

**ВПЛИВ ІМУНОМОДУЛЯТОРА НА БІОХІМІЧНІ ТА ІМУНОЛОГІЧНІ
ПОКАЗНИКИ ОРГАНІЗМУ ВІВЦЕМАТОК ПРИ ЩЕПЛЕННІ ПРОТИ
КОЛІБАКТЕРІОЗУ В УМОВАХ ПОСТІЙНОЇ ДІЇ МАЛИХ ДОЗ ІОНІЗУЮЧОГО
ОПРОМІНЕННЯ**

Головко А.М., док. вет. наук

ДНКІБШМ, м. Київ

Пінський О.В., ассис.,

Чала І.В., канд. біол. наук

Державний агроекологічний університет, м. Житомир

Стаття присвячена дослідженню динаміки імунобіохімічних показників крові імунізованих вівцематок при застосуванні імуномодулятора за умов постійної дії малих доз іонізуючого випромінювання. Встановлено, що при імунізації кітних вівцематок, які утримувались в забрудненій радіоактивними речовинами зоні, спостерігались імуносупресорні реакції. Застосування імуномодулятора Нукливет позитивно впливає на обмін речовин, покращує функціональну діяльність імунної системи.

Імунізація тварин є, свого роду, стресовим фактором, особливо, в несприятливих екологічних умовах [1-5]. Зокрема відомо, що при тривалій дії іонізуючого випромінювання

спостерігається зниження рівня резистентності організму на фоні розвитку алергічних реакцій. Такий стан організму зумовлений утворенням токсичних продуктів переокиснення ліпідів клітинних мембран, у результаті чого накопичуються гідроперекиси ліпідів, дієнові кон'югати, які сприяють розвитку патологічних процесів в організмі, а саме, розвитку аутоімунних реакцій [6, 7]. Так, у тварин, що утримуються в зоні з підвищеним радіаційним фоном, спостерігається порушення показників неспецифічної резистентності, що в цілому негативно впливає на життєздатність цих тварин та їх продуктивність [8-10]. Тому, одним із завдань ветеринарної медицини є впровадження відповідних заходів щодо зведення до мінімуму кількості негативних явищ, що виникають внаслідок профілактичної вакцинації тварин.

Застосування препаратів імуномодулюючої дії при імунізації тварин є одним із цих заходів. У наших дослідженнях ми використовували препарат Нукливет-ін'єкційний, який має імуномодулюючі властивості, про що повідомлялось нами раніше [11]. Нукливет – імуномодулятор бактеріального походження, що містить екзогенну дріжджову РНК. Препарат застосовували з метою нормалізації процесів обміну речовин при введенні антигенних речовин кітним вівцяматкам.

Метою наших досліджень було виявлення змін окремих показників білкового обміну (вміст загального білка, співвідношення білкових фракцій) та показників, що характеризують функціональну діяльність імунної системи (імуноглобуліни, серомукоїди та циркулюючі імунні комплекси) при щепленні та застосуванні Нукливету.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на території з щільністю радіоактивного забруднення ґрунту за ^{137}Cs 5-10 Кі/км² (185–370 кБк/м²). Радіаційний гамма-фон у період проведення дослідів на території, де утримувались тварини, в середньому, становив $30,2 \pm 1,2$ мкР/год ($7,8 \pm 0,4$ нКл/кг/год). Загальний вміст ^{137}Cs в спожитому вівцями раціоні за добу складав 2088 ± 330 Бк.

Для проведення досліджень було відібрано три групи (контрольна і дві дослідні) кітних вівцяматок по п'ять голів у кожній за принципом аналогів. У першій дослідній групі тварин вакцинували за місяць та ревакцинували за 14 діб до очікуваних окотів. У другій дослідній групі при імунізації застосовували 4%-ний розчин препарату Нукливет, який вводили парентерально в дозі 1 мл на 10 кг маси тварини один раз на добу: дві доби до вакцинації, разом із вакциною та дві доби після кожного щеплення. Для щеплення використовували вакцину проти колибактеріозу молодняка сільськогосподарських тварин на основі факторів патогенності збудника виробництва ІЕКВМ УААН м. Харків, яку застосовували згідно з настановою.

Для досліджень у вівцяматок відбирали проби крові за 8 діб до щеплення, перед ревакцинацією, на 14-у добу після повторного щеплення (за 1-5 днів перед окотом), через один і три місяці після реімунізації. В сироватці крові визначали кількість загального білка (рефрактометричним методом) та його фракцій - турбідиметричним методом, вміст сечової кислоти – фотоселектроколориметричним методом, кількість серомукоїдів (Sm) - за Веймером та Мошиным, вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – по Гриневичу та Алферову.

Результати досліджень. Для порівняльної характеристики біологічної дії Нукливету розглянемо, які зміни викликає імунізація в організмі кітних вівцяматок (перша дослідна група), порівняно з групою тварин, яким при вакцинації застосовували експериментальний препарат (друга дослідна група). Результати досліджень наведені в таблиці.

Як видно з наведених даних, кількість загального білка в сироватці крові контрольної та дослідних груп коливалась в межах 55,4 - 67,4 г/л, що є нижньою межею фізіологічних коливань. Статистично достовірне збільшення вмісту білка спостерігалось у вівцяматок дослідних груп через місяць після ревакцинації і становило 17,3% та 23,1% ($p < 0,01$), порівнюючи з контролем. Слід відзначити, що вміст загального білка протягом всього періоду дослідів був дещо вищим у тварин, яким вводили Нукливет. Вказані зміни можна пояснити інтенсифікацією синтезу білка під дією препарату. Щодо вмісту альбумінів та глобулінів, то у тварин дослідних груп спостерігалось зменшення вмісту альбумінів та збільшення вмісту глобулінів через місяць після ревакцинації, яке становило 8,5-9,7% та 8,3-9,5% ($p < 0,05$). Однак, чіткої тенденції впродовж усього періоду досліджень у зміні вмісту білка та відносної кількості альбумінів і глобулінів у сироватці крові вівцяматок між дослідними групами тварин не було виявлено.

Таблиця – Динаміка імунобіохімічних показників крові вівцематок при щепленні проти колібактеріозу, ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи тварин	Період дослідження				
		Перед щепленням	Перед ревакцинацією	Через 14 дів після ревакцинації	Через місяць після ревакцинації	Через три місяці після ревакцинації
Загальний білок, г/л	контрольна	65,2±2,3	62,4±1,9	59,2±1,2	54,7±1,8	63,4±1,7
	перша дослідна	62,2±0,8	58,8±1,1	55,4±1,8	64,2±2,0	62,0±1,8
	друга дослідна	64,4±2,7	62,8±2,6	62,5±2,9	67,4±1,7	65,4±2,0
Альбуміни, %	контрольна	51,8±0,9	54,0±1,8	52,2±1,7	49,4±0,6	49,0±1,2
	перша дослідна	54,2±2,0	50,6±2,6	51,2±1,2	45,2±1,3	48,4±1,3
	друга дослідна	54,2±2,6	48,4±2,2	50,2±0,9	44,6±1,9	46,4±2,0
Глобуліни, %	контрольна	48,2±0,9	46,0±1,8	47,8±1,7	50,6±0,6	51,0±1,2
	перша дослідна	45,8±2,0	49,4±2,6	48,8±1,2	54,8±1,3	51,6±1,3
	друга дослідна	45,8±2,6	51,6±2,2	49,8±0,9	55,4±1,9	53,6±2,0
γ-глобуліни, %	контрольна	23,1±1,3	24,2±0,8	18,5±0,8	21,5±0,7	20,5±0,4
	перша дослідна	24,2±2,2	30,7±1,9	22,2±0,7	23,7±0,8	23,1±1,2
	друга дослідна	22,2±1,3	31,2±1,7	26,5±1,4	26,9±1,2	25,9±1,9
Імуноглобуліни, г/л	контрольна	14,2±0,9	14,6±1,1	10,2±0,5	11,2±0,5	12,7±0,6
	перша дослідна	13,9±0,8	17,7±0,7	12,2±0,4	15,1±0,6	15,1±0,8
	друга дослідна	13,8±0,9	19,1±0,6	14,6±0,9	17,9±0,7	17,1±0,8
Серомукоїди, мг/мл	контрольна	0,812±0,09	0,79±0,06	0,83±0,03	0,64±0,03	0,63±0,03
	перша дослідна	0,84±0,03	0,982±0,03	1,64±0,08	1,23±0,06	0,804±0,07
	друга дослідна	0,742±0,04	0,882±0,03	1,16±0,1	0,77±0,01	0,602±0,05
ЦК, мг/мл	контрольна	0,144±0,02	0,15±0,02	0,182±0,01	0,174±0,02	0,132±0,01
	перша дослідна	0,174±0,02	0,23±0,01	0,322±0,04	0,27±0,01	0,184±0,02
	друга дослідна	0,15±0,03	0,258±0,01	0,3±0,02	0,234±0,01	0,144±0,02
Сечова кислота, мкмоль/л	контрольна	39,8±1,5	43,2±1,8	46,4±2,1	40,4±3,8	36,4±3,9
	перша дослідна	47,4±3,2	63,2±5,6	57,6±2,7	47,2±6,3	37,0±3,4
	друга дослідна	42,6±2,7	73,2±3,3	76,4±2,8	56,2±5,2	50,2±5,6

При аналізі співвідношення різних фракцій глобулінів, були встановлені достовірні зміни лише у вмісті гамма-глобулінової фракції. Як видно з одержаних даних, вміст цієї фракції у крові дослідних груп вівцематок починав зростати після імунізації. Однак, максимальне її зростання в другій дослідній групі, в порівнянні з імунними вівцематками, яким не вводили препарат, спостерігалось через два тижні та через місяць після повторної імунізації. Аналогічні результати були отримані при визначенні абсолютної кількості загальних імуноглобулінів.

Так, після вакцинації спостерігалось значне зростання вмісту імуноглобулінів у сироватці крові другої дослідної групи тварин і він був на 19,3% ($p < 0,04$) у період - 14 дів після ревакцинації і на 18,3% ($p < 0,02$) через місяць після ревакцинації більшим, ніж у тварин першої групи. Високий вміст імуноглобулінів зберігався впродовж трьох місяців після ревакцинації, що свідчить, на нашу думку, про досить значний і стійкий розвиток специфічних імунних реакцій.

Для детальної характеристики функціональної діяльності імунної системи нами було визначено вміст серомукоїдів. Як відомо з літератури [12], до групи серомукоїдів належать складні глікопротеїди (протеоглікани), які включають білки "гострої фази". Їх біологічна роль полягає в інгібуванні процесів імунної відповіді. Серомукоїди є природними супресорами процесів синтезу моноклональних антитіл. Тому, на нашу думку, було б доцільним дослідити взаємозв'язок двох протилежноспрямованих процесів при імунізації.

Згідно з одержаними даними, суттєве зростання вмісту Sm було виявлено у вівцематок дослідних груп, порівняно з контролем, вже через 14 днів після імунізації (11,6-24,3%). Найвищим це зростання було на 14-у добу після ревакцинації (39,8-97,6%). Поступово різниця між контрольною та дослідними групами зменшувалась і через три місяці після вакцинації становила 4,4-27,6%.

Слід зазначити, що у тварин другої дослідної групи спостерігалось значне зменшення синтезу цих білків і воно було стійким впродовж усього періоду дослідження, хоча абсолютна кількість Sm перевищувала показники контрольної групи. Найбільш суттєве зменшення Sm спостерігалось через місяць після ревакцинації у порівнянні з першою дослідною групою вівцематок, і становило 37,4% ($p < 0,001$). Таким чином, можна говорити, що Нукливет зменшує утворення серомукоїдів, а отже, і ступінь реактогенності вакцини, що дає можливість більш ефективно накопичувати імунні білки, тобто Нукливет сприяє покращенню ефективності імунізації.

Відмічено, що в період максимального підвищення вмісту Sm спостерігався найменший вміст імуноглобулінів у сироватці крові вівцематок усіх груп.

Кінцевим результатом імунної відповіді є взаємодія антигену з антитілом та їх поступова елімінація з організму. Для цього нами досліджувалась динаміка вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Виходячи з одержаних даних, встановлено, що найбільш суттєве збільшення вмісту ЦІК в сироватці крові дослідних вівцематок спостерігалось через два тижні після ревакцинації (64,8-76,9%; $p < 0,01$). Поступово різниця між контрольною та дослідною групами зменшувалась. При дослідженні вмісту імунних комплексів у сироватці крові вівцематок, яким вводили препарат, нами було встановлено достовірне зростання даних структурних утворень після першої імунізації. Це можна розглядати як підвищення ефективності імунної відповіді. Однак, через 14 днів після ревакцинації та до кінця дослідження відмічалось зменшення кількості ЦІК у крові даних тварин у порівнянні з тваринами, яким не вводили Нукливет. Це може свідчити про зростання швидкості елімінації цих комплексів з організму, зменшення негативних наслідків імунізації, що в цілому узгоджується з іншими результатами, які ми одержали при дослідженні імуноглобулінів та серомукоїдів.

Оскільки кінцевою метою наших досліджень було встановлення змін при введенні Нукливету, який містить дріжджеву РНК, то було б доцільним дослідити динаміку вмісту кінцевого продукту обміну азотистих основ - вміст сечової кислоти. Як видно з результатів досліджень, у сироватці крові вівцематок дослідних груп вміст сечової кислоти зростав вже після першого введення вакцини. Це зростання становило 46,3-69,4% і було статистично достовірним ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем. Тенденція до зростання спостерігалась впродовж всього періоду досліджень. На нашу думку, збільшення вмісту сечової кислоти є наслідком прискорення обміну речовин, а також руйнування клітин у результаті реакцій клітинного імунітету. Порівнюючи результати досліджень дослідних груп тварин, слід зазначити, що спостерігалось збільшення вмісту цього продукту в сироватці крові вакцинованих тварин, яким вводили препарат по відношенню до вівцематок першої дослідної групи. Таке збільшення можна пояснити утилізацією екзогенної РНК, яка міститься у складі препарату, а також включенням у процес імунної відповіді більшої кількості макрофагів, сприяло покращенню параметрів імунітету в тварин даної групи.

Таким чином, аналіз всіх даних дає можливість зробити попередні узагальнення. В крові імунованих тварин спостерігається збільшення синтезу імуноглобулінів після першої вакцинації. Після повторної вакцинації відмічається значне зменшення вмісту імунних білків, який, в подальшому, дещо підвищується, що, на нашу думку, є результатом двох процесів: переходу імуноглобулінів із сироватки крові у молозиво, безпосередньо перед окотом у вівцематок, з іншого боку - максимальним рівнем запальних процесів, про що свідчить найвищий рівень накопичення серомукоїдів та циркулюючих імунних комплексів у період після ревакцинації. Таким чином, цей період (в межах двох тижнів після ревакцинації) можна вважати одним із критичних у формуванні імунної відповіді при введенні антигенних препаратів. Застосування препарату Нукливет позитивно і суттєво впливає на перебіг вищезазначених процесів.

Висновки. 1. При імунізації вівцематок проти колибактеріозу молодняка сільськогосподарських тварин у забрудненій радіоактивними речовинами зоні спостерігається зростання імуносупресорних реакцій впродовж 14-ти діб після ревакцинації.

2. Препарат Нукливет-ін'єкційний проявляє імунomodуючу дію, яка полягає у зменшенні запальних процесів та збільшенні синтезу імунних білків при щепленні.

3. Нукливет може бути запропонований до застосування як імунomodлятор при щепленнях вівцематок, особливо в несприятливих екологічних умовах довкілля.

Список літератури

1. Урбан В.П. Иммунопрофилактика инфекционных болезней животных. // Пробл. вет. иммунологии: Науч. тр. / ВАСНИЛ – М.: Агропромиздат, 1985.– С. 13-17.
2. Медуницын Н.В. Побочное действие вакцин // Иммунология.-1995.- № 2.- С.6-8.
3. Чумаченко В.Ю. Резистентність тварин і фактори, що впливають на її стан. // Вет. медицина України.-1997.- №3.- С.23-25.
4. Малков С.В. Иммуноморфологические показатели телят, иммунизированных вакциной из шт. 82 в разных экологических условиях Свердловской области: Автореф. дис. канд. вет. наук.: 16.00.03. – Барнаул, 1999. – 24 с.
5. Донник И.М., Смирнов П.И. Экология и здоровье животных: Екатеринбург: Из-во ИРА УТК, 2001. – 331 с.
6. Лютых В.П., Долгих А.П. Неостохастические эффекты длительного хронического облучения человека ионизирующим излучением в малых дозах // Мед. радиол. и радиацион. безопасность. – 1997. – Т. 42, №3. – С. 51–58.
7. Фролькин В.В. Мембранно-геномный механизм повреждения клеток при действии ионизирующего излучения. // Тези доп. 3-го радіобіологічного з'їзду. – К., 1993. – Т.3. – С.10-56.
8. Фукс П.П., Романько М.Е., Руденко Е.П. Біохімічні аспекти порушень гомеостазу організму корів в умовах радіоактивного навантаження // Вет. медицина. – 1999. – Вип 76. – С.222-225
9. Ярилин А.А., Шарый Н.И. Иммуниет и радиация. – М.: Знание, 1991. – 247 с.
10. Белов А.Д., Киршин В.А. Ветеринарная радиобиология. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1987. – 287 с.
11. Пінський О.В. Вплив препарату Нукливет на імунну відповідь при щепленні овець // Вісник ДАУ.- 2002. - №2.- С. 179-182.
12. Кармолиев Р.Х. Роль иммуносупресорных белков в системе иммунитета у крупного рогатого скота. // Ветеринария. – 1991. - № 8. – С.23-24.

ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРА НА НЕКОТОРЫЕ ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА ОВЦЕМАТОК ПРИ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА В УСЛОВИЯХ ПОСТОЯННОГО ДЕЙСТВИЯ МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ

Головко А.Н., док. вет. наук

ГНКИБШМ, г. Киев

Пинский О.В., ассис.,

Чала И.В., канд. биол. наук

Государственный агроэкологический университет, г. Житомир

Резюме

Статья посвящена исследованию динамики иммунобиохимических показателей крови иммунизированных овцематок при применении иммуномодулятора в условиях постоянного действия малых доз ионизирующего излучения. Установлено, что при иммунизации котных овцематок, которые содержались в загрязненной радиоактивными веществами зоне, наблюдались иммуносупрессорные реакции. Применение иммуномодулятора Нукливет положительно влияет на обмен веществ, улучшает функциональную деятельность иммунной системы.

INFLUENCE OF IMMUNOBIOCHEMICAL INDICES OF EWES BODY RESISTANCE
WHEN VACCINATING THEM AGAINST COLIBACTERIOSIS UNDER THE
CONDITIONS OF PERMANENT EFFECT OF LOW DOSE IONIZING RADIATION

Golovko A.M., DVM

State Scientific Control Institute of Biotechnology and Microorganism Strains, Kyiv

Pins'kiy O.V., post-graduate student,
Chala I.V., Cand. Sc. (Biology)

State Agroecological University, Zhitomir

Summary

Paper presents the investigations into the dynamics of immunobiochemical blood indices in ionized ewes when applying immunomodulator under the conditions of permanent effect of low dose ionizing radiation. It has been established that ionized pregnant ewes kept in the radiocontaminated zone show immunosuppressive response. Application of Nuklivet immunomodulator favorably effects metabolism and improves the immune system functional activity.