

научных трудов по материалам Международной научной конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и интенсивного животноводства», г. Витебск, 26-27 сентября 2002 г. / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2002. – Т. 38, ч. 2. – С. 127–130.

Статья передана в печать 06.12.2016 г.

УДК 612.128.618.019

ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА У СОБАК ПРИ ВВЕДЕНИИ МЕТИСАЗОНА И АЛЬБУВИРА В ФОРМЕ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЭМУЛЬСИИ

*Брошков М.М., **Трокоз В.А., **Трокоз А.В., ***Радчиков В.Ф.

*Международный гуманитарный университет, г. Одесса, Украина

**Национальный университет биоресурсов и природопользования, г. Киев, Украина

***РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»,
г. Жодино, Республика Беларусь

Способность липосом содержать в себе различные вещества практически без ограничений в отношении их химической природы, свойства и размера молекул предоставляет уникальные возможности для решения некоторых медицинских проблем. Включение лекарственных препаратов в липосомы может значительно повысить их терапевтическую эффективность. Оценка динамики иммунологических показателей в организме собак показала, что, в отличие от клеток цитотоксического действия (Т-супрессоры и НК-клетки), динамика фагоцитарной активности нейтрофилов характеризовалась тем, что после двукратного введения альбувира этот показатель постепенно увеличивался. При однократном введении метисазона в липосомальной эмульсии сначала привело к значительному увеличению фагоцитарной активности нейтрофилов, а повторное – вызвало снижение этого показателя. Однократное применение собакам биологически активного вещества метисазон в форме липосомальной эмульсии оказывает антипролиферативное действие на Т-лимфоциты, а относительное количество НК-клеток при этом увеличивается на 40% ($p < 0,01$). Повторное введение данного средства приводит к увеличению относительного количества Т-супрессоров в 3,8 раза ($p < 0,01$) и уменьшает фагоцитарную активность нейтрофилов в 2,6 раза ($p < 0,001$). Следует также отметить, что начальные значения фагоцитарной активности нейтрофилов отличались и, возможно, это также повлияло на специфичность динамики показателя активности нейтрофилов к фагоцитозу. Одновременно повышается содержание в сыворотке крови собак витаминов Е на 1,69 мкг/мл ($p < 0,01$) и А – на 0,3 мкг/мл ($p < 0,01$) после первого введения и на 2,13 мкг/мл ($p < 0,01$) и 0,14 мкг/мл ($p < 0,001$) соответственно – после второго введения. **Ключевые слова:** Т-хелперы, Т-супрессоры, фагоцитарная активность нейтрофилов, НК-клетки.

DYNAMICS OF SOME IMMUNITY INDICATORS AT DOGS AT INTRODUCTION OF METISAZONE AND ALBUVIR IN THE LIPOSOMAL EMULSION FORM

*Broshkov M.M., **Trokoz V.O., **Trokoz A.V., ***Radchikov V.F.

*International Humanitarian University, Odessa, Ukraine

**National University of Live and Environmental Science of Ukraine, Kiev, Ukraine

**Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus of Animal Husbandry,
Zhodino, Republic of Belarus

The ability of liposomes to contain various substances with virtually no limitations in terms of their chemical nature, properties and molecular size provides unique opportunities for solving some medical problems. The inclusion of drugs in liposomes can significantly increase their therapeutic effectiveness. Evaluation of dynamics of immunological parameters in dogs showed that, in contrast to cytotoxic action cells (T suppressors and NK-cells), dynamics of phagocytic activity of neutrophils was characterized by the fact that after double introduction of albuvir this index gradually increased. With introduction of metisazone, single administration of it in liposomal emulsion first led to a significant increase in the phagocytic activity of neutrophils, and repeated – caused a decrease in this index. A single application to dogs of the biologically active substance metisazone in the form of a liposome emulsion has an antiproliferative effect on T-lymphocytes, and the relative amount of NK cells increases by 40% ($p < 0,01$). The repeated administration of this agent leads to an increase in the relative amount of T suppressors by 3.8 times ($p < 0,01$) and reduces the phagocytic activity of neutrophils by a factor of 2.6 ($p < 0,001$). It should also be noted that the initial values of phagocytic activity of neutrophils differed and, perhaps, this also affected the specificity of the neutrophil activity index dynamics to phagocytosis. At the same time, the content of vitamin E in the serum of dogs' blood is increased by 1.69 $\mu\text{g/ml}$ ($p < 0,01$) and A – by 0.3 $\mu\text{g/ml}$ ($p < 0,01$) after the first administration and by 2.13 $\mu\text{g/ml}$ ($p < 0,01$) and 0.14 $\mu\text{g/ml}$ ($p < 0,001$), respectively, after the second administration. **Keywords:** T-helpers, T-suppressors, phagocytic activity of neutrophils, NK-cells.

Введение. В 70-е годы прошлого столетия резко увеличился интерес к веществам, которые стимулируют иммунитет. Связано это с тем, что иммуностимуляторы оказались эффективными при лечении опухолей, хронических инфекций и аутоиммунных процессов [7].

Согласно исследованиям, эффективным методом иммунокоррекции является использование липосомальных эмульсий [3]. Первые попытки включения в липосомы ферментов были предприняты в 1971 г. В дальнейшем разрабатывались липосомальные формы некоторых противоопухолевых препаратов, анти-

биотиков, гормонов [6]. Сегодня направление практического использования липосом развивается очень активно. Способность липосом содержать в себе различные вещества практически без ограничений в отношении их химической природы, свойств и размера молекул предоставляет уникальные возможности для решения некоторых медицинских проблем [1, 5].

Включение лекарственных препаратов в липосомы может значительно повысить их терапевтическую эффективность, поскольку, с одной стороны, препарат, который содержится в липосоме, защищен ее мембраной от действия неблагоприятных факторов, а с другой – та же мембрана не позволяет токсическому препарату превысить допустимую концентрацию в биологических жидкостях организма [2, 4]. Липосомы эффективно защищают включенные в них вещества от контакта с ферментными системами организма, предотвращая преждевременную инактивацию препарата [8, 9]. Таким образом, благодаря липосомам появляется новый способ направленного воздействия на клетку, который можно назвать «мембранной инженерией».

Как носители лекарственных препаратов липосомы, имеют ряд преимуществ: они защищают клетки организма от токсического действия лекарственных средств, пролонгируют действие введенного в организм лекарственного средства, защищают лекарственные вещества от деградации, способствуют направленной специфичности за счет селективной проницаемости из крови в ткани, изменяют фармакокинетику лекарственных препаратов, повышая их фармакологическую эффективность, позволяют создавать водорастворимую форму ряда лекарственных субстанций, таким образом увеличивая их биодоступность [9, 10].

Цель исследования – выяснить влияние метисазона и альбувира в форме липосомальной эмульсии на некоторые показатели врожденного и адаптивного иммунитета организма собак.

Материалы и методы исследований. Эксперимент проводили на беспородных собаках в возрасте от 6–12 месяцев, средняя масса тела которых составляла 10–14 кг. Исследования проводили на 9 животных. Собакам I опытной группы (n=3) подкожно в области холки вводили альбувир в форме липосомальной эмульсии в дозе 0,1 мл/кг массы тела, дважды, с интервалом 72 часа. Животным II опытной группы (n=3) подкожно вводили метисазон в форме липосомальной эмульсии в дозе 0,1 мл/кг массы тела по такой же схеме. Животные III группы служили контролем. Метисазон – средство, которое обладает широким диапазоном терапевтического воздействия за счет противовирусного, противовоспалительного (антигистаминного), бактериостатического, фунгистатического, анальгезирующего и иммуномодулирующего действия. Альбувир является противовирусным средством широкого спектра действия, эффективен при профилактике и лечении вирусных заболеваний, вызванных ДНК- и РНК-вирусами, цикл репродукции которых зависит от клеточного ядра. В состав липосомальных эмульсий, кроме структурных компонентов и основных биологических веществ иммуностропного действия, также входят жирорастворимые витамины А и Е, содержание которых в сыворотке крови определяли хроматографическим методом [10]. Популяционный состав лимфоцитов крови определяли методом розеткообразования с эритроцитами барана [10]. Тест фагоцитоза проводили так же, как и Е-розеткообразования, но вместо суспензии эритроцитов барана добавляли 0,06 мл 0,1%-ной суспензии клеток пекарских дрожжей, предварительно убитых нагреванием. В препаратах подсчитывают количество фагоцитирующих нейтрофилов на 50 клеток. Фагоцитирующей считали клетку-нейтрофил, поглотившую одну и более дрожжевых клеток [10]. Количество киллерных клеток подсчитывали с помощью универсального метода морфологического исследования крови [10].

Результаты исследований. На рисунке 1 представлены данные изменения концентрации витамина Е в сыворотке крови собак при введении биологически активных веществ в форме липосомальной эмульсии.

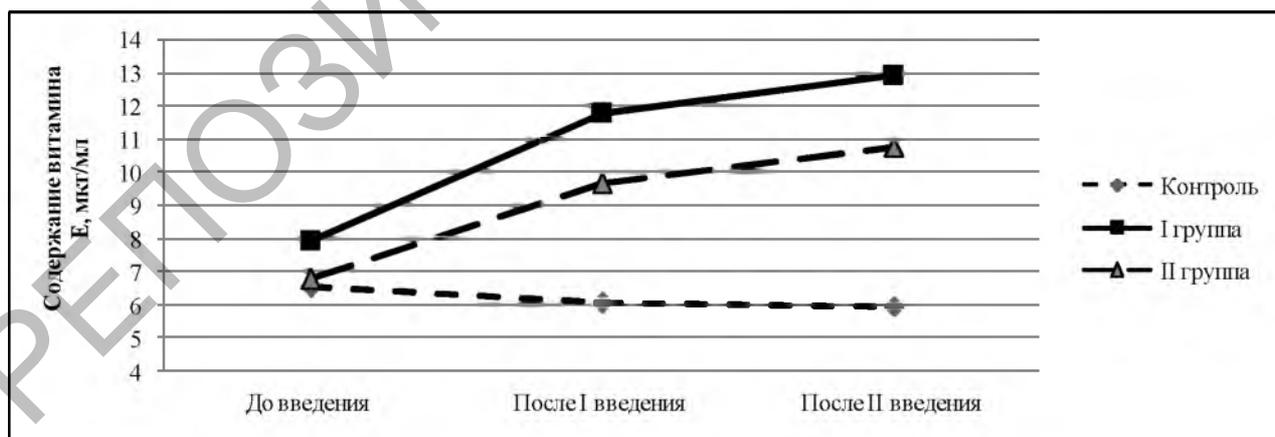


Рисунок 1 – Динамика содержания витамина Е в сыворотке крови собак при введении липосомальных эмульсий, мкг/мл, n=3

Из представленных данных видно, что у собак III контрольной группы в течение эксперимента концентрация этого витамина имела тенденцию к незначительному уменьшению. Так, при начальной концентрации 6,53 мкг/мл уменьшение произошло до 5,94 мкг/мл. Разница составила 0,59 мкг/мл и была не существенной. Оценка этого показателя в I и II опытных группах показала тенденцию к увеличению содержания витамина Е.

При этом следует отметить, что в I группе увеличение произошло на 4,98 мкг/мл, а во II – на 4,01 мкг/мл. После первой инъекции липосомальной эмульсии наблюдали более выраженное увеличение содержания витамина Е в сыворотке крови, чем после второй.

Анализ содержания витамина А в сыворотке крови собак при введении липосомальной эмульсии представлен на рисунке 2.

Тенденцию к снижению содержания витамина А в сыворотке крови также наблюдали у животных контрольной группы, как и с содержанием витамина Е. Нашими исследованиями установлено, что у собак опытной группы в течение эксперимента, а именно при двукратном введении липосомальной эмульсии, произошло более выраженное увеличение содержания витамина А с 0,701 до 1,09 мкг/мл, то есть на 0,381 мкг/мл. В то же время у животных II опытной группы (с 1,02 до 1,14 мкг/мл) концентрация увеличилась на 0,12 мкг/мл.

Учитывая, что наиболее реактогенными клетками адаптивного иммунитета является популяция Т-клеток, а именно их субпопуляции – Т-хелперы и Т-супрессоры и от их адекватного взаимодействия (иммунорегуляторный индекс) будет зависеть иммунореактивность клеточного звена иммунитета, нами отдельно была исследована динамика количества этих клеток в крови при введении биологически активных веществ в форме липосомальной эмульсии.

Рисунок 3 демонстрирует влияние биологически активных веществ на динамику количества Т-клеток с хелперной активностью в крови собак при введении липосомальной эмульсии.

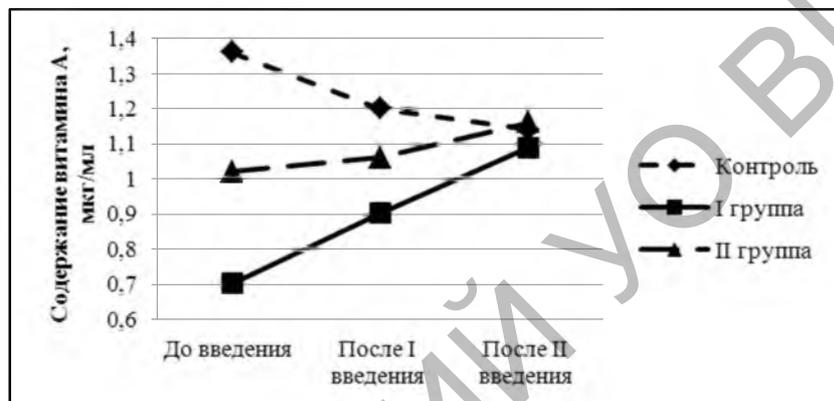


Рисунок 2 – Динамика содержания витамина А в сыворотке крови при введении липосомальной эмульсии, мкг/мл, n=3

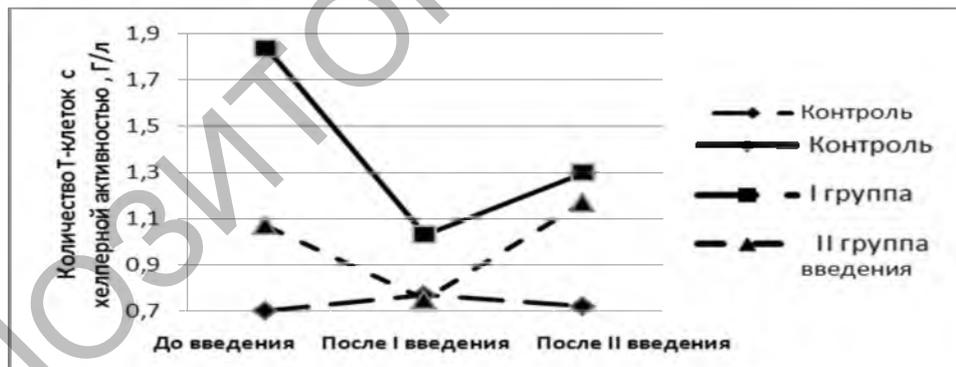


Рисунок 3 – Динамика количества Т-клеток с хелперной активностью в крови собак, Г/л, n=3

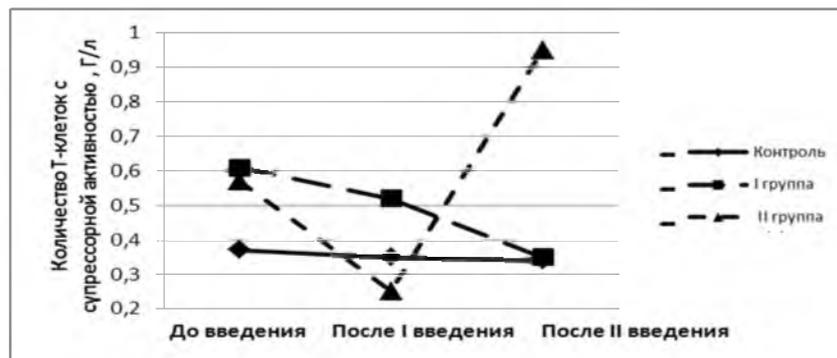


Рисунок 4 – Динамика количества Т-клеток с супрессорной активностью в крови собак, Г/л, n=3

Установлено, что антипролиферативный эффект имели все исследованные препараты уже после первого введения. Однако повторное введение сопровождалось повышением количества клеток этой субпопуляции. Подобную динамику при введении липосомальной эмульсии наблюдали также по количеству Т-клеток с супрессорной активностью (рисунок 4).

Так, однократное введение препаратов у животных обеих опытных групп сопровождалось снижением количества этих клеток. После повторного введения препаратов в I опытной группе (при введении альбумира) снижение продолжалось, а во II группе наблюдали значительное увеличение этого показателя.

Итак, на субпопуляцию Т-супрессоров биологически активные вещества иммуотропного действия, входящие в состав липосомальной эмульсии, оказывали различное влияние, что должно быть учтено при их использовании для иммунокоррекции.

Другими, не менее важными показателями адаптивного иммунитета является количество NK-клеток и фагоцитарная активность нейтрофилов. При анализе динамики NK-клеток (рисунок 5) при введении липосомальной эмульсии, наблюдали результаты, сходные с динамикой Т-супрессоров у животных и исследовательской группы, то есть отмечали вероятен антипролиферативный эффект выражалось уменьшением количества клеток в течение опыта. У животных II опытной группы (метисазон) однократное введение препарата сопровождалось резким увеличением числа этих клеток, но при повторном введении наблюдалась тенденция к уменьшению. На рисунке 6 представлена динамика количества нейтрофилов, способных к фагоцитозу, при введении липосомальной эмульсии.

В отличие от Т-супрессоров и NK-клеток, динамика фагоцитарной активности нейтрофилов характеризовалась тем, что после двукратного введения альбумира их количество постепенно увеличивалось. Однократное введение метисазона в липосомальной эмульсии (II группа) сначала приводило к значительному увеличению фагоцитарной активности нейтрофилов, а повторное – вызвало снижение этого показателя. Начальные значения фагоцитарной активности нейтрофилов отличались и, возможно, это также повлияло на специфичность динамики показателя активности нейтрофилов к фагоцитозу. Следовательно, введение биологически активных веществ в форме липосомальной эмульсии имеет иммуномодулирующий эффект различного характера, что позволяет использовать эти препараты с целью коррекции иммунофизиологического состояния организма собак.

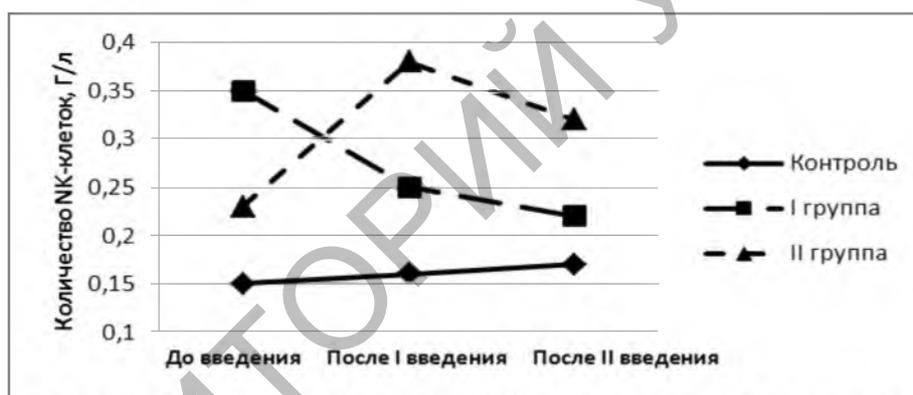


Рисунок 5 – Динамика количества NK-клеток в крови собак, Г/л, n=3

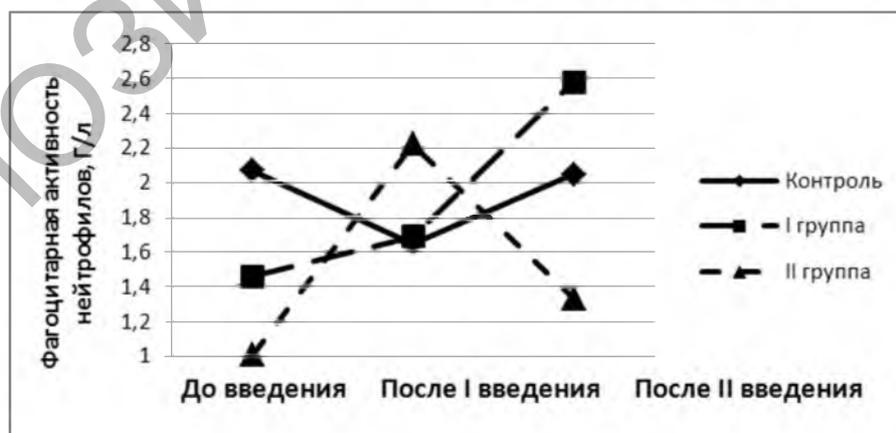


Рисунок 6 – Динамика фагоцитарной активности нейтрофилов в крови собак, Г/л, n=3

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что однократное применение собакам биологически активного вещества метисазон в форме липосомальной эмульсии оказывает антипролиферативное действие на Т-лимфоциты, а относительное количество NK-клеток при этом увеличивается на 40% ($p < 0,01$). Повторное введение метисазона приводит к увеличению относительного количества Т-супрессоров в 3,8 раза ($p < 0,01$) и уменьшает фагоцитарную активность нейтрофилов в 2,6 раза ($p < 0,001$).

Одновременно повышается содержание в сыворотке крови собак витаминов Е на 1,69 мкг/мл ($p < 0,01$) и А – на 0,3 мкг/мл ($p < 0,01$) после первого введения и на 2,13 мкг / мл ($p < 0,01$) и 0,14 мкг/мл ($p < 0,001$) соответственно после второго введения. В отличие от клеток цитотоксического действия (Т-супрессоры и НК-клетки), динамика фагоцитарной активности нейтрофилов характеризуется тем, что после двукратного введения альбумина этот показатель постепенно увеличивается.

Литература. 1. Барсуков, Л. И. Липосомы / Л. И. Барсуков // Сорос. образов. журн. – 1998. – № 10. – С. 12–19. 2. Варпаховская, И. Липосомальные формы лекарственных средств / И. Варпаховская // Ремедиум. – 1999. – № 5. – С. 26–34. 3. Використання ліпосом у біології та медицині / К. С. Воронкова [и др.] // Вісник Дніпропетровського університету. – 2010. – В. 1, т. 2. – С. 38–42. 4. Ганглиозиды – рецепторы бактериальных токсинов и других биологически активных веществ / В. И. Ефрещенко [и др.] // Аннотированный библиографический указатель отечественной и зарубежной литературы 1976–1986 гг. – Волгоград : Б.и., 1988. – С. 202. 5. Кобринский, Г. Липосомы в медицине / Г. Кобринский // Наука и жизнь. – 1988. – № 6. – С. 23–30. 6. Остапченко, Л. І. Біологічні мембрани : методи дослідження структури та функцій / Л. І. Остапченко, І. В. Михайлик. – К. : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2006. – 215 с. 7. Струков, А. И. Аутоиммунные болезни: рук-во для врачей / А. И. Струков, В. В. Серов, Д. С. Саркисов // Общая патология человека. – М. : Медицина, 1990. – Т. 2. – С. 96–99. 8. Эванз, У. Г. Биологические мембраны. Методы / У. Г. Эванз; под ред. Дж. Б. Финдлея. – М. : Мир, 1990. – 424 с. 9. Juliano, B. L. The effect of particle size and change on the clearance rates of liposomes and liposome encapsulated drugs / B. L. Juliano, D. Stamp // Biochem. Biophys. Res. Com. – 1975. – Vol. 63. – P. 651–658. 10. Goren, D. Targeting of stealth liposomes to er-B2 (Her/2) receptor: in vitro and in vivo studies / D. Goren, A. T. Horowitz, S. Zalipsky // Br. J. Cancer. – 1996. – Vol. 74. – P. 1749–1756. 11. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / під ред. проф. В. В. Влізла. – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 764 с.

Статья передана в печать 09.06.2017 г.

УДК 636.2.054.087.72

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ АДсорбЕНТА МИКОТОКСИНОВ «СЕЛТОКСОРБ» В РАЦИОНЕ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Карпеня М.М., Базылев Д.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

В статье приводятся данные по эффективности применения продукта сорбирующего «Селтоксорб» в рационе быков-производителей. Экспериментально установлено, что использование данного адсорбента способствует повышению качества спермопродукции на 5,3-15,2% ($P < 0,05$), что позволяет получить прибыль расчете на 1 голу 1316,1 тыс. руб. за 120 дней опыта. **Ключевые слова:** быки-производители, продукт сорбирующий «Селтоксорб», микотоксины, воспроизводительная функция, спермопродукция.

EFFICIENCY OF USE OF ADSORBENT OF MYCOTOXINS "SELTOKSORB" IN FEEDING BULLS'

Karpenya M.M., Bazylev D.V.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

The gives the article data on efficiency of application of a product of occluding "Seltoksorb" in diets of bulls'. It is experimentally established that use of this adsorbent promotes improvement of quality of a spermoproduction for 5,3-15,7% ($P < 0,05$), that allows to get net profit counting on 1 head 1316,1 thousand rubles in 120 days of experience. **Keywords:** bulls, product occluding "Seltoksorb", mycotoxins, reproductive function, sperm production.

Введение. Продолжительность продуктивного использования племенных быков на госплемпредприятиях (ГПП) Беларуси составляет 5–6 лет. На элеверах ежегодно по развитию и воспроизводительным способностям выбраковывается до 20% выращиваемых бычков. Из-за болезней конечностей, недоброкачественной спермы, импотенции, травматического перикардита на ГПП республики выбраковывают до 81% животных, по возрасту – только 8% [6, 9].

В молочном скотоводстве приоритетная роль отводится разработке и совершенствованию системы кормления быков-производителей, а также профилактике кормовых токсикозов. В республике недостаточно изучены вопросы эффективного использования в рационах быков-производителей местных минеральных ресурсов как адсорбентов токсинов [3, 8].

Прикладные аспекты научной новизны данной проблемы состоят в получении данных о современном распространении вредных веществ, продуцируемых грибами (микотоксины). Плесневые грибы, прочие ксенобиотики, не утрачивая токсичности, по длинным биологическим цепочкам попадают в организм животных, затем, переработанные с продуктами питания, поступают в организм человека. В дальнейшем происходит общая интоксикация, как организма животного, так и человека. Интоксикация организма животного может выражаться по-разному, иногда даже становится проблематичным определить первопричину заболевания.