

ОЦЕНКА ИММУНОГРАММ СОБАК С РАЗНЫМ ОТНОСИТЕЛЬНЫМ КОЛИЧЕСТВОМ РОЗЕТКООБРАЗУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ

Брошков М.М.

Одесский государственный аграрный университет, г. Одесса, Украина

В статье представлены данные иммунофизиологических показателей собак в зависимости от различного содержания розеткообразующих нейтрофилов (Э-РОН). Установлено, что увеличение рецепторной активности нейтрофилов способствует одновременному увеличению фагоцитарной активности этих клеток. Отмечены изменения в субпопуляциях лимфоцитов при разных количествах Э-РОН, что выразилось в увеличении Т-клеток и уменьшении В-клеток.

The article presents data of dog's immunophysiological indicators depending on the content of various rosette neutrophils (E-RCN). It has been established that the increase in neutrophil receptor activity contributes to the simultaneous increase of the phagocytic activity of these cells. The changes in lymphocyte subpopulations in different quantities E-RCN, which was reflected in an increase in T-cells and B-cells decrease were mark.

Ключевые слова: собаки, иммунитет, лимфоцит, фагоцитарная активность нейтрофилов, НК-клетка, иммунорегуляторный индекс.

Keywords: dog's, immunity, lymphocyte, phagocytic activity of neutrophils, NK cells, immunoregulatory index.

Введение. Особенностью существования собак в современном мире определяется увеличением их популяции и более тесным сосуществованием с человеком в разных качествах и взаимодействии: собака-поводырь, охранник, охотник и т.д. По данным Strayanimalcontrolpractices (Europe)[1] в 16 (51%) европейских странах сообщают об увеличении популяции на протяжении последних пяти лет. Так, в Бельгии количество хозяйских собак достигло 1,6 млн., Германии – 5,3 млн., Польше – 6–7 млн. Только одна Великобритания характеризуется уменьшением популяции собак до уровня 6 млн. В Украине количество собак неизвестно, но только около 500 тысяч ежегодно подвергаются эвтаназии[1].

Исследования, проведенные среди мелких домашних животных в промышленных городах, показали существенный сдвиг в их иммунологическом статусе, что оставляет отпечаток на течении инфекционной и неинфекционной патологии. Ведущее значение в невосприимчивости к условно-патогенным микробам имеет состояние системы иммунитета организма, которое определяется функционированием лимфоидной, гранулоцитарной и мононуклеарно-макрофагальной клеточных систем и гуморальных (антитела, комплемент и другие) факторов иммунитета[2].

Известно, что нейтрофилы играют важную роль в естественной резистентности организма при многих заболеваниях и, особенно, при инфекционных. Функция нейтрофилов многогранна, не ограничивается только фагоцитозом. Так, они способны к образованию и выделению лизосомальных энзимов в окружающую среду, благодаря чему проявляется их бактерицидная активность. Вообще, к антимикробной системе нейтрофилов можно отнести дегидрогеназы лизосом, лизоцим, лактоферрин, катионные белки и др. Гидролитические энзимы лизосом оказывают не только бактериостатическое действие, но также могут участвовать в разрушении поврежденных при воспалении клеток и тканей организма. Одновременно с гидролитическими энзимами освобождаются лизоцим, молочная кислота и разнообразные белки, обладающие бактериостатическими и бактерицидными свойствами. Кроме того, в нейтрофилах идентифицирован ряд факторов, относящихся к процессам гемостаза. Таким образом, нейтрофилы имеют немаловажное значение в патогенезе заболеваний. Поэтому выяснение закономерностей естественной резистентности организма, а именно ее нейтрофильного звена, очень важно. Особенно актуальным является определение доли антигеноспецифичных нейтрофилов в их общем количестве[3].

Естественная элиминация условно-патогенных возбудителей в значительной степени зависит от фагоцитарной активности лейкоцитов [4, 5]. Последняя, в свою очередь, определяется состоянием различных рецепторов лейкоцитов, участвующих не только в непосредственном связывании возбудителя, но, что не менее важно, и во взаимодействии между различными типами лейкоцитов, обеспечивающем их взаимную активацию в инфекционном процессе [6, 7, 8]. Поэтому состояние биологически активных структур, в частности различных рецепторов поверхности нейтрофилов, во многом определяет резистентность к инфекции [9, 10, 11]. В доступных литературных источниках мы не нашли данных о различиях показателей иммунограмм собак при различной рецепторной активности нейтрофилов. Поэтому нами были проанализированы показатели иммунофизиологического состояния собак в зависимости от способности нейтрофилов образовывать розетки с эритроцитами барана.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на кафедре физиологии, биохимии и микробиологии Одесского государственного аграрного университета совместно с лабораторией иммунологии института глазных болезней им. акад. В.П. Филатова. Клинический осмотр собак и отбор проб крови проводили в условиях частной ветеринарной клиники г. Одессы. Материалом для исследований была предварительно стабилизированная периферическая кровь беспородных собак, возрастом 1–5 лет (n=75), которые имели одинаковые условия содержания и кормления. Кровь отбирали утром на голодный желудок из локтевой вены в пробирку с ЭДТА. В крови определяли абсолютное количество лейкоцитов, абсолютное и относительное количество лимфоцитов и их субпопуляций, а также количество фагоцитирующих и розеткообразующих нейтрофилов [12]. Количество лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева, лейкоцитарную формулу выводили в мазке, предварительно окрашенной по Романовскому-Гимза. В крови определяли абсолютное и относительное содержание лимфоцитов и их субпопуляций в реакции розеткообразования с эритроцитами

барана (Э-тф.р.-РОЛ, Э-тф.ч.-РОЛ). В-лимфоциты определяли в реакции розеткообразования с эритроцитами мыши (М-РОЛ). Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по способности захватывать пекарские дрожжи в пересчете на 50 клеток. Розеткообразующей считали клетку, которая присоединила три и более эритроцита. Фагоцитирующим считали нейтрофил, который поглотил одну и более дрожжевых клеток.

Результаты исследований. Для определения различий в показателях иммунограмм собак их разделили на три группы в зависимости от способности нейтрофилов образовывать розетки с эритроцитами барана. Первая группа – Э-РОН $\leq 50\%$ (n=24), вторая группа – Э-РОН – 50–70% (n=41), третья группа – Э-РОН $\geq 70\%$ (n=10).

При сравнительном анализе абсолютного числа лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций, а также фагоцитарной активности нейтрофилов (таблица 1) собак I и II групп установлено, что при Э-РОН 50–70 % абсолютное количество лейкоцитов ниже на $2,0 \cdot 10^9/\text{л}$, чем у собак с Э-РОН $\leq 50\%$. В то же время, у собак II группы установлены следующие повышенные показатели: абсолютное количество лимфоцитов – на $0,43 \cdot 10^9/\text{л}$, Т-лимфоцитов – $0,281 \cdot 10^9/\text{л}$, Т-хелперных (Э-тф.р.-РОЛ) – $0,362 \cdot 10^9/\text{л}$.

Таблица 1 - Показатели иммунограмм собак при разном содержании розеткообразующих нейтрофилов (Э-РОН)

Показатели	Группа животных		
	Э-РОН $\leq 50\%$, n=24	Э-РОН 50–70%, n=41	Э-РОН $\geq 70\%$, n=10
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	8,90 \pm 2,93	6,95 \pm 3,84	11,20 \pm 5,18
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,57 \pm 0,62	2,10 \pm 0,56	2,29 \pm 1,14
Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,98 \pm 0,31	1,26 \pm 0,30	1,88 \pm 0,53
Т-хелперы/индукторы, $\times 10^9/\text{л}$	0,74 \pm 0,42	1,10 \pm 0,51	1,27 \pm 0,44
Т-супрессоры/цитотоксические, $\times 10^9/\text{л}$	0,29 \pm 0,08	0,29 \pm 0,11	0,62 \pm 0,12
В-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,17 \pm 0,09	0,21 \pm 0,09	0,22 \pm 1,23
Иммунорегуляторный индекс, Тх/Тс	3,38 \pm 1,68	3,11 \pm 1,76	3,14 \pm 2,06
НК-клетки, $\times 10^9/\text{л}$	0,17 \pm 0,09	0,18 \pm 0,07	0,19 \pm 0,09
Фагоцитоз нейтрофилов, $\times 10^9/\text{л}$	3,47 \pm 0,76	3,98 \pm 0,98	6,38 \pm 0,94

При этом абсолютное количество субпопуляций Т-супрессорных лимфоцитов (Э-тф.ч.-РОЛ) в обеих группах было практически одинаковым. Также не изменялось и абсолютное количество широкоплазменных лимфоцитов (НК-клетки). Оценка показателей иммунограмм у собак III группы показала, что повышенное содержание поверхностных рецепторов на нейтрофилах к эритроцитам барана (Э-РОН $\geq 70\%$) сопровождается более высоким абсолютным количеством лейкоцитов – на $4,25 \cdot 10^9$, чем у животных II группы. Также в группе собак с Э-РОН $\geq 70\%$ отмечено большее абсолютное количество лимфоцитов и Т-супрессорных клеток. Если в первых двух группах их количество практически одинаково, то в III группе их больше на $0,324 \cdot 10^9$, чем во II группе. Следует отметить, что при разных показателях Э-РОН практически не изменилось абсолютное количество В-лимфоцитов и НК-клеток. Анализ фагоцитарной активности нейтрофилов при различных показателях Э-РОН показал, что с увеличением количества поверхностных мембранных рецепторов на нейтрофилах увеличивается и способность этих клеток к фагоцитозу. Так, при Э-РОН 50–70 % фагоцитирующих клеток больше на $0,515 \cdot 10^9$, чем при Э-РОН $\leq 50\%$. А при Э-РОН $\geq 70\%$ нейтрофилов, способных к фагоцитозу, оказалось больше в 1,6 раза.

Оценка величины иммунорегуляторного индекса (ИРИ) показала, что наиболее высоким он был в группе, где Э-РОН $\leq 50\%$. Как известно, повышенный ИРИ свидетельствует о дисбалансе между иммунорегуляторными субпопуляциями лимфоцитов (преобладанием Т-хелперной активности над Т-супрессорной) и может являться одним из факторов риска развития иммунопатологических реакций [9]. Во взаимодействии между субпопуляциями Т-лимфоцитов лежит механизм, при котором активированные Т-супрессоры подавляют активность Т-хелперов. В свою очередь, Т-хелперы при резком увеличении их количества стимулируют образование Т-супрессоров, которые подавляют активность Т-хелперов [4,8].

Анализ относительного количества лимфоцитов и их субпопуляций, а также нейтрофилов с фагоцитарной активностью (таблица 2) показал, что увеличение количества Э-РОН сопровождается выраженным увеличением субпопуляции Т-лимфоцитов и фагоцитирующих нейтрофилов.

Таблица 2 – Относительное количество лимфоцитов, их субпопуляций и фагоцитарная активность нейтрофилов при разном содержании розеткообразующих нейтрофилов (Э-РОН)

Показатели	Группа животных		
	Э-РОН $\leq 50\%$, n=24	Э-РОН 50–70%, n=41	Э-РОН $\geq 70\%$, n=10
Лимфоциты, %	25,10 \pm 7,85	24,30 \pm 6,17	25,00 \pm 14,49
Т-лимфоциты, %	70,80 \pm 3,19	74,20 \pm 5,84	82,80 \pm 5,18
Т-хелперы/индукторы, %	47,40 \pm 9,47	51,80 \pm 4,58	58,20 \pm 11,17
Т-супрессоры/цитотоксические, %	16,90 \pm 3,45	17,80 \pm 5,99	24,60 \pm 11,19
В-лимфоциты, %	11,20 \pm 3,19	10,95 \pm 4,13	8,70 \pm 4,01
НК-клетки, %	10,70 \pm 2,11	9,45 \pm 2,15	8,10 \pm 1,52
Фагоцитоз нейтрофилов, %	61,20 \pm 16,47	65,90 \pm 14,87	69,80 \pm 16,95

Установлено, что субпопуляция В-лимфоцитов и НК-клеток, наоборот, имела тенденцию к уменьшению, особенно при Э-РОН $\geq 70\%$. Следует отметить, что НК-клеткам принадлежит основная роль в противовирусном, противоопухолевом иммунном ответе [8]. Отсутствие изменений абсолютного количества В-лимфоцитов и НК-

клеток в зависимости от процента розеткообразующих нейтрофилов, а относительного количества – даже уменьшение свидетельствует, скорее всего, о том, что у этих субпопуляций специфические механизмы вовлечения в иммунный ответ, которые запускаются в более поздние стадии каскада иммунных реакций и не имеют общего механизма активации с гранулярными лейкоцитами. Возможно, по принципу положительной обратной связи увеличение одних иммунокомпетентных (Т-лимфоцитов) клеток и уменьшение других (НК-клеток и В-лимфоцитов) зависит от рецепторной активности нейтрофильных гранулоцитов.

Заключение. Исходя из проведенных исследований анализа показателей иммунограмм собак в зависимости от различного содержания розеткообразующих нейтрофилов (Э-РОН), установлено, что у около 55% собак относительное количество таких клеток находится в пределах 50–70%. Увеличение количества поверхностных рецепторов на нейтрофилах сопровождается уменьшением количества В-лимфоцитов и НК-клеток. В то же время абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов, а также фагоцитарная активность нейтрофилов возрастает.

Полученные данные могут быть использованы в интерпретации показателей иммунограмм в клинической ветеринарной практике мелких домашних животных при оценке иммунофизиологической реактивности организма и проведении иммунотерапевтического лечения.

Литература. 1. *Stray animal control practices (Europe). A report into the strategies for controlling stray dog and cat populations adopted in thirty-one countries, [Электронный ресурс] / Louisa Tasker // WSPA, RSPCA International. — 2007. — Режим доступа до праці: <http://feralan.narod.ru/solutions/europe.htm>. 2. Донник И. М. Экология и здоровье животных / И. М. Донник, П. Н. Смирнов. — Екатеринбург : УТК, 2001. — 331 с. 3. Касимова, Н.Б., Буркин, В.С. Способ оценки непрямого антигеноспецифического розеткообразования нейтрофилов при астраханской лихорадке и вирусном гепатите / Касимова, Н.Б., Буркин, В.С. — В RU(11)2239191(13)C2 (51)7G01N33/536 2004.10.27.4. Новиков, Д.К. Медицинская иммунология / Д.К. Новиков // Минск.: «Высшая школа». 2005. — С. 116–119. 5. Покровский, В.И. Приобретенный иммунитет и инфекционный процесс / В.И. Покровский, М.М. Авербах, В.И. Литвинов, И.В. Рубцов // М.: Медицина, 1979. — С. 189–213. 6. Ройт, А. Основы иммунологии / А. Ройт // М.: Эксмо, 1996. — С. 127–167. 7. Хаитов, Р. М. Иммунология / Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатова, И. Г. Сидорович // М.: Эксмо, 2000. — С. 57–64. 8. Ярилин, А. А. Иммунология / А. А. Ярилин // М.: Медицина, 1999. — С. 76–83. 9. Новиков, Д. К. Оценка иммунного статуса / Д. К. Новиков, В. И. Новикова // Витебск–Москва: Высшая школа, 1996. — С. 90–97. 10. Лебедев, К. А. Иммунология образ распознающих рецепторов: Интегральная иммунология / К. А. Лебедев, И. Д. Понякина // М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2013. — 256 с. 11. Дрожжина, Г. И. Состояние иммунологической реактивности организма у больных с наследственными стромальными дистрофиями роговицы и ее особенности при наличии воспалительного компонента / Г. И. Дрожжина, Т. В. Дегтяренко // Офтальмологический журнал. — 2004. — №5. — С. 10–16. 12. Влізло, В. В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В. В. Влізло // Львів: СПОЛОМ, 2012. — С. 234–237.*

Статья передана в печать 02.04.2015 г.

УДК: 637.56.04/07

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ НЕЛЬМЫ (*STENODUS LEUCICHTHYS NELMA* (PALLAS)), ВЫПАВЛИВАЕМОЙ В НИЗОВЬЯХ АКВАТОРИИ РЕКИ ЕНИСЕЙ

*Гнедов А.А., **Кайзер А.А.

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

**ФГБНУ «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства и экологии Арктики», г. Норильск, Российская Федерация

Приведены результаты биохимических исследований в образцах продукции, получаемой от нельмы (*Stenodus leucichthys nelma* (Pallas)), обитающей в низовьях бассейна р. Енисей. Определено содержание широкого спектра биологически активных веществ, включающих в себя макро- и микроэлементы, жирные кислоты, аминокислоты и витамины.

Определена пищевая ценность мяса нельмы в соответствии с общепринятыми ее составляющими: энергетическая ценность, биологическая ценность, биологическая эффективность, физиологическая ценность.

The Brought results of the biochemical studies in sample of the product, got from sheefish (*Stenodus leucichthys nelma* (Pallas)), dwelling in lower reached of the pool r. Enisey. The content of a wide range of biologically active substances, including the macro-and micronutrients, fatty acids, amino acids and vitamins.

Determined the nutritional value of meat nelmy in accordance with generally accepted its components: energy value, bioavailability, biological efficiency, physiological value.

Ключевые слова: рыбы, Енисей, аминокислоты, жирные кислоты, витамины, минеральные вещества.
Keywords: fish, Yenisey, amino acids, fatty acids, vitamins, and minerals.

Введение. Нельма (*Stenodus leucichthys nelma* (Pallas)) распространена в широком ареале - обитает циркумполярно в бассейнах северных рек Европы, Сибири и Северной Америки. Подвид, обитающий в бассейне р. Волги - белорыбица (*Stenodus leucichthys leucichthys* (Guldenstadt)) [1].

По образу жизни нельма является проходной рыбой, но в р. Енисей образовалась жилая форма [2].

Нельма - самая крупная рыба из семейства сиговых с максимальной длиной тела 150 см и массой 28 кг (редко до 40 кг). Половозрелой становится в возрасте 8-14 лет при достижении длины 65-75 см и массы 4-5 кг.