

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.

Аналіз отриманих результатів біохімічних та імунологічних досліджень засвідчив, що у тварин, яким було введено ізамбен, кількість загального білку постійно перевищувала показники контрольної групи, починаючи з 6 тижня спостереження.

Імуноглобуліни класу А накопичувались в організмі тварин починаючи з 3 доби спостереження, причому у тварин 2 групи середні показники імуноглобуліну даного класу були постійно вищими у порівнянні з тваринами контрольної групи, хоч різниця не завжди була в межах достовірності. На початку досліджу спостерігали незначне зниження рівня IgM у овець 2 групи, через 14 тижнів встановлено підвищення цього показника відносно контролю. Стосовно IgG варто відзначити, що через 7 діб після введення ізамбену у овець зафіксовано короткострокове зниження рівня IgG на 13,7 %. По завершенню першого тижня їх концентрація різко знизилась, а потім набула тенденції до росту.

Упродовж досліджу спостерігали коливання активності лізоциму у тварин дослідної групи порівняно з контролем – незначне зниження (на 10,5 %) через 2 тижні після введення, та в подальшому максимальне підвищення через 6 тижнів після початку досліджу на 70,5 % ( $P \leq 0,01$ ), через 7 – на 28 %, а через 8 тижнів – на 44,4 % ( $P \leq 0,05$ ) (рисунок 1).

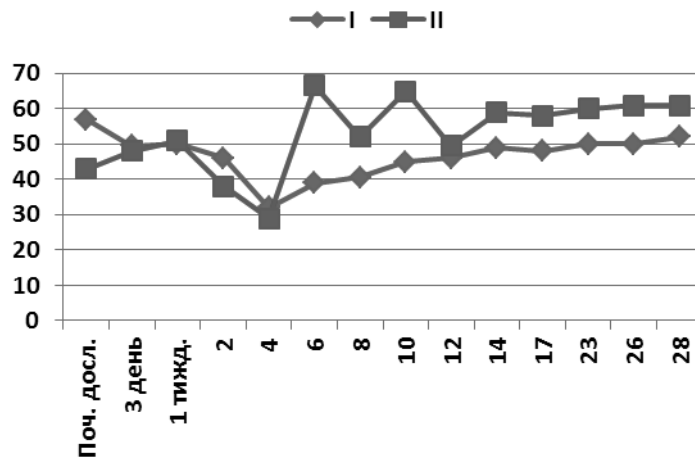


Рис. 1. Динаміка зміни кількості лізоциму, мкг/см<sup>3</sup>

Ізамбен також обумовлює м'який стимулюючий вплив на продукування цитокінів: IL-1-β та IF-γ. Так, через 3 тижні після першого та тиждень після другого введення препарату зафіксовано максимальні підвищення концентрації IL-1-β на 26,6% та 55,5% відносно контролю у відповідні терміни досліджень ( $P \leq 0,05$ ). Що стосується IF-γ, то через два та три тижні після першого введення його рівень, відносно контрольних значень, був підвищеним на 30,9%, та 20,7% відповідно, а через тиждень після другої інюкації – на 36,7% ( $P \leq 0,05$ ). Взагалі, кількість γ-Інтерферону в 1 групі тварин змінювалась хвилюподібно з тенденцією до зниження, а у 2 групі спостерігали поступове підвищення показника (рисунки 2, 3).

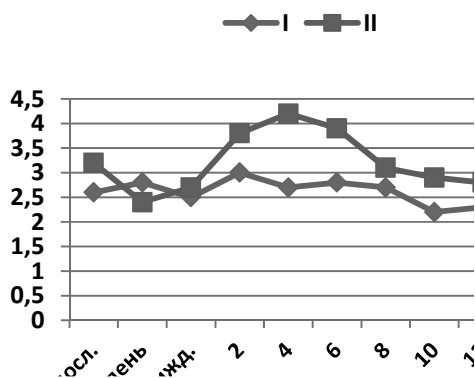


Рис. 2. Динаміка зміни кількості інтерлейкіну, 1-β, пг/см<sup>3</sup>

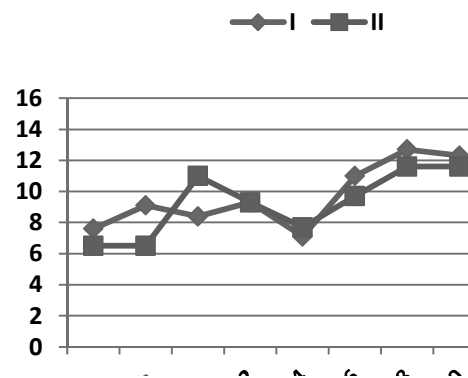


Рис. 3. Динаміка зміни кількості γ-інтерферону, пг/см<sup>3</sup>

Таким чином, можна зробити висновок, що ізамбен впливає на формування неспецифічної ланки імунітету. Зокрема, індукує синтез імуноглобулінів (IgM, IgG та IgA) та підвищує активність лізоциму. Застосування препарату не викликає достовірних змін інших показників, що досліджувались.

Стосовно гематологічних досліджень відмічали, що у тварин 2 групи ведення ізамбену обумовило підвищення вмісту клітин лейкоцитарної фракції в 2 рази після першої інюкації препарату. Після повторної інюкації ці показники наближались до стартових значень. У більш віддалені після інюкації ізамбену терміни вміст лейкоцитів і лімфоцитів у периферичній крові тварин даної групи змінювався «хвилюподібно» в межах від 7,0–8,0 до 3,0–5,0 тис/мкл. Чисельність ВГЛ після першої інюкації вищезазначеного препарату у тварин 2 групи виросла в 2 рази, а після другої – в 15,8 разів у порівнянні до стартових показників.

Питома вага нейтрофільних лейкоцитів у групі тварин, яким вводили фізіологічний розчин, варіювала у межах 24–34 %, тоді як після введення ізамбену на 6 тижні спостереження їх відсоток зріс до 60 %, на 14 тижні – до 36 %, а після 17 тижня не піднімався вище 26 %, тобто показники були незначно нижчими за початковий рівень (24,7 %) (рисунок 4).

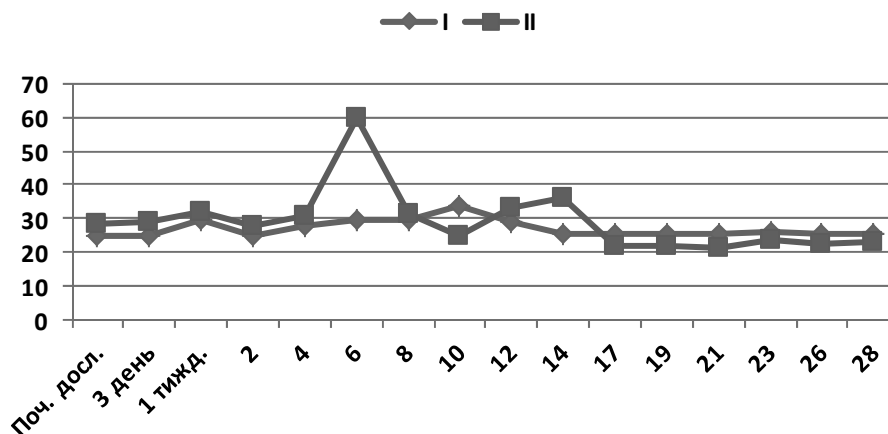


Рис. 4. Динаміка зміни кількості нейтрофільних лейкоцитів, %

Відмічене зростання фагоцитарної активності нейтрофілів (у 1,7 рази) на початку дослідження у овець 2 групи, а в окремі віддалені терміни дослідження (10-12 тижні) – в 2,2 рази. Поглинаюча спроможність активованих нейтрофілів була у 2 рази вищою від стартових показників на 3 добу після першої інюкуляції ізамбену, у подальшому цей показник стабілізувався з більш високими, по відношенню до початкових, показниками.

Під впливом ізамбену фагоцитарна активність зростає на 3-ю добу спостереження, різко впала на 1 тижні, а далі скачкоподібно зростала до 10–12 тижнів, після чого показники плавно повернулись, практично, до початкових значень. Фагоцитарна активність після введення ізамбену була вищою за контрольну групу починаючи з 10 тижня і до кінця спостереження (рисунок 5).

Паралельно зростала й поглинаюча спроможність нейтрофілів. Число Райта після введення ізамбену збільшилось на 3 добу та 1 тиждень відповідно, після чого спостерігалось зниження його значень до 2 % на 4–6 тижнях і подальше збільшення до 28 тижня, тоді як у контрольній групі після 14 тижня спостерігалось зниження даного показника (рисунок 6).

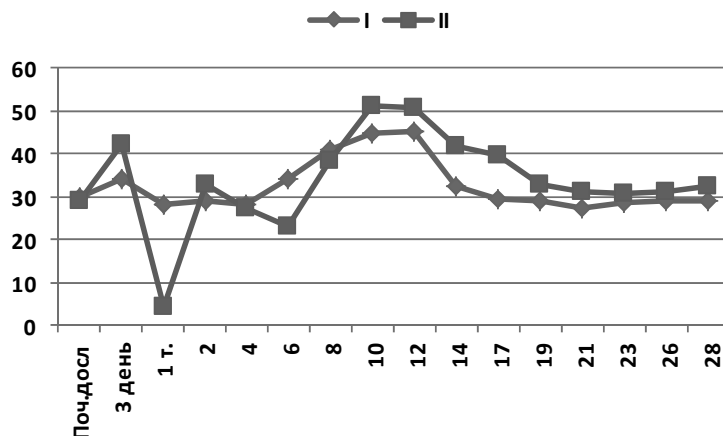


Рис. 5. Динаміка зміни фагоцитарної активності, %

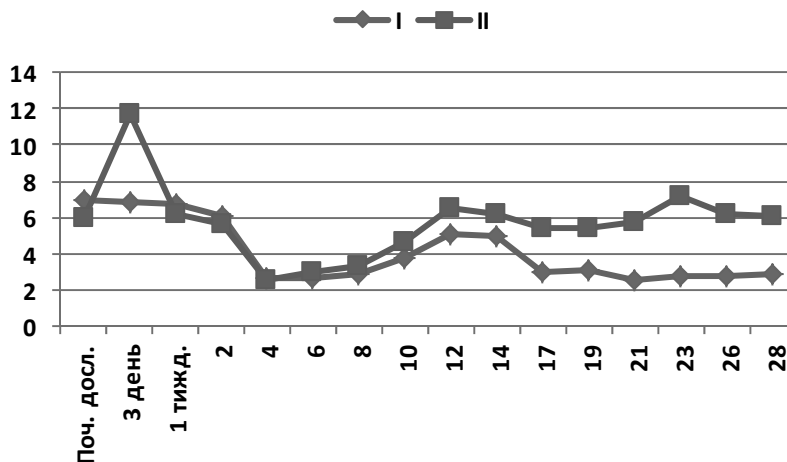


Рис. 6. Динаміка зміни Числа Райта, %

У ході досліджу суттєвих змін рівню вмісту гемоглобіну у тварин 2 групи, у порівнянні з контролем, не спостерігали.

На підставі проведених гематологічних досліджень прийшли до висновку, що введення ізамбену викликає відносний лімфоцитоз взагалі та зокрема зростання популяції ВГЛ, що свідчить про активізацію цитотоксичного ланцюга протівірусного імунітету. Підвищений рівень цих показників підтримувався впродовж трьох місяців. Разом з цим, інокуляція ізамбену активувала фагоцитоз вже на третю добу, із збереженням високого рівня фагоцитарних параметрів упродовж всього досліджу.

**Висновки.** Препарат ізамбен виявляє стимулюючу дію на імунну систему овець в умовах довготривалого експерименту. Це проявляється індукцією синтезу імуноглобулінів, підвищенням активності лізоциму та фагоцитозу.

#### Список літератури

1. Джигова, Т.С. Ізамбен – стимулятор природної резистентності для свиней. [Текст] / Т.С. Джигова // Вісн. Сумського нац. аграр. ун-ту. – 2012. – Вип. 7 (31). – С. 130–132. – (Серія «Вет. медицина»).
2. Влияние левомизола на сохранность и прирост живой массы поросят [Текст] / А. Абилов [и др.] // Свиноводство. – 1988. – № 5. – С. 29–31.
3. Калашник, И.А. Стимулирующая терапия в ветеринарии [Текст] / И.А. Калашник. – К. : Урожай, 1990. – 160 с.
4. Алехин, Е.К. Сочетание иммуностимуляторов как метод коррекции вторичных иммунодефицитов [Текст] / Е.К. Алехин, Н.Д. Лазарев, А.Ш. Богданова // Экспер. и клинич. фармакология. – 1993. – Вип. 56, № 2. – С. 34–37.
5. Федоров, Ю.Н. Иммунокоррекция: принципы и механизмы действия иммуномодулирующих препаратов [Текст] / Ю.Н. Федоров // Ветеринария. – 2005. – № 2. – С. 3–6.
6. Квачов, В. Иммунный статус тварин: проблемні питання визначення і оцінки [Текст] / В. Квачов // Вет. медицина України. – 1996. – № 3. – С. 20–21.
7. Коромыслов, Г.Ф. Иммуностимуляция: средства, методы, перспективы [Текст] / Г.Ф. Коромыслов, П.Е. Игнатов // С.-х. биология. – 1983. – № 7. – С. 99–107.
8. Духницький, В.Б. Анальгетична дія ізамбену в експериментах на білих мишах [Електронний ресурс] / В.Б. Духницький, А.Г. Міластная. – Режим доступу : [http://www.nbuv.gov.ua/e-journals/Nd/2011\\_2/11dvb.pdf](http://www.nbuv.gov.ua/e-journals/Nd/2011_2/11dvb.pdf). – Заголовок з екрану.
9. Духницький, В.Б. Жарознижуюча дія Ізамбену (Амізону) в експериментах на білих щурах [Текст] / В.Б. Духницький, А.Г. Міластная // Вісн. Полтавської держ. аграр. акад. – 2011. – № 1. – С. 60.
10. Сливка, Г.В. Вплив ізамбену (амізону) на ефективність імунопрофілактики та терапії дрібних домашніх тварин при захворюваннях різної етіології [Текст] : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.04 / Г.В. Сливка. – Львів, 2005. – 20 с.

### EFFECTS OF IZAMBEN ON THE IMMUNE SYSTEM OF SHEEP

Grynevych O.I., Markovych I.G.

State Center of Innovative Biotechnologies, Kyiv

Kovalenko L.V., Mikhailova S.A., Shapovalova O.V., Gorbatenko S.K., Korneykov A.N., Zdanevich P.P., Mjagkich N.V.

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

Information on the effect of Izamben drug on the immune system of sheep presented in the paper. The drug affects the formation of non-specific immunity through the induction of immunoglobulins, lysozyme activity and phagocytosis.

УДК 619:616.98:578.824.11+619:612.017.11/12:636.7

### ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА СОБАК, ВАКЦИНИРОВАННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ АНТИРАБИЧЕСКИМИ ВАКЦИНАМИ В СОЧЕТАНИИ С ИММУНОСТИМУЛЯТОРАМИ

Гюлюкин А.М., Хисматуллина Н.А., Гафарова А.З., Сабирова В.В.

ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань, Российская Федерация

Горлик А.О.

Ветслужба Зонального Центра кинологической службы МВД по РТ, г. Казань, Российская Федерация

Вакцинация собак различными антирабическими вакцинами: «Мультикан-8», «Нобивак-DHPPII+R» и «Эурикан-DHPPII-LR» в сочетании с препаратами циклоферон и фоспренил показала достоверное увеличение количества лейкоцитов, преимущественно за счет увеличения числа лимфоцитов, в том числе Т- и В-лимфоцитов, а также повышение фагоцитарной активности нейтрофилов крови. Уровень антител к вирусу бешенства в исследуемых пробах сывороток крови собак, взятых через 21 и 51 суток после вакцинации различными антирабическими вакцинами в сочетании с иммуностимулирующими препаратами, обеспечивают защиту животных от бешенства. Аналогичные результаты по эффективности антирабической вакцинации в сочетании с иммуностимуляторами получены при использовании вакцины «Мультикан-8» в сочетании с циклофероном и фоспренилом. При этом максимальный титр специфических к вирусу бешенства антител отмечен через 51 сутки после вакцинации – 1:800 (20,0 МЕ/мл).

Распространение бешенства среди животных является одним из важнейших международных критериев оценки биологической и экологической безопасности среды обитания человека. В мире от бешенства ежегодно умирают несколько десятков тысяч человек, источником заражения которых являются больные животные. В России ежегодно регистрируется до 15–20 случаев заболеваний бешенством среди людей [3, 5].

По данным ряда исследователей [3, 6], основным резервуаром и источником распространения рабического вируса была и остается лисица. Однако, участились случаи заболевания бешенством среди собак и кошек. При этом ни одно из погибших домашних животных не было вакцинировано [1, 2, 4]. Как известно, вакцинация является одной из главных мер борьбы с бешенством. В то же время для усиления иммунологической реактивности организма важное значение имеет применение иммуномодуляторов.

В Российской Федерации для профилактики бешенства собак используют различные отечественные и зарубежные антирабические вакцины, зарегистрированные в Российской Федерации.

Целью наших исследований явилось изучение влияния иммуностимуляторов на эффективность антирабической вакцинации.

**Материалы и методы.** В работе использовали следующие вакцины: «Мультикан-8» (ЗАО «НПО Нарвак», Москва), «Нобивак-DHPPII+R» («Интервет Интернэшнл»), «Эурикан-DHPPII-LR» («Мериал», «Merial»/Лион, Франция) согласно наставлениям по их применению. В экспериментах использовали собак, принадлежащих ветслужбе Зонального Центра кинологической службы МВД по Республике Татарстан.

В качестве иммуностимулирующих препаратов применяли 12,5 %-ный раствор циклоферона (производства ООО «Научно-технологическая фармацевтическая фирма «ПОЛИСАН», г. Санкт-Петербург) и 0,4 %-ный раствор фоспренила (производства ЗАО «Микро-Плюс», г. Москва).