальний препарат 2мл на тварину. До складу цього препарату входять такі речовини: бутафосфан, інтерферон, розторопша ін'єкційна та вітаміни А, Е і Д₃. Кров для біохімічних і гематологічних досліджень забирали під ефірним наркозом з яремної вени на другу, п'яту, десятую та п'ятнадцяту доби експерименту.

Утримання, годівлю, догляд та усі маніпуляції з тваринами здійснювали згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.) і «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.). Експерименти проводили з дотриманням принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти [8].

Кількість еритроцитів і лейкоцитів підраховували на сітці Горяєва лічильної камери за загальноновизнаною методикою. Рівень гемоглобіну крові визначали ціангемоглобіновим методом з використанням ФЕК-М за методом Г.В. Дервіза і А.Г. Воробйова. Величину гематокриту визначали центрифугуванням крові у мікропіпетках за 3000об/хв. За

показниками кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну крові і величиною гематокриту за відповідними формулами обчислювали такі величини індексів червоної крові: середній об'єм одного еритроцита (MCV), середня маса гемоглобіну в еритроциті (MCH), середня концентрація гемоглобіну в еритроциті (MCHC), колірний показник (КП), лейкограма крові [8].

Аналізували результати досліджень за допомогою пакета програм Statistica 6.0. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Результати вважали вірогідними за $P \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати досліджень гематологічних показників організму щурів за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату наведено в таблиці 1. Установлено, що після розвитку оксидативного стресу у щурів, спричиненого введенням тетрахлорметану (дослідна група 1), ці показники відрізнялися від показників контрольної групи тварин. Це зумовлено негативним впливом тетрахлорметану на еритропоетичну функцію кісткового мозку.

Нами встановлено на 2-у добу досліду в першій дослідній групі тварин (Д₁), яким вводили внутрішньом'язово тетрахлорметан, зменшення кількості еритроцитів у крові до $4,35 \pm 0,12$ Т/л проти $6,45 \pm 0,15$ Т/л у клінічно здорових, що на 48,3% менше ($P < 0,001$). Рівень гемоглобіну крові з $149,65 \pm 1,58$ г/л знизився до $119,36 \pm 2,25$ г/л, що на 25,4% менше ($p < 0,025$), ніж у клінічно здорових тварин. Відомо, що рівень гемоглобіну перебуває у прямій залежності від кількості еритроцитів. Проте, як видно з даних таблиці, за оксидативного стресу у щурів кількість еритроцитів зменшилася на 48,3%, а рівень гемоглобіну крові знизився на 25,4%. Це зумовлено гемолізом еритроцитів під дією тетрахлорметану. Зменшення кількості еритроцитів і гемоглобіну у крові щурів за оксидативного стресу вказує на пригнічення гемопоетичної функції кісткового мозку внаслідок дії тетрахлорметану.

Непропорційне зменшення кількості еритроцитів і зниження рівня гемоглобіну крові виникає через те, що внаслідок зменшення загальної кількості еритроцитів у кров'яне русло проникають молоді еритроцити з великим об'ємом, а тому і з більшою масою гемоглобіну, порівняно із старими еритроцитами з меншим об'ємом. Проте концентрація гемоглобіну в молодих еритроцитах менша, ніж у старих.

На основі показників кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну крові і величини гематокриту не можна об'єктивно оцінити гемопоетичну функцію кісткового мозку. Для цього визначають величини індексів червоної крові: середній об'єм одного еритроцита (MCV), збільшення величини якого (макроцитоз) є показником помірного еритроцитозу. Середня маса гемоглобіну в еритроциті (MCH) буває високою за гемолітичної та мієлотоксичної анемії.

Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті (МСНС) зростає після гіперхромної анемії та зменшується в разі виникнення залізодефіцитної анемії. Збільшення його величини вказує на наявність у крові молодих еритроцитів із високим вмістом гемоглобіну, а зменшення – на наявність старих еритроцитів із низьким вмістом гемоглобіну.

Установлено, що за оксидативного стресу в одному еритроциті середня маса гемоглобіну на 20,8% більша, а його середня концентрація на 25,0% менша порівняно з клінічно здоровими тваринами. Така невідповідність між масою і концентрацією гемоглобіну в одному еритроциті зумовлена тим, що у крові наявні молоді еритроцити, середній об'єм яких більший за нормальні величини. Зокрема, у клінічно здорових тварин середній об'єм одного еритроцита становив $43,7 \pm 1,16 \text{ мкм}^3$, а у хворих за оксидативного стресу – $75,4 \pm 1,23 \text{ мкм}^3$, що на 72% більше.

Наявність у хворих щурів молодих формених елементів крові з великою масою гемоглобіну спричинила зміни величини колірного показника. У клінічно здорових тварин він становив $0,69 \pm 0,04 \text{ од.}$, а за оксидативного стресу – $0,96 \pm 0,05 \text{ од.}$ ($p < 0,025$).

Досить високою на другу добу досліджень за оксидативного стресу була кількість лейкоцитів крові щурів першої дослідної групи, яка становила $15,88 \pm 0,82$ проти $9,38 \pm 0,85$ ($p < 0,025$), що вказує на наявність запальних процесів в організмі тварин.

Збільшення величини гематокриту з $28,2 \pm 0,76 \text{ об/\%}$ до $32,8 \pm 0,06 \text{ об/\%}$ ($p < 0,05$), певно, пов'язане із зневодненням організму і згущенням крові внаслідок негативної дії тетрахлорметану на організм щурів.

Варто зазначити, що на п'яту і десяту добу досліджень гематологічні показники крові щурів у першої дослідної групи, яким вводили тетрахлоретан, незначно змінювались і залишались вищими від показників контрольної групи тварин.

На 14-у добу наших досліджень у першій дослідній групі щурів кількість еритроцитів становила $4,32 \pm 0,095 \text{ Т/л}$ проти $6,45 \pm 0,152 \text{ Т/л}$, що на 49% менше від показників контрольної групи тварин ($p < 0,001$). А рівень гемоглобіну на цей період у щурів за умов оксидативного стресу становив $137,97 \pm 1,445 \text{ Г/л}$ проти $149,65 \pm 1,580 \text{ Г/л}$, що на 9% вище від контрольних показників ($p < 0,025$). На 14-у добу досліджень у першій дослідній групі досить високими залишались деякі показники, а саме: кількість лейкоцитів була вищою на 67%, величина гематокриту на 18,4%, об'єм еритроцита на 67,1%, маса гемоглобіну на 37,6%, колірний показник на 37,6%, проте концентрація гемоглобіну була нижчою на 32,3% від показників контрольної групи тварин, що вказує на пригнічення еритропоетичної функції кісткового мозку на цей період досліджень.

Як встановлено в наших дослідках і в дослідках інших авторів, еритроцити мали значно більшу масу гемоглобіну внаслідок збільшення середнього об'єму одного еритроцита. Проте середня концентрація гемоглобіну в такому еритроциті була менша за нормальну, що призводить до гіпохромії. Це компенсаторна реакція організму, що настає внаслідок розвитку гіпоксії тканин, спричинена зменшенням загальної кількості еритроцитів. Вона спрямована на встановлення оптимального рівня гемоглобіну для повного використання його функціональних можливостей. Відомо, що за меншої концентрації гемоглобіну в еритроциті його здатність зв'язувати кисень відносно вища, що має позитивне значення в забезпеченні транспортування до тканин кисню.

За умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату у щурів другої дослідної групи (Д₂) нами встановлено нормалізацію гематологічних показників протягом досліджень. А саме, на п'яту і десятю добу досліджень встановлено вірогідне зростання кількості еритроцитів відповідно до $5,91 \pm 0,129$ Т/лі $5,59 \pm 0,124$ Т/л, проте цей показник на зазначений період досліджень був ще низьким відповідно на 17,1% і 14,3% порівняно із таким показником контрольної групи тварин. На п'яту і десятю добу досліджень нами було встановлено і зростання рівня гемоглобіну відповідно до $151,49 \pm 1,806$ Г/л і $147,26 \pm 1,60$ Г/л. Варто зазначити, що на десятю добу досліджень показник рівня гемоглобіну уже перебував у межах контрольних величин, що вказує на поступову нормалізацію гемопоетичної функції кісткового мозку за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату.

Відновлення гемопоетичної функції кісткового мозку у щурів в разі застосування ліпосомального препарату відбувається тим через те, що до складу препарату входить розторопша плямиста. А з літературних джерел відомо, що, по-перше, плоди містять високий рівень вітамінів А і К і мікроелементів – Кобальту, Купруму, Феруму, що беруть безпосередню участь у процесах гемопоезу. По-друге, плоди розторопші містять флаволідан силімарин. Його гепатопротекторна дія та підвищення дезінтоксикаційної функції печінки зменшують або унеможливають подразнювальну дію токсинів, які надходять в організм тварин.

Варто зазначити, що на п'яту і десятю добу наших досліджень за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату настає відновлення і кількості лейкоцитів до показників контрольної групи тварин. Проте цей показник був ще досить високим, а саме на п'яту добу на 58,5%, десятю добу на 27,9% вище від показників контрольної групи тварин.

На десятю добу досліджень за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату гемопоетична функція кісткового мозку відновилася неповністю. Хоча на цей період часу в межах фізіологічних величин були величина гематокриту, маса гемоглобіну і

концентрація гемоглобіну. Проте великий середній об'єм одного еритроцита $51,20 \pm 1,19 \text{ мкм}^3$ проти $43,7 \pm 1,16 \text{ мкм}^3$ вказує на неповне відновлення гемопоетичної функції кісткового мозку.

На чотирнадцяту добу досліджень за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату у щурів другої дослідної групи спостерігалася нормалізація показників кількості еритроцитів, лейкоцитів і вмісту гемоглобіну. У межах нормальних величин були величини індексів червоної крові. Це вказує на те, що гемопоетична функція кісткового мозку повністю відновлюється на 14-у добу досліджень.

Поряд із дослідженням величин показників червоної крові, що характеризують стан гемопоетичної функції кісткового мозку, ми досліджували і показники білої крові, що характеризують функціональний стан мононуклеарної системи. Одним із важливих показників, що характеризує стан мононуклеарної системи фагоцитозу організму, є аналіз співвідношення (у відсотках) між окремими показниками лейкограми.

1. Морфологічні показники крові щурів за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату ($M \pm m$; $n=5$)

Показник	Дослід-на група	Доба досліджень			
		Друга	П'ята	Десята	Чотирнадцята
Еритроцити, Т/л	К	6,45±0,152			
	Д ₁	4,35±0,120***	4,38±0,095***	4,29±0,057**	4,32±0,095*
	Д ₂	5,44±0,106***	5,51±0,129***	*	**
Гемоглобін, Г/л	К	149,65±1,580			
	Д ₁	122,36±2,252*	139,17±2,114*	140,83±0,848	137,97±1,445**
	Д ₂	138,11±1,543*	141,49±1,806*	147,26±1,600	151,31±1,728
Лейкоцити, Г/л	К	9,38±0,851			
	Д ₁	15,88±0,826**	20,75±1,561**	20,00±1,443*	15,67±1,922*
	Д ₂	16,88±1,972**	14,88±1,59**	12,00±1,620	9,86±1,510
Величина гематокриту, об%	К	28,2±0,76			
	Д ₁	32,8±1,38	32,4±1,68	32,6±1,43	33,4±1,58
	Д ₂	31,8±1,28	29,4±1,03	28,6±0,97	28,4±1,05
Об'єм еритроцита, мкм ³	К	43,7±1,16			
	Д ₁	75,4± 1,23***	73,9±1,32***	75,9±1,20***	77,3±1,24**
	Д ₂	58,1± 1,16***	49,7±1,15**	51,2±1,19**	*
Маса гемоглобіну в еритроциті,	К	23,20±1,55			
	Д ₁	28,03±1,35**	31,74±1,34**	32,82±1,36**	31,93±1,40*
	Д ₂	27,23±1,39	28,53±1,50*	26,34±1,50	*

пг					25,73±1,50
Концентрація гемоглобіну в еритроциті, %	К		53,10±1,35		
	Д ₁	42,48±1,41 ^{***}	42,95±1,37 ^{***}	43,19±1,35 ^{***}	41,30±1,40 ^{**}
Колірний показник	Д ₂	43,43±1,39 ^{**}	51,52±1,39	51,49±1,36	53,27±1,38
	К		0,69±0,04		
	Д ₁	0,84±0,05 ^{**}	0,95±0,04 ^{**}	0,98±0,05 ^{**}	0,95±0,05 ^{**}
	Д ₂	0,81±0,04 ^{**}	0,79±0,04 [*]	0,78±0,04 [*]	0,77±0,04

Ступінь вірогідності: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,025$; *** – $p < 0,001$.

Лейкограма – це відображення кількісного складу лейкоцитів периферійної крові. Вони наявні у п'яти видах: паличкоядерні та сегментоядерні нейтрофільні гранулоцити, еозинофільні та базофільні гранулоцити, моноцити й агранулоцити. Основна функція лейкоцитів у цілому, і нейтрофілів зокрема, полягає в захисті організму від токсинів бактеріальної, гельмінтозної та протозойної етіологій. Збільшення кількості нейтрофілів (нейтрофілія) настає за гострих і хронічних інфекційних захворювань, вогнищевих і генералізованих запальних процесів, інтоксикаціях бактеріальними і гельмінтозними токсинами, після виникнення хронічних септичних процесів.

Показником наявності запальних процесів в організмі є лейкоцитоз і еозинофілія. Аналізуючи лейкограму крові, за умов оксидативного стресу у щурів ми встановили еозинофілію, базофілію, зміщення «ядра нейтрофілів» вліво та зменшення відсотка лімфоцитів (табл. 2).

Збільшення кількості еозинофілів – це алергічна реакція мононуклеарної системи фагоцитозу у відповідь на дію патогенних чинників. Еозинофіли нейтралізують гістамін і гістаміноподібні речовини, що проникають у кров із вогнища запалення при розщепленні тканин, що загинули. Еозинофілія відображає інтенсивність запальних процесів, які протікають в організмі тварин. Еозинофіли також беруть участь в біосинтезі антитіл перенесенням антигена на антитілоутворюючі клітини мононуклеарної системи фагоцитозу. Еозинофіли виділяють ряд ензимів, що нейтралізують медіатори запалення клітин, пригнічують розвиток гіперчутливості негайного типу, а також із своїх гранул виділяють біологічно активні речовини – пероксидази, естерази і фосфатази. Нами встановлено, що після розвитку оксидативного стресу у щурів, спричиненого введенням тетрахлорметану, на 2-у добу досліду в першій дослідній групі тварин (Д₁), показник еозинофілів відрізнявся від показника контрольної групи тварин і становив 10,8±0,81% проти 4,8±1,36% у клінічно здорових щурів, що на 25% більше ($p < 0,025$). Це зумовлено негативним впливом тетрахлорметану на мононуклеарну систему фагоцитозу.

На цю добу наших досліджень розвитку оксидативного стресу був досить високим відсоток базофілів, що становив $1,7 \pm 0,38\%$ проти $0,4 \pm 0,24\%$ у клінічно здорових тварин. Базофілія – це також показник алергічної реакції організму на дію токсинів різної етіології.

У щурів першої дослідної групи тварин (D_1), на другу добу досліджень нами встановлено диспропорцію між окремими популяціями нейтрофілів. Зокрема, відсоток паличкоядерних нейтрофілів збільшився до 27%, сегментоядерних зменшився на 28%,. Установлені зміни у відсотках співвідношення між нейтрофілами вказують на зміщення «ядра нейтрофілів» вліво і на наявність молодих формених елементів білої крові, що часто буває за гострих запальних процесів. Нейтрофіли не лише фагоцитують чужорідні речовини, а й секретують сполуки, що регулюють стан імунної системи – простагландини, лейкотрієни, інтерферони, інтерлейкіни, які взаємодіють із гуморальними системами (імуноглобулінами, комплементом, системою фібринолізу, системою згортання крові) і з клітинними системами (макрофагами, фібробластами, лімфоцитами, базофілами, еозинофілами) та системами крові і сполучної тканини, які беруть участь у забезпеченні стабільності гомеостазу в організмі. На даний період часу встановлено також зменшення кількості лімфоцитів на 15% і моноцитів на 19%, що вказує на низький імунний стан організму тварин.

Варто зазначити, що на п'яту і десятю добу досліджень лейкограма крові щурів у першої дослідної групи, яким вводили тетрахлоретан, змінювалась незначно порівняно з показниками другої доби досліджень.

На 14-у добу наших досліджень у першій дослідній групі щурів залишався високим відсоток еозинофілів і становив $7,4 \pm 0,74\%$ проти $4,8 \pm 1,36\%$, що на 54% більше від показників контрольної групи тварин. А відсоток базофілів на даний період у щурів за умов оксидативного стресу становив $0,8 \pm 0,25\%$ проти $0,4 \pm 0,24\%$. Низьким на 14-у добу досліджень у першій дослідній групі був показник лімфоцитів, а саме $47,4 \pm 3,47\%$ проти $51,6 \pm 3,31\%$. На цей період часу нами встановлено незначні зміни між окремими популяціями нейтрофілів. А саме, відсоток паличкоядерних гранулоцитів був вищим і становив $8,1 \pm 0,77\%$ проти $5,2 \pm 0,73\%$ ($p < 0,05$), а відсоток сегментоядерних нейтрофілів перебував у межах фізіологічних величин.

2. Лейкограма крові щурів за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Дослід на група	Доба досліджень			
		Друга	П'ята	Десята	Чотирнадця та
Лейкограма, %					

	К		4,8±1,36		
Еозинофіли	Д ₁	10,8±0,81**	10,1±1,02**	8,7±0,72*	7,4±0,74
	Д ₂	10,7±0,96**	8,6±0,59	5,2±0,66	4,6±0,84
	К		0,4±0,24		
Базофіли	Д ₁	1,7±0,38**	1,4±0,25**	1,1±0,25*	0,8±0,25
	Д ₂	1,5±0,27**	0,9±0,24*	0,5±0,24	0,4±0,22
	К		51,6±3,31		
Лімфоцити	Д ₁	45,1±1,89*	46,2±3,16*	45,9±3,38*	47,4±3,47
	Д ₂	44,6±1,96*	48,1±1,51	50,4±1,96	52,3±2,37
	К		3,8±1,62		
Моноцити	Д ₁	3,2±0,58	3,3±1,01	3,5±1,03	3,4±0,51
	Д ₂	3,5±0,86	3,4±0,71	3,7±1,34	3,8±0,34
Нейтрофіли, %					
	К		3,2±0,73		
Паличко- ядерні	Д ₁	11,8±0,73***	11,1±1,71**	8,7±1,61*	8,1±0,77*
	Д ₂	12,2±0,86***	10,4±0,32**	6,3±0,96	5,3±0,66
	К		28,4±2,08		
Сегменто- ядерні	Д ₁	26,9±2,17*	27,9±1,98*	32,1±1,84	32,9±2,13
	Д ₂	26,8±1,52*	29,1±1,55	33,9±1,09	33,8±1,46

Ступінь вірогідності: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,025$; *** – $p < 0,001$.

За умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату у щурів другої дослідної групи (Д₂) нами встановлено нормалізацію показників лейкограми протягом досліджень. А саме, на п'яту і десяту добу досліджень установлено вірогідне зменшення відсотка еозинофілів відповідно до $7,1 \pm 0,59\%$ і $5,2 \pm 0,66\%$ проти $4,8 \pm 1,36\%$ у клінічно здорових тварин. На п'яту і десяту добу досліджень нами було встановлено і зменшення відсотка базофілів до показників контрольної групи тварин. На цей період часу відзначаємо відновлення до нормальних величин і відсотків між окремими популяціями нейтрофілів.

На чотирнадцяту добу досліджень за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату у щурів другої дослідної групи спостерігалася нормалізація показників лейкограми крові, а саме в межах фізіологічних величин були показники еозинофілів, базофілів, лімфоцитів, моноцитів і нейтрофілів. Це вказує на повне відновлення гемопоетичної функції кісткового мозку, зокрема й відновлення лейкограми крові на 14-у добу досліджень.

Отже, на основі наших досліджень встановлено позитивну дію ліпосомального препарату на організм щурів, інтоксикованих тетрахлорметаном, що ви проявляється у нормалізації гематологічних показників у щурів.

Висновки і перспективи. За умов отруєння щурів тетрахлорметаном порушується гемопоетична функція кісткового мозку, що виявляється у зменшенні кількості еритроцитів на 48,3%, умісту гемоглобіну на 25,4%, у збільшенні кількості лейкоцитів на

15,88±1,97Г/л проти 9,38±0,851Г/л, що на 69,3% вище від контрольних показників, збільшенні маси гемоглобіну в еритроциті на 20,8%, зменшенні концентрації гемоглобіну в еритроциті на 25%, збільшенні об'єму еритроцита на 75,4, ±1,23мкм³ проти 43,7±1,16мкм³, що на 72,5% вище від контрольних показників, та у збільшенні кольорового показника на 39,1%, зміщенні «ядра нейтрофілів» вліво (високий відсоток юних нейтрофілів), збільшенні базофілів, що вказує на подразнення тетрахлорметаном мононуклеарної системи фагоцитозу, в еозинофілії, що вказує на наявність запальних процесів в організмі щурів, та зменшенні кількості лімфоцитів, що вказує на зниження імунної резистентності організму, адже лімфоцити беруть участь у створенні клітинного і гуморального імунітетів.

У разі застосування ліпосомального препарату щурам за умов оксидативного стресу протягом досліджень встановлено, що у крові настає нормалізація активності гематологічних показників, а саме на 14-у добу в межах фізіологічних величин перебували показники кількості еритроцитів, умісту гемоглобіну, кількості лейкоцитів та індекси червоної крові порівняно з контролем. У межах фізіологічних величин була і лейкограма, що вказує на відновлення гемопоетичної функції кісткового мозку.

Перспективою подальших розвідок є дослідження імунного стану у крові щурів за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату.

Список використаних джерел

1. Булгакова О. С. Иммуниет и различные стадии стрессорного воздействия / О. С. Булгакова // Успехи современного естествознания. – 2011. – №4. – С. 31-35.
2. Вишневская Т. Я. Анализ гематологических показателей у кроликов в условиях стресса и его иммунокоррекции // Инновационному развитию АПК и аграрному образованию – научное обеспечение: материалы Всероссийской научн.-практ. конф. В 3-х т. Т. 2 / ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА. – Ижевск: ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2012. – С. 10-15.
3. 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 ред. В. В. Влізла. Львів : Сполом, 2012. 764 с.
4. Волчегорский И. А. Роль иммунной системы в выборе адаптационной стратегии организма / И. А. Волчегорский, И. И. Долгушин, О. Л. Колесников. – Челябинск : Наука, 1998. – 128 с.
5. Грабовський С. Вплив імуномодуляторів природного походження на концентрацію білкових фракцій і рівень кортизолу у плазмі крові щурів за умов стресу / С. Грабовський, О. Грабовська, Д. Остапів // Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна. – 2014. – Вип. 67. – С. 29-34.

6. Грабовський С. С. Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету і рівень кортизолу в крові щурів за умов стресу / Біологічні студії / *Studia Biologica*. – 2014. – Т. 8. – №1. С. 93-102.

7. Харів І. І. Лікування індиків «Ампролінсилом» і бровітакокцидом за еймеріозо-гістомонозної інвазії / І. І. Харів // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарні науки». – 2013. - №49. - С.154-158.

8. Official Journal of the European Union L276/33, 2010. DIRECTIVE 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 86/609/EC. 20.10.2010.

9. Physiological stress in volcano rabbit *Romerolagus diazi* populations inhabiting contrasting zones at the Corredor Biologico Chichinautzin, Mexico / A. Rizo-Aguilar, J. A. Guerrero, A. M. Montoya-Lara, C. Valdespino // *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*. – 2014. – V. 79. – №6. – P. 357-361.

10. Reeder D. M. Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history / D. M. Reeder, K. M. Kramer // *J. Mammal*. – 2005. – V. 86. P. 225-235.

11. Stress Induced Acral Lick Dermatitis in a Domestic Rabbit: A Case Report / M. Srivastava, A. Ahuja, S. Kachhawaha // *Case Reports in Veterinary Medicine*. – 2014. – 12. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/142813>.

References

1. Bulgakova, O. S. (2011). Immunity and the various stages of stress exposure. *The successes of modern science*. 4, 31-35.

2. Vishnevskaja, T. Ja. (2012). An analysis of hematological parameters of rabbits under stress and immune. Innovative development of agribusiness and agricultural education – scientific support: Materials of All-Russian Scientific-Practical Conference. In 3 vol. Izhevsk: *VPO Izhevsk State Agricultural Academy*. 2, 10-15.

3. Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., Ratych, I. B. [et al.]. (2012). Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary. *Reference book*; Edited by V. V. Vlizlo. Lviv: *SPOLOM*, 2012, 764.

4. Volchegorskij, I. A., Dolgushin, I. I., Kolesnikov O. L. (1998). The role of the immune system in the organism adaptation strategy selection. *Cheljabinsk: Nauka*, 128.

5. Grabovskyi, S. S., Grabovska, O. S., Ostapiv, D. D. (2014). Natural origin immunomodulators influence on protein fractions concentration and cortisol level in rats blood at pre-slaughter stress. *Visnyk of Lviv Univ. Biology Series*. 67, 29-34.

6. Grabovskyi, S. S. 2014. Effect of natural immunomodulators influence on cellular immunity indices and cortisol level in rat's blood at pre-slaughter stress. *Studia Biologica*. 8 (1), 93-102.

7. Khariv, I. I. (2013) Likuvannia indykiv «Amprolinsylom» i brovitakoktsydom za eimeriozo-histomonoznoi invazii. Zbirnyk naukovykh prats Luhanskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Seriiia «Veterynarni nauky». 49, 154-158.

8. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union L276/33. 86/609/EC. 20.10.2010.

9. Rizo-Aguilar, A., Guerrero, J. A., Montoya-Lara, A. M., Valdespino, C. (2014). Physiological stress in volcano rabbit *Romerolagus diazi* populations inhabiting contrasting zones at the Corredor Biológico Chichinautzin, Mexico. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*. 79(6), 357-361.

10. Reeder, D. M., Kramer K. M. (2005). Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history. *J. Mammal*. 86:225-235.

11. Srivastava, M., Ahuja, A., Kachhawaha, S., Singh, N. K., Sharma, A., Kachhawa, J. P. (2014). Stress Induced Acral Lick Dermatitis in a Domestic Rabbit: A Case Report. *Case Reports in Veterinary Medicine*. 12. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/142813>

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА

М. И. Харив, Б. В. Гутый, И. И. Харив

Аннотация. В статье приведены результаты исследований влияния разработанного комплексного липосомального препарата на показатели гематологического профиля крови крыс в условиях смоделированного оксидативного стресса, вызванного применением тетрахлорметана. Доказано, что инъекция крысам подопытных групп 50% масляного раствора тетрахлорметана в дозе 0,25 мл на 100 г массы тела животного, вызывает антигенную нагрузку на организм и приводит к нарушению физиологического уровня гематологических показателей организма подопытных животных. На что указывает уменьшение количества эритроцитов, содержания гемоглобина, концентрации гемоглобина в эритроците, увеличение количества лейкоцитов, массы гемоглобина в эритроците, увеличение цветного показателя и изменение лейкограммы.

Для нормализации гематологических показателей организма крыс при развитии оксидативного стресса целесообразно применять липосомальный препарат, который содержит бутафосфан, интерферон, расторопшу пятнистую и витамины. При применении липосомального препарата крысам в условиях оксидативного стресса в крови наступает нормализация гематологических показателей, а именно на 14-ые сутки в пределах физиологических величин были показатели количества эритроцитов, содержания гемоглобина, количества лейкоцитов, индексов красной крови и лейкограммы по сравнению с контролем,

что указывает на восстановление гемопоэтической функции костного мозга.

Ключевые слова: крысы, кровь, лейкограмма, тетрахлорметан, печень, бутафосфан, интерферон, расторопша пятнистая, витамины.

HEMATOLOGICAL PROFILE OF RATS BLOOD UNDER CONDITIONS OF OXIDATIVE STRESS AND FOR THE ACTION OF LIPOSOMAL DRUGS

M. Hariv, B.Gutyj, I.Hariv

Abstract. *The article deals with the results of search due to the influence of developed complex liposomal drug on the indices of hematological parameters of rats blood under conditions of simulated oxidative stress caused by the use of carbon tetrachloride. It is proved that intramuscular injection to rats from the experimental group 50% of oil solution of tetrachloromethane at a dose of 0.25ml per 100g of body weight, causes the antigenic load on the organism and leads to a violation of physiological level of hematological parameters of experimental animals organism. What does the number reduce of red blood cells, hemoglobin, hemoglobin concentration in erythrocytes, increasing the number of white blood cells, hemoglobin mass in erythrocytes, increased color of index and change of leucogram. To normalize the body hematological parameters of rats by the development of oxidative process it is advisable to apply the liposomal drug which in its structure contains butafosfan, interferon, milk thistle and vitamins. When using the liposomal drug to rats, under conditions of oxidative stress, it comes the normalization of hematological indices in blood, that is on the 14th day within physiological magnitude there were indicators of the number of erythrocyte, content of hemoglobin, the number of leukocytes, red blood indices and leucogram compared to controls, indicating the recovery of hematopoietic function of marrow.*

Keywords: *rats, blood, leucogram, carbon tetrachloride, liver, butafosfan, interferon, milk thistle, vitamins.*