

СТАН ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКСИДАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА ДІЇ ЛІПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ

М. І. Харів
chariv_ii@ukr.net

Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

У статті наведено результати досліджень впливу розробленого комплексного ліпосомального препарату на динаміку показників гуморальної ланки природної резистентності у щурів за змодельованого оксидативного стресу, який викликали застосуванням тетрахлорметану.

Доведено, що внутрішньом'язова ін'єкція щурам дослідних груп 50 % олійного розчину тетрахлоретану у дозі 0,25 мл на 100 г маси тіла тварини зумовлює антигенне навантаження на організм та призводить до підвищення напруженості гуморальної ланки природної резистентності. На це вказує зростання вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові уражених тварин впродовж усього періоду досліджень. На чотирнадцяту добу рівень ЦІК становив 93 ммоль/л, що у 2,2 разу більше від початкових величин контрольної групи. Поряд із цим, виявили зниження бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові на 10-у і 14-у добу досліджень. Якщо на другу добу експерименту встановили підвищення бактерицидної активності сироватки крові (БАСК) на 6,6 %, а лізоцимної активності сироватки крові (ЛАСК) — на 7,25 %, то на 14-у добу дослідіу бактерицидна активність в біологічному об'єкті крові щурів першої дослідної групи знизилася на 8,18 %, а лізоцимна активність сироватки крові — відповідно, на 3,95 %.

Для підвищення гуморальної ланки природної резистентності організму щурів за оксидативного стресу доцільно застосовувати ліпосомальний препарат, який містить бутафосфан, інтерферон, розторопшу плямисту та вітаміни. Після застосування ліпосомального препарату щурам за умов оксидативного стресу впродовж досліджень у крові відновлюється рівновага гуморальної ланки природної резистентності, а саме відсутні відхилення від норми показників бактерицидної і лізоцимної активності сироватки крові та рівня ЦІК. На 14-у добу дослідіу показники гуморальної ланки імунної системи у крові щурів дослідної групи коливалися у межах фізіологічних величин.

Ключові слова: ЩУРИ, ТЕТРАХЛОРЕТАН, ОКСИДАЦІЙНИЙ СТРЕС, БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ, ЛІЗОЦИМНА АКТИВНІСТЬ, ЦИРКУЛЮЮЧІ ІМУННІ КОМПЛЕКСИ, ЛІПОСОМАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ

STATUS OF INDICATORS OF HUMORAL LINK OF NATURAL IMMUNITY IN RATS UNDER OXIDATIVE STRESS AND ACTION OF LIPOSOMAL PREPARATION

М. Khariv
chariv_ii@ukr.net

Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies
named after S.Z.Gzhytsky,
50 Pekarska str., Lviv 79010, Ukraine

The article displays the results of the research of the influence of developed complex liposomal preparation on the dynamic indices of humoral links of natural resistance in rats. Under these conditions it was modeled an oxidative stress, which is caused by the use of carbon tetrachloromethane.

It was also proved that intramuscular injection of 50 % tetrachloromethane at a dose of 0.25 ml per 100 g of body weight applied to rats of the research groups determines the antigenic load on the body and increases the intensity of humoral link of natural resistance. This is indicated by the content increase of circulating immune complexes in serum throughout the period of research. On the 14th day the level of high-mentioned index was 93 mmol/l, which is 2.2 times more than the initial values of the control group. At the same time it was found a decrease of bactericidal activity and lysozyme activity of serum on the 10th and 14th day of re-

search. On the 2nd day of research the increase of bactericidal activity of serum by 6.6 % and lizosyme activity of serum to 7.25 % was established and on the 14th day of experiment bactericidal activity in biological object of blood in rats of the 1st experimental group decreased by 8.18 % and lizosyme activity of serum — on 3.95 %.

To increase the humoral link of natural resistance of the rat organism at oxidative stress it is appropriate to use liposomal drug which contains butaphosphate, interferon, milk thistle and vitamins. After applying liposomal preparation to rats under conditions of oxidative stress during researches the normalization of humoral natural resistance occurs in the blood, namely there is no deviation from the normal indices of bactericidal and lizosyme activity in serum and the level of circulating immune complexes. On the 14th day of experiment the indices of humoral link of immune system in the blood of experimental rats ranged within physiological values.

Keywords: RATS, TETRACHLORMETANE, OXIDATIVE STRESS, BACTERICIDAL ACTIVITY, LIZOCIMIC ACTIVITY, LIPOSOMAL PREPARATION

СОСТОЯНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ПРИРОДНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОКСИДАЦИОННОГО СТРЕССА И ДЕЙСТВИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА

М. И. Харив
chariv_ii@ukr.net

Львовский национальный университет ветеринарной медицины
и биотехнологий имени С. З. Гжицкого,
ул. Пекарская 50, г. Львов, 79010, Украина

В статье приведены результаты исследований влияния разработанного комплексного липосомального препарата на динамику показателей гуморального звена естественной резистентности у крыс. В этих условиях смоделирован оксидационный стресс, вызванный применением тетрахлорметана.

Доказано, что инъекция крысам исследовательских групп 50 % тетрахлорметана в дозе 0,25 мл на 100 г массы тела животного вызывает антигенную нагрузку на организм и приводит к повышению напряженности гуморального звена естественной резистентности. На это указывает рост содержания циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови в течение всего периода исследований. На 14-е сутки уровень вышеупомянутого показателя составил 93 ммоль/л, что в 2,2 раза больше первоначальных величин контрольной группы. Наряду с этим выявлено снижение бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови на 10-е и 14-е сутки исследований. Если на вторые сутки исследований установили повышение бактерицидной активности сыворотки крови на 6,6 %, а лизоцимной активности — на 7,25 %, то на 14-е сутки опыта бактерицидная активность в биологическом объекте крови крыс первой опытной группы снизилась на 8,18 %, а лизоцимной активности — соответственно, на 3,95 %.

Для повышения гуморального звена естественной резистентности организма крыс в условиях оксидационного стресса целесообразно применять липосомальный препарат, который содержит бутафосфан, интерферон, расторопшу пятнистую и витамины. После применения липосомального препарата крысам в условиях оксидационного стресса в течение исследований в крови наступает нормализация гуморального звена естественной резистентности, а именно отсутствуют отклонения от нормы показателей бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови и уровня циркулирующих иммунных комплексов. На 14-е сутки опыта показатели гуморального звена иммунной системы в крови опытных крыс колебались в пределах физиологических величин.

Ключевые слова: КРЫСЫ, ОКСИДАЦИОННЫЙ СТРЕСС, БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ, ЛИЗОЦИМНАЯ АКТИВНОСТЬ, ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ, ЛИПОСОМАЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТ

Найбільшою проблемою у тваринництві на сьогоднішні є зниження імунобіологічної реактивності у постнатальний період розвитку та дія антропогенних чинників, які

дестабілізують метаболічні процеси в організмі, призводять до зниження природної резистентності, імунodefіциту і в окремих випадках до загибелі [1, 2]. Відповідно до сучасних до-

сліджень, встановлено, що стійкість організму тварин до захворювань здійснює імунна система, головною функцією якої є розпізнавання та знешкодження чужорідних речовин для підтримання стабільності генетичного гомеостазу організму. Серед багатьох факторів, що негативно впливають на імунну систему тварин, важливе місце займають різні імунодепресанти, які пригнічують імунну систему. За цих умов розвивається імунодефіцитний стан. Власне тому організм може уражатися вторинною бактеріальною або вірусною інфекціями [3, 4]. Для підвищення адаптаційної здатності й імунобіологічної реактивності організму тварин в останні роки успішно використовують нові комплексні препарати [5, 6]. Окремими авторами встановлено стимулювальний вплив бутафосфану, розторопші, вітамінів на активність імунної та антиоксидантної системи у сільськогосподарських тварин [7–9]. Однак метаболічна дія цих препаратів на імунну систему на сьогодні у науковій літературі висвітлена недостатньо. Наведене вище обґрунтовує доцільність дослідження впливу комплексного ліпосомального препарату, до складу якого входять бутафосфан, інтерферон, розторопша та вітаміни, на формування гуморальної ланки імунної відповіді у тварин за умов оксидативного стресу.

Матеріали і методи

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

Для досліджень було сформовано три групи щурів по 20 тварин у кожній. Щурам першої і другої дослідних груп (D_1 і D_2) для отримання оксидативного стресу на першу і третю добу досліджень вводили внутрішньом'язово 50 % тетрахлорметан у формі олійного роз-

чину в дозі 0,25 мл на 100 г маси тіла тварин за методикою О. В. Стефанова (2002). Щоденне зважування дозволило чітко дотримуватися дії препарату у вищевказаній дозі протягом усього експерименту. Тварини контрольної групи отримували аналогічний об'єм фізіологічного розчину. Теоретично можливий вплив води на аналізовані геметологічні і біохімічні показники був однаковим як у дослідній, так і в контрольній групах тварин. Другій дослідній групі тварин на першу і третю доби досліджень за годину після введення тетрахлоретану додатково вводили ліпосомальний препарат у розрахунку 2 мл на 1 кг маси тварини. До складу цього препарату входять такі речовини: бутафосфан, інтерферон, розторопша ін'єкційна та вітаміни А, Е і D_3 . Кров для біохімічних та гематологічних досліджень забирали з яремної вени на другу, п'яту, десятую та п'ятнадцяту доби експерименту під слабким ефірним наркозом.

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.).

У роботі використовували всі реактиви корпорації *Sigma-Aldrich* (США). Одержані результати обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми *OriginPro 8* з використанням t-критерію Ст'юдента. Вірогідно різними результати вважалися при $P < 0,05$.

У сироватці крові фотонейлометрично визначали бактерицидну активність сироватки крові (БАСК) і лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК). Як тест-мікроб використовували добову культуру *Mc. Lisofericticus*. Циркуючі імунні комплекси визначали за методом Гриневича і Альферова [9–12].

Результати й обговорення

Результати досліджень показників гуморального імунітету щурів за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату наведені на *Рисунках 1–3*. Встановлено, що після розвитку оксидативного стресу у щурів, викликаного введенням тетрахлоретану (група D_1), показники гуморальної

ланки неспецифічної резистентності дещо відрізнялися від показників контрольної групи щурів. Так, на 2-у добу дослідів встановлено зростання лізоцимної активності сироватки крові на 7,25 % відносно контрольної групи (Рис. 1). Відомо, що лізоцим є одним із важливих показників природної резистентності організму. До того ж, лізоцим лізе мікроорганізми та токсини, що потрапили в організм. На цю добу дослідів за оксидативного стресу слід відзначити також зростання бактерицидної активності сироватки крові на 6,6 % (Рис. 2). БАСК — це показник природної резистентності організму гуморального типу. Бактерицидність крові пов'язана з наявністю в ній специфічних протеїнів, які здатні спричиняти загибель бактеріальних клітин або нейтралізувати токсини різної етіології. Важливим показником імунного стану організму є рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). У щурів Д₁ на другу добу дослідів за оксидативного стресу рівень ЦІК у сироватці крові був у 2 рази вищим порівняно із показниками клінічно здорових тварин.

За умов оксидативного стресу та після дії ліпосомального препарату у щурів групи Д₂ на другу добу дослідів нами встановлено вірогідне зростання ЛАСК на 9 % і БАСК на 16,6 %. Рівень ЦІК у вказаний період дослідів був вищим на 58,5 % порівняно з показниками клінічно здорових щурів (Рис. 3).

Подібні зміни показників гуморальної ланки природної резистентності за умов оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату у сироватці крові щурів відзначаємо на п'яту добу дослідів. Так, показник лізоцимної активності сироватки крові у щурів групи Д₁ за умов оксидативного стресу становив 42 %, тим часом у тварин контрольної групи він дорівнював 35,25 %. Бактерицидна активність сироватки крові у щурів групи Д₁ на п'яту добу дослідів, відповідно, становила 39,01 %, а у тварин контрольної групи — 30,77 %. Рівень циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові щурів групи Д₁ на цей час дослідів був досить високим і становив 93,33 ммоль/л, у контрольної групи тварин цей показник, відповідно, становив 42,25 ммоль/л. У щурів групи Д₂ на

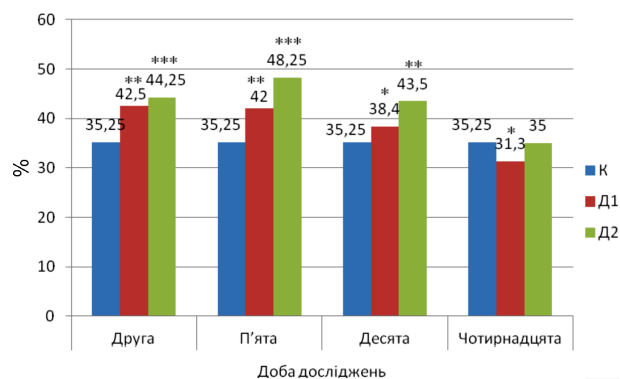


Рис. 1. Лізоцимна активність сироватки крові щурів за умов оксидативного стресу та після дії ліпосомального препарату
Fig. 1. lysozyme activity of serum in rats under oxidative stress and after action of liposomal preparation

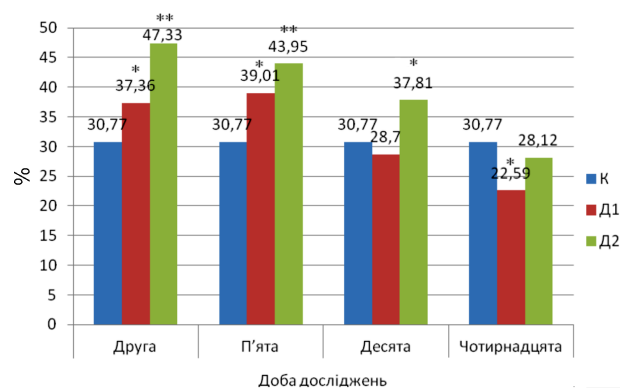


Рис. 2. Бактерицидна активність сироватки крові щурів за умов оксидативного стресу та після дії ліпосомального препарату
Fig. 2. Bactericidal activity of serum in rats under oxidative stress and after action of liposomal preparation

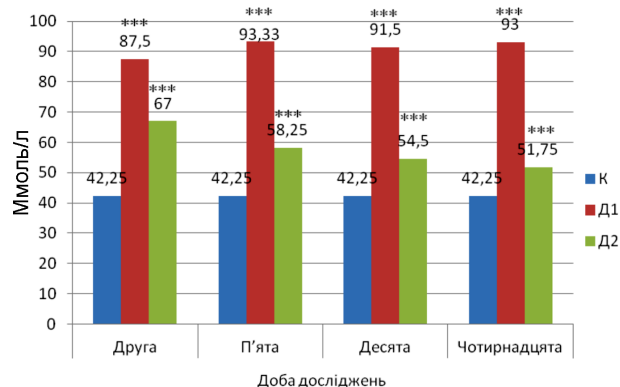


Рис. 3. Циркулюючі імунні комплекси у крові щурів за умов оксидативного стресу та після дії ліпосомального препарату
Fig. 3. Circulating immune complexes in blood of rats under oxidative stress and after action of liposomal preparation

п'яту добу експерименту за умов оксидативного стресу та після дії ліпосомального препарату показники ЛАСК і БАСК були дещо вищими порівняно з показниками другої доби досліджень і становили, відповідно, 48,25 % і 43,95 %, у тварин контрольної групи вони були, відповідно, 35,25 % і 30,77 %. Рівень ЦІК у цей же період дещо знизився порівняно з показником на другу добу досліджень і становив 58,25 ммоль/л, у тварин контрольної групи — 42,25 ммоль/л.

Зниження показників гуморальної ланки природної резистентності за умов оксидативного стресу у сироватці крові щурів ми відзначаємо на десяту добу досліджень. Так, показник ЛАСК у щурів групи D_1 знизився до 38,44 %, показник БАСК становив 28,7 %. Слід відзначити незначне зменшення рівня ЦІК у вказаний період дослідження, який становив 91,5 ммоль/л, у щурів контрольної групи тварин цей показник дорівнював 42,25 ммоль/л. У щурів групи D_2 у вказаний період дослідження за умов оксидативного стресу та після дії ліпосомального препарату відзначаємо поступову нормалізацію антимікробної активності сироватки крові. Так, показники ЛАСК і БАСК, відповідно, становили 43,5 % і 37,81 %, тоді як у щурів контрольної групи ці показники були у межах величин 35,25 % і 30,77 %. На десяту добу досліджень у щурів другої дослідної групи відзначаємо зниження рівня циркулюючих імунних комплексів до 54,5 ммоль/л.

На чотирнадцяту добу досліджень за умов оксидативного стресу у щурів групи D_1 виявили пригнічення гуморальної ланки імунного захисту. Так, відзначаємо зниження показників ЛАСК і БАСК, відповідно, на 3,95 % і 8,18 % порівняно з тваринами контрольної групи. Натомість на цю добу досліджень досить високим залишався рівень ЦІК — 93,0 ммоль/л, у контрольної групи щурів цей показник дорівнював 42,25 ммоль/л. За умов оксидативного стресу та після дії ліпосомального препарату у щурів групи D_2 на цю добу дослідів встановили нормалізацію показників гуморальної ланки імунного захисту. Зокрема, в межах фізіологічних величин були показники ЛАСК і БАСК у тварин групи D_2 .

Отже, проведенні дослідження показали, що введення щурам тетрахлоретану спричиняє антигенне навантаження на організм, про що свідчить зростання циркулюючих імунних комплексів. При цьому в організмі уражених тварин відбувається напруження гуморальних факторів неспецифічної резистентності організму — бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові. Особливо ці зміни були виражені у сироватці крові щурів на 2-у та 5-у добу експерименту. При цьому на основі наших досліджень встановлено позитивну дію ліпосомального препарату на організм щурів, за умов експериментальної інтоксикації тетрахлоретаном. Це проявляється посиленням гуморальної ланки імунної відповіді і зниженням антигенного навантаження.

Висновки

1. За умов отруєння щурів тетрахлорметаном упродовж досліджень гуморальної ланки імунної відповіді організму на другу добу досліджень відзначали підвищення БАСК на 6,6 %, ЛАСК — на 7,25 % та ЦІК — у два рази, а на 14-у добу виявили вірогідне зниження БАСК і ЛАСК, відповідно, на 8,18 % і 3,95 %. При цьому вміст ЦІК залишався на досить високому рівні і становив 93 ммоль/л, що у 2,2 разу більше, ніж у тварин контрольної групи.

2. Після застосування новоствореного ліпосомального препарату щурам за умов оксидативного стресу встановлено вищу БАСК і ЛАСК на 2-у, 5-у і 10-у доби експерименту і знижену активність цих показників на 14-у добу. Констатовано зниження вмісту ЦІК у сироватці крові упродовж цього експерименту, що вказує на позитивний лікувальний ефект препарату.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати досліджень будуть застосовані у подальшому вивченні впливу ліпосомального препарату на показники клітинної ланки імунного захисту крові щурів за умов оксидативного стресу.

1. Chumachenko V. Y, Chumachenko V. V, Pavlenko O. I. Study of the immune system. The mechanisms of body defense. *Veterinary Medicine of Ukraine*, 2004, № 4, pp. 23–26. (in Ukrainian)

2. Chumachenko V. Y, Chumachenko V. V, Pavlenko O. I. Study of the immune system. Factors that have an influence on the resistance of animals. *Veterinary Medicine of Ukraine*, 2004, № 5, pp. 33–37. (in Ukrainian)

3. Bessonov A. S. Immunity and immunosuppression in parasitic diseases. *Tr. All-Russian inst. helminthology named after K. I. Scriabin*, 2004, V. 40, pp. 44–45. (in Russian)

4. Kozhokov M. K., Alabov A. M. Immune biochemical parameters of blood at associative illnesses of poultry. *Tr. All-Russian Institute of helminthology named after K. I. Scriabin*, 2008, V. 37, pp. 191–194. (in Russian)

5. Sodomov N. A. Effect of vitamins A, E and C on the natural resistance of poultry. *Veterinary Medicine*, 2003, № 2, pp. 47–48. (in Ukrainian)

6. Wang W., Wideman R. F. Jr., Bersi T. K., Erf G. F. Pulmonary and hematological immune responses to intravenous cellulose micro-particles in broilers. *Poult. Sci.*, 2003, V. 82, pp. 771–780.

7. Khariv I. I. State of the immune system of turkeys affected with eymerioze-histomonozie invasion. *Scientific herald of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytsky*, 2011, V. 13, № 4 (50), Part 1, pp. 481–484. (in Ukrainian)

8. Khariv I. I. Protein synthesis of liver in intact turkeys on the base of brovitakoxides and milk thistle. *Scientific and technical report of Institute of animal biology and State research control institute of veterinary preparation and feed additives*, Lviv, 2012, Pub. 13, № 3–4, pp. 258–262. (in Ukrainian)

9. Batakov E. A. Effect of Silibum marianum oil and legalon on lipid peroxidation and liver antioxidant systems rats intoxicated with carbon tetrachloride. *Eksp. Klin. Farmakol.*, 2001, № 64, pp. 53–57.

10. Chumachenko N. A., Sudakov V. I. Guidelines to the physico-chemical, morphological, biochemical and immunological studies of blood of farm animals. Kyiv, 1991, 180 p. (in Ukrainian)

11. Grynevych Y. A., Alferov N. I. Determination of immune complexes in the blood of cancer patients. *Lab. case*, 1981, p. 493–495. (in Ukrainian)

12. Vlizlo V. V., Fedoruk R. S., Ratych I. B. Laboratory methods of investigation in biology, stockbreeding and veterinary: reference book. 2012, 764 p. (in Ukrainian)