

# Розділ 4. Імунологія

УДК 619:616-097.3:57.085:636.3

## ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ZG-2011 НА ІМУННУ СИСТЕМУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ВІВЦЯХ

*Гриневич О.Й., Маркович І.Г.*

*ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій», м. Київ,*

*Горбатенко С.К., Шаповалова О.В., М'ягих Н.В., Зданєвич П.П., Корнєйков О.М., Матюша Л.В., Попова О.М.*

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків*

«Працююча» імунна система дозволяє розпізнати «свого» та «чужого». Багатоклітинні організми знищують збудників інфекцій або пухлинні клітини, які вийшли з-під контролю, без шкоди для нормальних клітин. Для цього існує надійна система розпізнавальних та ефекторних механізмів, що забезпечують різні види імунітету [1]. До основних факторів неспецифічного імунітету належать комплемент, гранулоцити (включаючи базофіли), моноцити, макрофаги, НК-лімфоцити та тучні клітини [2]. Специфічна імунна відповідь здійснюється В- і Т-лімфоцитами. В-лімфоцити виробляють антитіла, а Т-лімфоцити діють як допоміжні (Т-хелпери), цитолітичні (Т-кілери) та регуляторні (Т-супресори) клітини. Ці клітини не лише забезпечують нормальну імунну відповідь на інфекцію або пухлинні клітини, але й опосередковують реакцію відторгнення трансплантата й аутоімунні розлади [3]. Клітини кожного клону Т- і В-лімфоцитів мають однакові рецептори до певного антигена. Під час активації цих рецепторів лімфоцити починають швидко проліферувати, вивільняючи цитокини та відіграючи роль регуляторів імунної відповіді. Слід зазначити, що антигенспецифічні та неспецифічні фактори діють у тісному взаємозв'язку і їх внесок у формування імунної відповіді іноді важко розмежувати.

Для «активації» чи «корекції» імунної системи використовують імуномодулятори (ІМ) — лікарські засоби різного походження, що мають різнонаправлену дію на імунну систему залежно від її початкового стану. ІМ у терапевтичних дозах відновлюють нормальне функціонування імунної системи (ефективний імунний захист) [4, 5].

**Метою роботи** було вивчення імуностимулюючого впливу препарату ZG-2011 на організм овець.

**Матеріали та методи.** Для реалізації передбаченої дослідження мети було сформовано 2 дослідні групи овець (по 4 особини в кожній) за принципом аналогів з тварин романівської породи віком 10–12 місяців з середньою живою масою 30–35 кг.

Перша група – інтактний контроль. Тваринам цієї групи підшкірно вводили фізіологічний розчин у верхній третині шиї в об'ємі 2,0 см<sup>3</sup>, через 21 добу – робили повторну інюкаляцію того ж розчину за попередньою схемою. Вівцям другої групи вводили препарат ZG-2011 у дозі 2,0 см<sup>3</sup> підшкірно, через 21 добу повторно за аналогічною схемою та дозою.

Стимулюючу дію препарату ZG-2011 на рівень неспецифічної резистентності організму овець оцінювали за біохімічними та гематологічними показниками. У сироватці крові тварин було визначено: рівень загальних протеїнів, білковий профіль (альбуміни, глобуліни) спектрофотометрично загальноприйнятими методами, а також класи імуноглобулінів IgA, IgG, IgM за Манчінні. Активність лізоциму вимірювали турбідиметричним методом за Перрі в модифікації Х.Я. Гранта та спів. Дослідження кількості циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси проводили за методом Гриневича Ю.А. шляхом осадження білкових комплексів антиген-антитіло ПЕГ–6000. Вміст серомукоїдів (Sm) у сироватці крові встановлювали спектрофотометрично за різницею оптичної густини за довжини хвиль 260 нм і 280 нм. Визначення концентрації цитокинів (інтерлейкін-1-β (IL-1-β) та γ-інтерферон (IF-γ)) проводили з використанням наборів для імуноферментного аналізу виробництва ЗАТ «ВЕКТОР-БЕСТ» (Новосибірськ, Російська Федерація).

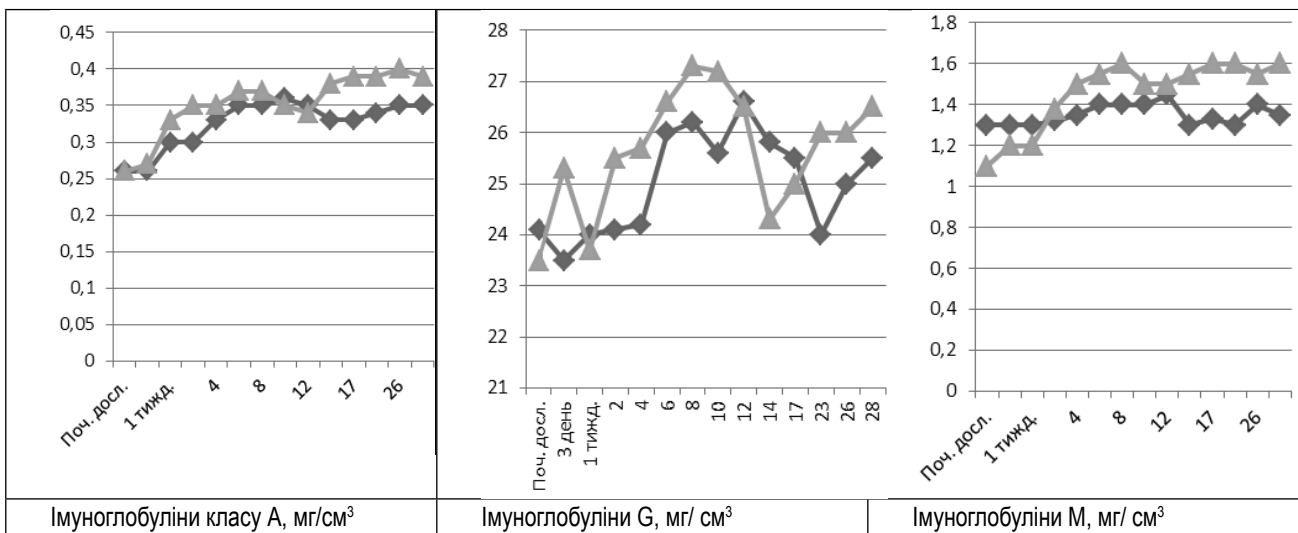
У частині гематологічних досліджень для контролю клітинного стану організму дослідних і контрольних тварин за загальноприйнятими методами визначали активність фагоцитозу нейтрофілів периферійної крові, рівень гемоглобіну, уміст і співвідношення клітин лейкоцитарної фракції різної функціональної орієнтації в окремі терміни спостережень.

**Результати досліджень.** Аналіз отриманих результатів біохімічних досліджень свідчить, що застосування препарату ZG-2011 упродовж досліджуваного періоду не викликало суттєвих змін концентрації загального білка відносно показників першої контрольної групи. Разом з тим, у овець, яким двічі, з інтервалом у 3 тижні вводили препарат ZG-2011, через тиждень після другого введення було зафіксовано підвищення рівня IgM на 11 %, в послідовному такий рівень активації імуногенезу зберігався (рисунок 1).

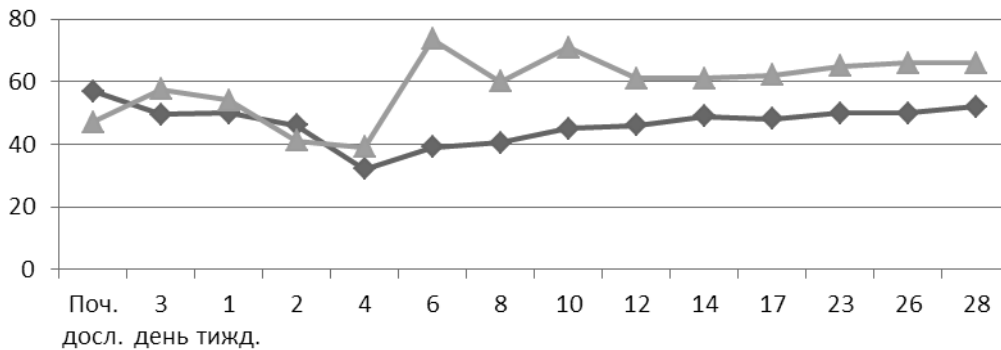
Застосування препарату призвело до активації лізоциму на 88,0 %, 43,3 %, 57,7 % та 32 % ( $P \leq 0,05$ ) через 6, 8, 10 та 12 тижнів досліді відповідно (рисунок 2). Також у період 6–8 тижнів досліді спостерігалось підвищення концентрації ЦІК середньої молекулярної маси на 15–13,6 % ( $P \leq 0,05$ ) (рисунок 3).

Що стосується рівня Sm, то через три доби після першого введення встановлено підвищення їх концентрації (на 23 % ( $P \leq 0,05$ )), а починаючи з 6-го тижня досліді – зниження їх рівня в середньому на 15 % порівняно з контролем. Про активацію імунної системи препаратом свідчить і динаміка накопичення медіаторів імунної відповіді –IL-1-в та IF-г. Рівень IL-1-в вірогідно підвищується вже через тиждень (на 52,0 %), а IF-г – через 3 доби (на 27,5 %) після першого введення препарату. Друге введення ZG-2011 спричинило більш виражене продукування інтерферону – його рівень через 7 діб перевищує контрольні показники в 1,5 рази, а інтерлейкіну – на 48,1 %. Динаміка концентрації цих цитокинів у наступні терміни дослідження відрізняється: якщо рівень IL-1-в залишався стабільно підвищеним у середньому в 2 рази, то концентрація IF-г стабільно знижувалась і наприкінці досліді була нижчою за контрольні показники на фоні їх підвищення (рисунок 4, 5).

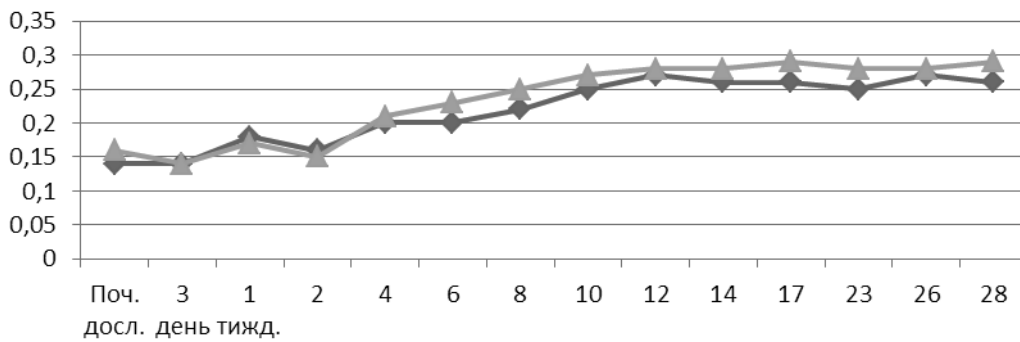
## Розділ 4. Імунологія



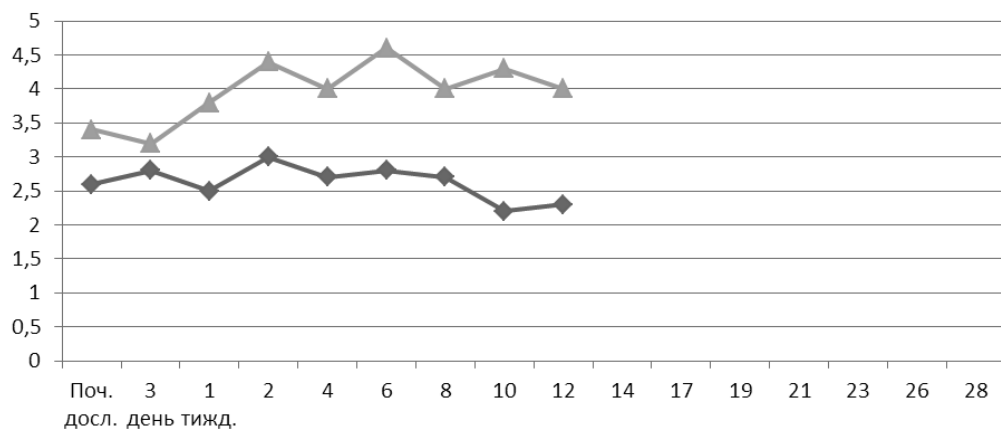
**Рис. 1.** Динаміка імуноглобулінів класів А, G та M (дослідна група – з трикутником)



**Рис. 2.** Лізоцим, мкг / см<sup>3</sup> (дослідна група – з трикутником)



**Рис. 3.** Циркулюючі імунні комплекси, мкг / см<sup>3</sup> (дослідна група – з трикутником)



**Рис. 4.** Інтерлейкін IL-1-в, пг / см<sup>3</sup> (дослідна група – з трикутником)

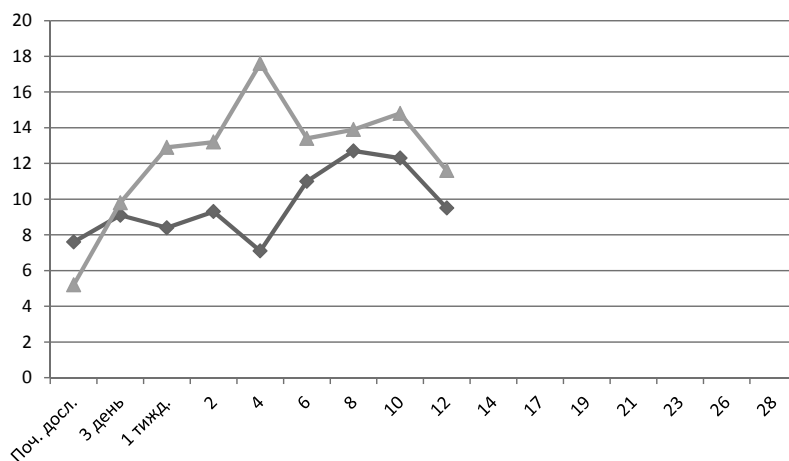


Рис. 5. Інтерферон IF-γ, пг / см<sup>3</sup>(дослідна група – з трикутником)

Таким чином, можна зробити висновок, що препарат ZG-2011 у різних ступенях впливає на формування різних ланок імунітету. Зокрема, індукує синтез імуноглобулінів (IgM, Ig G та IgA) та підвищення активності лізоциму. Крім того, про позитивний вплив ZG-2011 на організм овець свідчить підвищення рівня медіаторів імунної відповіді – IF-γ, IL-1-в та циркулюючих імунних комплексів середньої молекулярної маси, які є стимуляторами клітинного імунітету. Також препарат призводить до зниження концентрації серомукоїдів, які справляють інгібуючу дію на розвиток гуморальної ланки імунітету.

Результати гематологічних досліджень показали, що після першої інюкуляції препарату ZG-2011 тварини відреагували підвищенням вмісту лейкоцитів у 1,5 рази та лімфоцитів у 1,3 рази, у подальшому цей показник зростав на 1,2 і 0,6 тис/мкл відповідно.

Показники фагоцитозу в експериментальних тварин характеризувались такими параметрами: після введення препарату чисельність нейтрофілів від загальної чисельності лейкоцитів на рівні 32,8 та 48,8 %, активних фагоцитуючих клітин серед них – 51 % та 47,2 %, з поглинаючою спроможністю 2,98 та 7,65 мікробних тіл (у овець 1 та 2 груп відповідно). У тварин, яким вводили препарат ZG-2011, пік підвищення показників фагоцитозу приходився на перші періоди спостережень після інюкуляції вищезначеного препарату (рисунки 6, 7).

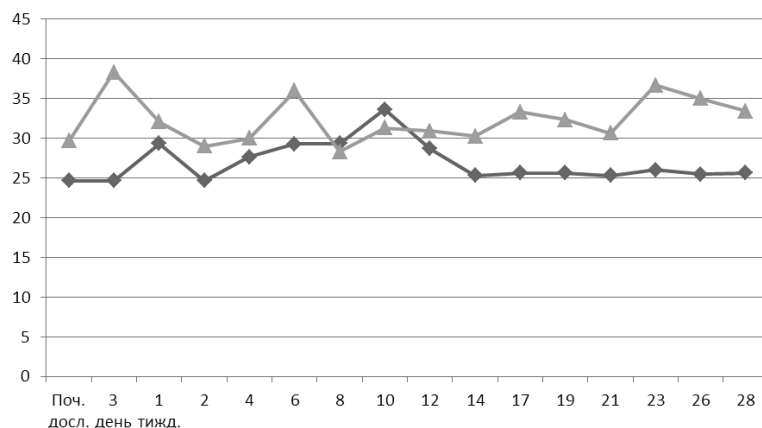


Рис. 6. Динаміка зміни кількості нейтрофільних лейкоцитів, % (дослідна група – з трикутником)

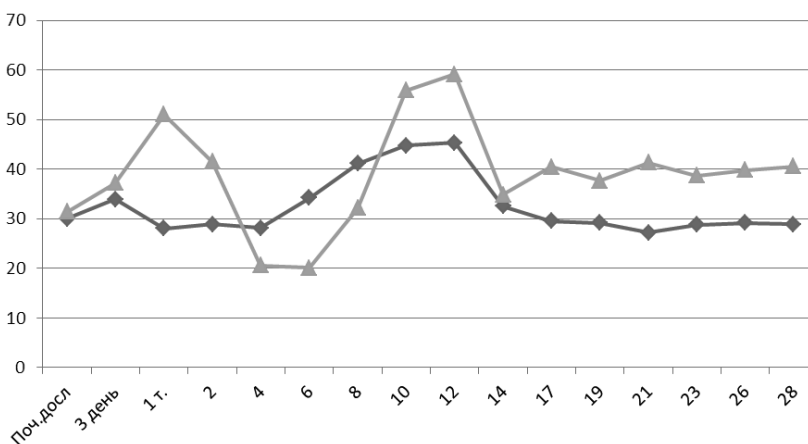


Рис. 7. Фагоцитарна активність, % (дослідна група – з трикутником)

На підставі проведених гематологічних досліджень прийшли до висновку, що введення препарату ZG-2011 викликало відносний лімфоцитоз взагалі та, зокрема, зростання чисельності популяції великих грануловміщуючих лімфоцитів (ВГЛ), що свідчить про активізацію цитотоксичного ланцюга протівірусного імунітету. Ці показники утримувались на активному рівні впродовж трьох місяців. Разом з цим, інокуляція вищеозначеного препарату вже на третю добу активувала фагоцитоз, показники якого на високому рівні підтримувались впродовж досліджу.

**Висновки.** 1. Препарат ZG-2011 стимулює імунну систему дослідних овець – індукує синтез імуноглобулінів (IgM, Ig G та IgA), IF- $\gamma$ , IL-1- $\beta$ , ЦІК та підвищує активність лізоциму, призводить до зниження концентрації серомукоїдів.

2. Введення препарату ZG-2011 активує фагоцитоз і цитотоксичну ланку імунітету овець, що проявляється відносним лімфоцитозом і зростанням кількості ВГЛ.

### Список літератури

1. Hadden, J.W. Immunostimulants [Text] / J.W. Hadden // Immunol. Today. – 1993. – Vol. 14. – P. 275–280. 2. Porter, Robert S. The Merck Manual of diagnosis and therapy [Text] / Robert S. Porter. – 19th ed. – Merck & CO. Inc., 2011. – 3800 p. 3. Spickett, G. Oxford Handbook of Clinical Immunology [Text] / G. Spickett. – New York : Oxford University Press Inc., 1999. – 715 p. 4. Хаитов, Р.М. Вторичные иммунодефициты: клиника, диагностика, лечение [Текст] / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 1999. – № 1. – С. 14–17. 5. Хаитов, Р.М. Иммуномодуляторы и некоторые аспекты их клинического применения [Текст] / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // Клиническая медицина. – 1996. – Т. 74, № 8. – С. 7–12.

## EFFECT OF ZG-2011 DRUG ON THE IMMUNE SYSTEM IN EXPERIMENTS ON SHEEP

Grynevych O.I., Markovych I.G.,

State Center of Innovative Biotechnologies, Kyiv

Gorbatenko S.K., Shapovalova O.V., Mjagkich N.V., Zdanevich P.P., Korneykov A.N., Matyusha L.V., Popova E.N.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Analysis of the effect of the drug ZG-2011 on immune system of small livestock (in the experiment on sheep) has been carried out.

УДК 619:616:636.3; 636.02:615.3

## ВПЛИВ ІЗАМБЕНУ НА ІМУННУ СИСТЕМУ ОВЕЦЬ

Гриневич О.Й., Маркович І.Г.

ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій», м. Київ

Коваленко Л.В., Михайлова С.А., Шаповалова О.В., Горбатенко С.К., Корнейков О.М., Зданевич П.П., М'ягких Н.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

У патогенезі ряду захворювань як людей, так і тварин важливе значення має пошкодження імунної системи різноманітними факторами, зокрема екологічними (мікроклімат, інфекційні агенти, середовище), оскільки вони знижують захисні функції організму. Ця проблема актуальна для сьогодення, наприклад, у справі збереження молодняка сільськогосподарських тварин [1, 2, 3].

Серед сучасних методів вирішення питання нормалізації та оптимізації імунологічного статусу важливе значення має фармакологічна імунокорекція на основі застосування препаратів імуномодуляторів – речовин, здатних спрямовано впливати на імунну систему [4–7].

Одним із таких препаратів може бути ізамбен. Його властивості, зокрема протизапальні, жарознижувальні, болезаспокійливі, вже частково досліджувалась на мишах, щурах, собаках, котках і поросятах. Було встановлено, що даний препарат проявляв певну імунореабілітуючу та імунопотенціюючу дію на імунну систему дослідних тварин [8–10].

**Мета роботи** – вивчення впливу препарату ізамбен на імунну систему овець.

**Матеріали та методи.** Для визначення стимулюючої дії ізамбену на рівень неспецифічної резистентності організму овець за показниками біохімічного та гематологічного стану за принципом аналогів було сформовано дві дослідні групи тварин по 4 особини в кожній. У досліді використані вівці романівської породи віком 10–12 місяців з середньою живою масою 30–35 кг.

1 група – інтактний контроль. Тваринам цієї групи підшкірно вводили фізіологічний розчин у верхній третині шиї в об'ємі 2,0 см<sup>3</sup>, через 21 день – робили повторну інокуляцію того ж розчину за попередньою схемою.

Тваринам 2 групи вводили розчин у ізамбен в дозі 10 мг/кг підшкірно у верхню третину шиї в об'ємі 2,0 см<sup>3</sup>, через 21 день – повторно за тією ж схемою в тому ж об'ємі.

З метою визначення динаміки показників неспецифічної резистентності організму експериментальних тварин було проведено наступні дослідження:

- гематологічні (кількість гемоглобіну, лейкоцитів, лейкоформула);
- біохімічні (вміст загального білку, альбуміну, глобулінів);
- імунологічні (вміст імуноглобулінів (Ig) класів А, М та G, рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), інтерлекіну 1- $\beta$  (IL-1- $\beta$ ),  $\gamma$ -інтерферону (IF- $\gamma$ ), серомукоїдів (Sm), активності лізоциму та фагоцитозу, вміст великих грануловміщуючих лімфоцитів (ВГЛ).

Проби периферичної крові тварин досліджували в динаміці з інтервалом 2–4 тижні протягом 28 тижнів.

Рівень загальних протеїнів, білковий профіль (альбуміни, глобуліни) визначали спектрофотометрично загальноприйнятими методами, класи імуноглобулінів IgA, IgG, IgM – за Манчині. Активність лізоциму вимірювали турбідиметричним методом за Перрі в модифікації Гранта Х.Я. і спів. Дослідження кількості циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси проводили за методом Гриневича Ю.А. шляхом осадження білкових комплексів антиген-антитіло ПЕГ–6000. Вміст серомукоїдів (Sm) у сироватці крові встановлювали спектрофотометрично за різницею оптичної густини за довжини хвиль 260 нм та 280 нм. Визначення концентрації цитокінів (IL-1- $\beta$  та IF- $\gamma$ ) проводили з використанням наборів для імуноферментного аналізу виробництва ЗАТ «ВЕКТОР-БЕСТ» Новосибірськ (Російська Федерація).

У частині гематологічних досліджень для контролю клітинного стану організму дослідних і контрольних тварин за загальноприйнятими методами визначали рівень фагоцитозу нейтрофілів периферичної крові, гемоглобіну, вміст і співвідношення клітин лейкоцитарної фракції різної функціональної орієнтації в окремі терміни досліджень.

**Результати досліджень та їх обговорення.** На початку виконання досліджень встановлювали стартові біохімічні, імунологічні, серологічні, гематологічні показники організму дослідних і контрольних овець.