

ВИВЧЕННЯ ДИНАМІКИ ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ОРГАНІЗМУ КОТІВ, ХВОРИХ НА ДИСБАКТЕРІОЗ

Бордюгова С. С.

Луганський національний аграрний університет

Метою роботи є встановлення динаміки імунологічних показників організму котів при розвитку та лікуванні дисбактеріозу різними методами. Одержані нами експериментальні дані свідчили про низький імунобіологічний статус котів з симптомами дисбактеріозу. Результати дослідів показали, що ефективним методом лікування тварин із розвинутим дисбактеріозом є розроблений та запропонований препарат «Сорбелакт».

Відомо, що імунобіологічна реактивність організму і нормальний фізіологічний стан травного тракту в багатьох випадках залежить від видового складу мікрофлори кишечника, зміни якого призводять до порушення встановленої рівноваги, внаслідок чого, зокрема, може розвиватись імунодефіцит [1–4].

Найважливішим елементом імунної системи є загальні CD3+ та CD22+ клітини, що здійснюють імунні реакції. Між цими імунокомпетентними клітинами є відповідна кооперативна взаємодія. Загальні Т-лімфоцити беруть участь в реакціях клітинного імунітету. В-лімфоцити, трансформуючись у плазматичні клітини, синтезують антитіла, обумовлюючи гуморальну імунну відповідь і беруть участь у захисті організму від інфекцій та інвазій [5, 6].

Доведено, що CD3+ клітини виникають із кісткомозкових клітин при їх міграції в тимус, де вони диференціюються і перетворюються в імунологічно компетентні антигенреактивні клітини. Довгоживучі циркулюючі Т-клітини, як зберігачі імунологічної пам'яті про антиген, впливають на диференціювання CD22+ клітин, сприяючи їх перетворенню в плазматичні антитілоутворюючі клітини. Ця функція Т-клітин в становленні гуморального імунітету названа «хелперною». Т-лімфоцити виконують й іншу імунологічну функцію, перш за все «кілерну» – руйнування чужорідних клітин в реакціях клітинного імунітету. Існують також популяції Т-клітин супресорів (CD8+ клітини), функція яких пов'язана із блокуванням антитілоутворення В-лімфоцитами [1–4].

Беручи до уваги той факт, що шлунково-кишкові захворювання займають одне з провідних місць серед усіх захворювань дрібних тварин, ми вважаємо за потрібне більш ретельно вивчити кишкові дисбактеріози у котів. Слід зазначити, що дана патологія не враховується фахівцями ветеринарної медицини при проведенні диференційної діагностики захворювань, які супроводжуються розладами шлунково-кишкового тракту. Поставлена проблема є досить актуальним напрямком наукових досліджень, однак у доступній літературі ми не виявили даних щодо впливу кишкового дисбактеріозу в котів на функціонування імунокомпетентних органів.

Метою роботи було вивчення динаміки імунологічних показників резистентності організму котів у процесі розвитку та лікування дисбак-

теріозу шлунково-кишкового тракту. Вивчення стану імунобіологічної реактивності пацієнтів проводили за показниками CD3+, CD4+, CD8+ та CD22+клітин, співвідношенням CD4+/CD8+ (імуnoreгуляторний індекс) та за вмістом циркулюючих імунних комплексів (ЦІК).

Матеріали та методи. Дослідження проводили на базі міжкафедральної лабораторії кафедри педіатрії з інфекційними хворобами та дитячої хірургії Луганського державного медичного університету.

Об'єктом дослідження були коти, віком від чотирьох місяців до 12 років з ознаками дисбактеріозу. Для випробувань було сформовано три групи тварин. До першої групи входило 7 котів, віком від чотирьох місяців до п'яти років, яких лікували за наступною методикою: використання пробіотичного препарату «Ветом 1.1» за схемою — 5 разів на добу в дозі 50 мг/кг маси тіла тварин протягом 7-10 діб.

До другої групи входило вісім тварин, віком від 7 місяців до 8 років, яких лікували комплексним пробіотично-сорбційним препаратом для корекції дисбіотичних порушень у дрібних тварин «Сорбелакт». Схема застосування: по 1 г/гол. (1 доза — 5 млрд. мікробних тіл). Один раз на добу під час, або після їжі протягом 7 днів. У випадку постановки четвертого ступеня дисбактеріозу курс прийому препарату продовжували до 14 діб.

До третьої групи тварин входило 6 котів, віком від 8 місяців до 12 років, яких лікували лише активованим вугіллям (по 1 таб. 2–3 рази на добу протягом 14-21 доби).

З метою з'ясування впливу дисбактеріозу на імунну систему котів відбирали проби крові для імунологічних досліджень на початку лікування (перша доба) та протягом 21 доби з інтервалом у 7 діб.

Для дослідження імунологічних показників крові проводили визначення кількості Т-, В-лімфоцитів, Т-хелперів/індукторів, Т-супресорів/кілерів у цитотоксичному тесті з моноклональними антитілами класів CD3+, CD4+, CD8+ і CD22+ (виробник Ortho Diagnostic Systems Inc., USA) за опублікованими методиками [6, 7].

Загальний рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та їх фракційний склад (великі, середні та дрібні) визначали методом преципітації за молекулярною масою в розчині поліетилєнгліколю з молекулярною масою 6000 Дальтон [8–10].

Середньарифметичну (М), середньоквадратичну помилку (m), достовірність середньоквадратичної помилки (P_m), достовірність різниці (Р) обчислювали за допомогою комп'ютерної програми Statistica 6.0 [11].

Результати роботи. Одержані нами експериментальні дані свідчили про низький імунобіологічний статус котів з симптомами дисбактеріозу. У тварин усіх дослідних груп був суттєво нижчий рівень CD3+ та CD4+ клітин, кількість О-клітин збільшена на 10 %, що вказує на диференційні зміни процесів імунопоезу (імунний дисбаланс) і характеризує низьку функціональну активність Т-лімфоцитів внаслідок депресії рецепторів CD3+ клітин (таблиця 1). Даний факт свідчить про формування у тварин супресорного варіанту імунodefіцитного стану.

Таблиця 1 – Показники клітинної ланки імунітету котів, хворих на дисбактеріоз, $\frac{M \pm m}{Pm}$

Групи тварин		Показники										
		CD3+:		О лімфоцити		CD4+:		CD8+:			CD4+/ CD8+	
		абс., з/л	%	абс., з/л	%	абс., з/л	%	абс., з/л	%			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Долікування	I n=7	0,4±0,08 (++)	23,4±1,8 (++)	1,3±0,35 (-)	63,9±2,4 (-)	0,2±0,03 (+)	11±0,9 (-)	0,22±0,04 (+++)	12,3±1,0 (++)	0,9±0,04 (-)		
	II n=8	0,5±0,06 (+)	24±2,4 (++)	1,3±0,15 (++)	65±2,2 (-)	0,2±0,02 (+)	9,8±0,8 (-)	0,26±0,04 (+++)	14,4±1,6 (-)	0,7±0,05 (-)		
	III n=6	0,6±0,1 (+)	22,2±2,0 (+)	1,8±0,3 (+)	63,3±2,3 (+++)	0,25±0,04 (-)	9,2±0,5 (+)	0,34±0,07 (-)	13±1,8 (+++)	0,8±0,08 (+++)		
7 доба	I n=7	0,7±0,07 (++)	28,7±1,7 (++)	1,4±0,08 (++)	57,7±2,4 (++)	0,43±0,05 (+)	17,6±1,6 (++)	0,26±0,02 (+)	11,1±0,7 (+)	1,6±0,2 (+++)		
	II n=8	0,7±0,05 (+++)	34,6±0,6 (++)	1,0±0,09 (+)	51,5±1,2 (+++)	0,46±0,04 (+)	23,8±0,7 (++)	0,2±0,02 (-)	10,7±0,5 (+)	2,3±0,2 (++)		
	III n=6	0,9±0,1 (+)	23,2±1,9 (-)	2,5±0,3 (+++)	62,8±2,7 (++)	0,45±0,06 (+)	11,3±1,3 (++)	0,5±0,1 (+)	11,8±1,5 (+)	1,0±0,1 (+++)		

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
14 доба	I n=7	1,0±0,08 (++) ^{ΔΔΔ}	32,3±0,7 (+) ^{ΔΔ}	1,7±0,15 (++) ^{ΔΔΔ}	53,7±1,0 (+) ^{ΔΔΔ}	0,7±0,05 (++) ^{ΔΔΔ}	21,8±0,6 (+++)	0,3±0,03 (+) ^{ΔΔ}	10,3±0,4 (+++) ^{ΔΔ}	2,1±0,1 (+)
	II n=8	0,6±0,06 (+++)	35,4±0,5 (+++)	0,9±0,08 (+)	49,5±0,7 (++)	0,4±0,04 (-)	23,2±0,7 (+)	0,2±0,02 (+)	12,1±0,4 (+++)	1,9±0,1 (+)
	III n=9	1,3±0,2 (+) [*]	36,7±1,5 (-) ^{**}	2,9±0,3 (+++) ^{**}	51,2±2,6 (++) ^{**}	0,7±0,08 (+++)	15±1,4 (-) ^{**}	0,5±0,04 (+) ^{**}	11,4±0,7 (+++)	1,35±0,2 (+)
21 доба	I n=7	0,6±0,03 (++) ^{ααα}	33,7±0,8 (+++)	0,9±0,04 (++) ^{ααα}	50,7±0,9 (++)	0,4±0,03 (+) ^{ααα}	22,4±0,8 (+) ^α	0,2±0,01 (-) ^{ααα}	11,3±0,5 (+) ^α	2,0±0,1 (++) ^{αα}
	II n=8	0,5±0,04 (-)	34,3±0,7 (+++)	0,75±0,08 (+)	50,1±0,9 (+)	0,3±0,04 (+) ^{ββ}	22,6±0,6 (+++)	0,15±0,02 (+) ^{ββ}	11,6±0,4 (++)	1,9±0,1 (+++)
	III n=6	1,16±0,1 (+) ^{XYZ}	34±0,9 (+++)	1,75±0,1 (-) ^{XYZ}	51,5±0,8 (+++) ^Y	0,8±0,05 (++) ^{XYZ}	22,2±0,7 (+)	0,85±0,4 (+++)	11,8±0,5 (+)	1,9±0,1 (+)

Примітка тут і далі:

1. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин I та II груп на початок досліді;
2. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин I та III груп на початок досліді;
3. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин II та III груп на початок досліді;
4. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин I та II груп на 7 добу лікування;
5. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин I та III груп на 7 добу лікування;
6. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин II та III груп на 7 добу лікування;
7. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин I та II груп на 14 добу лікування;
8. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин I та III груп на 14 добу лікування;
9. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин II та III груп на 14 добу лікування;
10. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин I та II груп на 21 добу лікування;
11. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин I та III груп на 21 добу лікування;
12. ^{*} P<0,05; ^{αα} P<0,01; ^{ααα} P<0,001 – різниця між показниками тварин II та III груп на 21 добу лікування;
13. ; (++) достовірність на рівні ≤0,001; (++) – ≤0,01; (+) – ≤0,05, (-) – відсутність достовірності.

Дані таблиці 1 вказують на те, що на сьому добу лікування рівень CD3+ клітин вірогідно підвищувався у всіх дослідних групах. Концентрація Т-лімфоцитів на 21 добу досліду в I групі тварин досягала рівня 7 доби, у тварин II групи – початку лікування, а у третій групі знизилась у порівнянні з 14 добою лікування. У тварин другої групи зниження кількості О-клітин на 23,1 % ($P<0,001$) відбулося на сьому добу досліду, в той час, коли в першій і третій групах кількість О-лімфоцитів зменшилася на 27,2 % та 3 % відповідно ($P<0,05$). Кількість CD4+ клітин на сьому добу лікування збільшилась у тварин всіх груп ($P<0,001$) і досягала норми. Вміст Т-супресорів у котів, яких лікували препаратом «Сорбелакт» зменшився на 30 % на 7 добу досліду, в тварин, яких лікували пробіотичним препаратом «Ветом 1.1» не відбувалося суттєвого зниження цих клітин, а у тварин, яких лікували активованим вугіллям ми спостерігали підвищення цього показника на 60 % ($P<0,001$). Імунорегуляторні індекси (ІРІ) у тварин підвищилися до максимальних значень і на 21 добу досліду в усіх групах тварин і вірогідно не відрізнялися один від одних. Зазначені зміни після проведеного лікування свідчили про стабілізацію імунної відповіді.

Показники гуморальної ланки імунітету (таблиця 2) також різнилися у порівнянні з нормою. Рівень тотальних CD22+ клітин нижче на 20 %, показники загального рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у тварин із розвинутим дисбактеріозом у 3 рази більше порівняно з нормою за рахунок збільшення також в три рази дрібно та середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів, кількість великомолекулярних була збільшена приблизно у 2 рази. Збільшення кількості В-лімфоцитів свідчить про напругу антиінфекційного імунітету як реакцію на активацію умовно-патогенної та патогенної мікрофлори у кишечнику і свідчить про нормальне продукування в організмі тварин імунoglobulinів у відповідь на антигенну стимуляцію.

Після лікування у тварин всіх дослідних груп спостерігаємо зниження кількості дрібних циркулюючих імунних комплексів до 21 доби та середніх ЦІК протягом всього часу досліду з одночасним зростанням до 21 доби кількості великих ЦІК, що призвело до значних коливань загального рівня кількості імунних комплексів. Так, за кількістю загального рівня ЦІК на сьому добу лікування тварини II групи поступалися на 35,0 % ($P<0,001$) та 42 % ($P<0,01$) тваринам першої та третьої груп. На 14 добу досліду на 9,3 % та 13,7 % ($P<0,01$) загальний рівень імунних комплексів у тварин, яких лікували препаратом «Сорбелакт» був нижче порівняно з котами I та III групи. На 21 добу загальний рівень ЦІКів вірогідно не відрізнявся один від одних.

Достовірні зміни помічено при аналізі отриманих даних щодо кількості В-лімфоцитів, а саме: в I, II та III групах на 7 добу лікування їх кількість збільшилася на 11,1 % ($p<0,05$), 27,3 % ($p<0,01$) та 33,3 % відповідно.

Таблиця 2 — Показники гуморальної ланки імунітету котів, хворих на дисбактеріоз, $\frac{M \pm m}{Pn}$

Групи тварин		Показники				
		CD22+:		ЦІК:		
		абс., з/л	%	загальн.рівень з/л	велик., з/л	середн., з/л
До лікування	I (n=7)	0,24±0,05 (+++) [∞]	12,85±0,85 (+) ^{∞∞}	32,85±1,9 (+++) [∞]	4,15±0,7 (+) [°]	11±1,1(+++)
	II (n=8)	0,24±0,04(+)	12,25±1,0(++++)	29,2±1,5(++)	3,1±0,5(++)	9,9±0,7 (-)•
	III (n=6)	0,4±0,07 (+++)	14,5±1,0 (-)	33,8±2,6 (+++)	3,0±0,7 (-)•	12,7±1,2(+)•
7 доба	I (n=7)	0,33±0,04(+)*	13,6±0,9(++)**	27±1,7(++)**	4,4±0,6 (+++)**	10±1,1 (-)*
	II (n=8)	0,27±0,03 (+)£	13,9±0,8 (-)£	17,4±1,0 (+)££	4,2±0,4 (-)	5,7±0,5 (+++)
	III (n=6)	0,6±0,07 (-)□	15,7±1,0 (+++)	30,0±1,2 (++)□□□	3,2±0,8 (+)	11,2±1,8 (+++)
14 доба	I (n=7)	0,45±0,04 (+++)	14,1±0,5 (+)ΔΔ	16,4±0,8 (-)	4,1±0,4 (++)ΔΔΔ	6,4±0,5 (+++)
	II (n=8)	0,3±0,02 (-)Δ	15,1±0,5 (+++)	15±0,4 (+++)	4,5±0,3 (-)	5±0,4 (-)Δ
	III (n=6)	0,7±0,1 (++)**	14,2±1,1 (-)	28,7±1,6 (+++)**	4,5±0,9 (+)	10,7±0,8 (++)**
21 доба	I (n=7)	0,3±0,02 (+)ααα	15,6±0,4 (-)αα	14,4±0,8 (++)α	2,5±0,3 (+++)	5,2±0,4 (+)α
	II (n=8)	0,2±0,02 (-)ααα	15,6±0,5 (+++)	14,6±0,7 (+++)	3,5±0,4 (-)ββ	4,7±0,25 (++)
	III (n=6)	0,5±0,02 (+)×××	14,5±0,6 (+++)	14,5±0,6 (-)	3,2±0,5 (+++)	5,4±0,5 (+++)
						6,0±0,6 (-)

Висновки. Проведені дослідження свідчать, що при виникненні дисбактеріозу, коли у кишечнику зникає сапрофітна, корисна мікрофлора, відбувається надмірне зростання умовно-патогенних та заселення патогенними мікроорганізмами, нормальна мікрофлора втрачає здатність виконувати роль первинного неспецифічного бар'єру, відбувається його «прорив», що ініціює включення інших неспецифічних, а потім і специфічних механізмів захисту. Таким чином, при розвитку дисбактеріозу в котів відбуваються зрушення імунологічних показників, які свідчать про активізацію імунної відповіді. Після проведеного лікування нами встановлено, що у крові котів, яких лікували комплексним пробіотично-сорбційним препаратом «Сорбелакт» показники гуморального та клітинного імунітету наближаються до аналогічних показників клінічно здорових тварин вже на 7 добу лікування, у тварин першої групи – на 14 добу лікування, а у котів, яких лікували активованим вугіллям лише на 21 добу. Отже, стан клінічного одужання підтверджується стабілізацією показників природної резистентності.

Список літератури

1. Иммуномодулирующее действие препаратов – эубиотиков / Т.К. Лопатина, М.С. Бляхер, В.Н. Николаенко и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. – Москва: Медицина. – 1997. – №3. – С.30-34.
2. Коррекция пробиотиками микрорасположений и иммунных нарушений при гастродуоденальной патологии у детей / Е.А. Лыкова, В.М. Бондаренко, Ю.А. Изачик и др. // Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1996. – №2. С. 88-91.
3. Фукс П.П. Диарея телят раннього віку: нові профілактичні та лікувальні препарати // Ветеринарна медицина України. – 1998. – №1. – С.30-31.
4. Хан Э.Р. Микробиоценоз и иммунитет при постнатальных инфекциях новорожденных // НИИ педиатрии Рос. АМН. – М. – 1996. – С.43.
5. Перелери В.Г., Бычков Н.Г. Популярная иммунология. – К.: Наукова думка, 1990. – 208 с.
6. Коляков Я.Е. Ветеринарная иммунология. – М.: Агропромиздат, 1986. – 270 с.
7. Моноклональные антитела в изучении показателей клеточного иммунитета у больных рожей / В.М. Фролов, И.С. Гайдаш, Н.А. Пересадин и др. // Лаб. дело. – 1989. – № 6. – С.71-72.
8. Фролов В.М., Пересадин Н.А. Моноклональные антитела в изучении показателей клеточного иммунитета // Общие вопросы патологий. – 1990. – №12. – С. 70-73.
9. Фролов В.М., Пересадин Н.А. Диагностическое и прогностическое значение циркулирующих иммунных комплексов у больных дизентерией // Врачеб. дело. – 1990. – № 6. – С. 116-118.
10. Detection of circulating immune complexes in human sera by simplified assays polyethylene glycol. / M. Digeon, M. Laver, J. Riza, J.F. Bach. // J. immunol. Meth. – 1977. – Vol. 16. – P. 165–183.
11. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: Меди Сфера, 2002. – 312 с.

IMMUNOLOGICAL INDEXES OF CATS, WITH THE SIGNS OF DISBAKTERIOSIS

Bordyugova S. S.

Lugansk National Agrarian University, Lugansk

The purpose of work to set the dynamics of immunological indexes for cats at development of disbakteriosis and treatment by means of different methods. Obtained by us experimental data testifies about low immunobiological status of cats with the symptoms of disbakteriosis. The results of experiments testify that the effective method of treatment of animals with disbakteriosis is the developed and offered preparation «Sorbelaht».