

УДК 616:636.1:611.018.5:615.03

DOI: 10.31073/vet_biotech40-06

КРИЦЯ Я.П., канд. вет. наук, доц., e-mail: iana.kritsyia@gmail.com,
МЕЖЕНСЬКА Н.А., канд. вет. наук, доц., e-mail: nataamezh@gmail.com,
ЗАХАРОВА О.М., канд. біол. наук, e-mail: olga_zm@ukr.net,
МОЛОЖАНОВА А.В., e-mail: vetereneri@ukr.net,
СИДОРЕНКО Т.В., e-mail: t-sudorenko@ukr.net
Інститут ветеринарної медицини НААН

ВПЛИВ ІМУНОМОДУЛЯТОРА РІБОТАНУ НА ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ ЛОШАТ

Внаслідок застосування імуномодулятора ріботану у крові лошат відзначається тенденція до збільшення кількості лейкоцитів за рахунок збільшення субпопуляцій лімфоцитів, що свідчить про посилення рівня клітинного імунітету.

В результаті наших досліджень при застосуванні імуномодулятора ріботану зростала кількість Т-хелперів, а також вирівнювалося співвідношення Т-х/Т-с, яке виявилось найбільш оптимальним (імунорегуляторний коефіцієнт = 1,9 од.) в крові лошат.

Застосування імуномодулятора ріботану в дозі 1 см³ призводить до збільшення кількості лейкоцитів на 1,4 – 4,5% у крові лошат дослідної групи, порівняно з контрольними тваринами. Під впливом імуномодулятора ріботану у крові лошат підвищується функціональна (Т-активні лімфоцити в 2,3 рази; $P < 0,05$) та клітинна активність (кількість Т-лімфоцитів на 0,4 – 2,3%) Т-системи імунітету.

Ключові слова: імуномодулятор, ріботан, імунітет, лошата, Т-лімфоцити.

Вступ. Розвиток імунної системи коней у ході онтогенезу є складним процесом. Імунна відповідь організму, а також зміни в перші місяці життя лошат, поки імунна система не сформується, вивчені лише частково [1]. У той час, як деякі вроджені імунні реакції здаються повністю функціональними від народження, початок адаптивної імунної відповіді затримується. Так, продукція гамма-інтерферону (IFN- γ) Т-хелперами 1 (Th1-клітинами) та цитотоксичними Т-клітинами починається незабаром після народження з низького рівня його продукції, а потім поступово збільшується протягом першого року життя коня [2].

Затримка розвитку Th1-клітин у перші місяці життя тварини також пояснює зниження чутливості молодих коней до більшості традиційних вакцин. Таким чином, всі компоненти імунної системи у дорослих коней є також і у лошат, але організація та регуляція імунної відповіді у останніх істотно

відрізняються. Хоча лошата є фізіологічно розвиненими, багато механізмів імунної відповіді в їх організмі ще не є зрілими [2].

Від належного функціонування імунної системи залежить резистентність та імунна реактивність тварин.

Синтез власних антитіл у коней починається лише з 14-денного віку, однак до одного місяця він відбувається на низькому рівні. Слабка гуморальна відповідь в цей період пов'язана з наявністю у лошат колострального імунітету та з недостатнім формуванням у них В-системи імунітету [3]. Тому важливо при виникненні вікових імунних дефіцитів застосовувати методи імунокорекції шляхом використання імуномодуляторів [4].

Ріботан є імуностимулятором широкого спектру дії, він стимулює первинну та вторинну імунні відповіді на різні антигени, підсилює міграцію стовбурних клітин, фагоцитарну активність макрофагів, кооперацію Т- і В-лімфоцитів, а також синтез антитіл [3, 5].

Тому актуальним є дослідження показників клітинного імунітету лошат під впливом імуномодуляторів, яке має наукове та практичне значення.

Мета роботи полягала в дослідженні показників клітинного імунітету лошат під впливом імуномодулятора ріботану.

Матеріали і методи досліджень. Для проведення досліджень з лошат двотижневого віку чистокровної верхової та української верхової порід формували контрольну та дослідну групи (табл. 1).

Таблиця 1

Схема проведення досліджень

Група тварин	Кількість тварин	Назва препарату
Дослідна	10	Ріботан
Контрольна	10	Ізотонічний розчин натрію хлориду

Імуномодулятор ріботан вводили у дозі 1 см³ в/м протягом трьох днів. Тваринам контрольної групи вводили ізотонічний розчин NaCl за тією ж схемою.

Відбір крові для дослідження проводили у лошат місячного віку. Визначали наступні показники імунітету: відносну кількість у крові загальних Т-лімфоцитів (Т-заг., %), кількість Т-хелперів (Т-х, %) і Т-супресорів (Т-с, %), імунорегуляторний коефіцієнт (ІРК, од.), кількість Т-активних лімфоцитів (%), Т-термостабільних лімфоцитів (%) [6].

Отримані дані були оброблені методами варіаційної статистики з використанням пакету аналізу даних Microsoft Excel. Усі обчислення

проводились за рівнів вірогідності $P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$, прийнятої для більшості біологічних досліджень.

Результати досліджень та їх обговорення. У наших дослідженнях у 14-денних лошат більш зрілими виявились показники Т-клітинної ланки, ніж показники В-системи імунітету. Отримані нами дані підтверджуються дослідженнями Г.Д. Каці [6], Л.І. Коюда [7].

При дослідженні крові лошат різних вікових категорій встановлено зниження окремих її показників. Саме тому, враховуючи отримані дані, проводили аналіз показників крові під впливом риботану.

Гематологічні показники лошат дослідних порід наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Динаміка гематологічних показників лошат, $M \pm m$

Показники	Група	
	контрольна (n=5/5)*	дослідна (n=4/6)*
Кількість еритроцитів, Т/л	<u>3,8±0,1</u>	<u>4,3±0,6</u>
	3,8±0,1	3,8±0,1
Вміст гемоглобіну, г/л	<u>92,4±2,6</u>	<u>93,0±9,0</u>
	90,8±1,2	90,5±3,7
Кольоровий показник, од.	<u>0,8±0,01</u>	<u>0,7±0,02**</u>
	0,8±0,01	0,8±0,02
ШОЕ, мм/год	<u>44,8±7,4</u>	<u>27,0±2,0</u>
	30,8±6,4	39,0±5,3

Примітки: *у чисельнику – чистокровна верхова, у знаменнику – українська верхова породи; n – кількість тварин кожної породи; ** – $P < 0,01$ у порівнянні з контрольною групою тварин

Встановлено, що риботан не спричинив помітного впливу на показники еритроцитопоезу у лошат контрольної та дослідної груп. Але слід відзначити тенденцію до збільшення кількості еритроцитів на 0,5 Т/л (13,2%) і вмісту гемоглобіну на 0,6 г/л (0,6%) у крові лошат чистокровної верхової породи дослідної групи. У них реєструється зниження кольорового показника на 0,1 од. (14,3%; $P < 0,01$) за рахунок високої кількості еритроцитів.

За кількістю лейкоцитів та їх морфологічним складом у крові лошат вивчали захисні фактори їх організму (табл. 3).

Результати наших досліджень вказують на тенденцію до збільшення кількості лейкоцитів у крові лошат дослідної групи, порівняно з тваринами контрольної групи. Зокрема, у крові лошат дослідної групи (чистокровна верхова порода) кількість лейкоцитів була вищою на 0,3 Г/л (4,5%), а у тварин української верхової породи – на 0,1 Г/л (1,4%).

Кількість лейкоцитів та лейкограма крові лошат, $M \pm m$

Показники	Група	
	контрольна (n=5/5)*	дослідна (n=4/6)*
Кількість лейкоцитів, Г/л	$\frac{6,6 \pm 0,3}{6,9 \pm 0,6}$	$\frac{6,9 \pm 1,1}{7,0 \pm 0,3}$
Еозинофіли, %	$\frac{2,4 \pm 0,2}{2,2 \pm 0,3}$	$\frac{3,5 \pm 0,5}{2,3 \pm 0,3}$
Нейтрофіли:		
- паличкоядерні, %	$\frac{3,0 \pm 0,6}{2,2 \pm 0,4}$	$\frac{2,5 \pm 0,5}{1,9 \pm 0,4}$
- сегментоядерні, %	$\frac{59,2 \pm 2,1}{63,4 \pm 0,8}$	$\frac{58,0 \pm 1,6}{60,3 \pm 1,7}$
Лімфоцити, %	$\frac{29,4 \pm 1,9}{27,0 \pm 0,8}$	$\frac{30,5 \pm 1,5}{29,0 \pm 1,5}$
Моноцити, %	$\frac{6,0 \pm 0,8}{5,4 \pm 0,5}$	$\frac{5,5 \pm 1,5}{6,6 \pm 0,6}$

Примітки: *у чисельнику – чистокровна верхова, у знаменнику – українська верхова породи; n – кількість тварин кожної породи.

Аналіз лейкограми крові коней виявив, що вона була у межах норми, притаманної для тварин цього виду і віку. Кількість еозинофілів у крові тварин контрольної та дослідної груп була майже однаковою, що свідчить про відсутність антигенного навантаження на їх організм під впливом ріботану.

Вміст нейтрофілів (як паличкоядерних, так і сегментоядерних) у крові лошат дослідної групи був дещо менший за рахунок збільшення кількості лімфоцитів.

Отже, внаслідок застосування ріботану у крові лошат відзначається тенденція до збільшення кількості лейкоцитів за рахунок збільшення субпопуляції лімфоцитів, що свідчить про посилення рівня клітинного та гуморального імунітету.

Для аналізу стану клітинного імунітету під впливом препарату проводили дослідження кількості Т-заг., Т-активних, Т-термостабільних лімфоцитів, Т-х та Т-с, ІРК, вміст повних та неповних Е-РУК у крові лошат досліджуваних порід.

Вміст Т-заг. лімфоцитів у крові лошат під впливом імуномодулятора ріботану наведений на рис. 1.

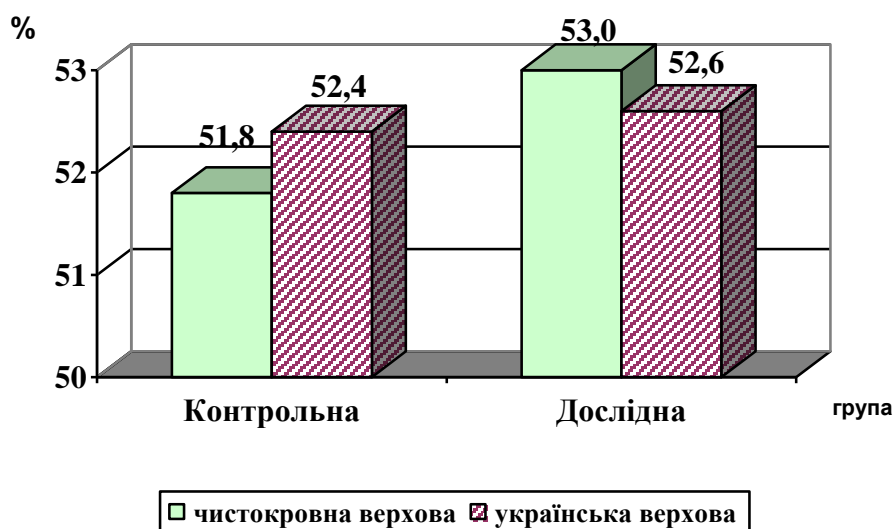
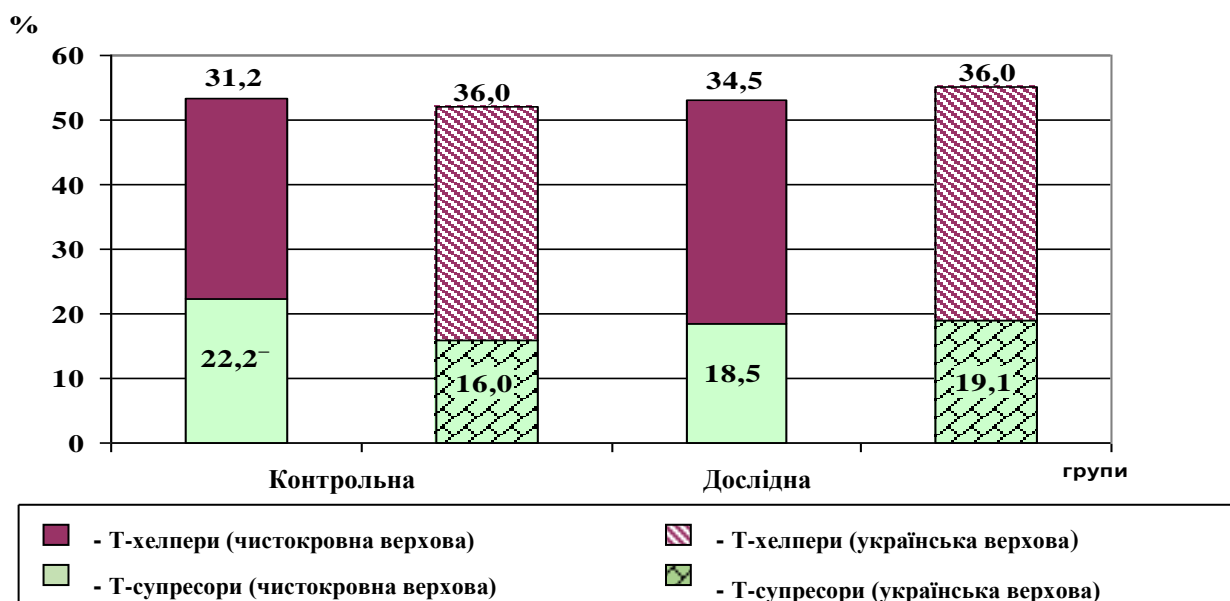


Рис. 1. Відносна кількість Т-заг. лімфоцитів у крові лошат, %.

При аналізі отриманих даних (рис. 1) видно, що вміст Т-заг. лімфоцитів був вищим на 0,2–1,2% (0,4–2,3%) у крові лошат, яким вводили ріботан порівняно з показниками крові лошат контрольної групи.

При дослідженні вмісту теофілінрезистентних (Т-х) та теофілінчутливих (Т-с) лімфоцитів отримали результати, які наведені на рис. 2.



Примітка: ⁻ – P<0,05 – між породами.

Рис. 2. Вміст Т-х та Т-с у крові лошат, %.

Вищий вміст Т-х в крові отримано у лошат української верхової породи при введенні ріботану. Відзначено також тенденцію до більшої кількості Т-х у крові лошат дослідної групи, порівняно з тваринами контрольної групи.

Вміст Т-с у крові лошат знаходився приблизно на однаковому рівні в обох групах. У тварин чистокровної верхової породи контрольної групи встановлено вірогідно більшу на 6,2% (38,8%; $P < 0,05$) кількість цих клітин, порівняно з лошатами української верхової породи.

Важливе значення для аналізу клітинного імунітету має визначення співвідношення між субпопуляціями Т-х і Т-с (ІРК), яке наведено на рис. 3.

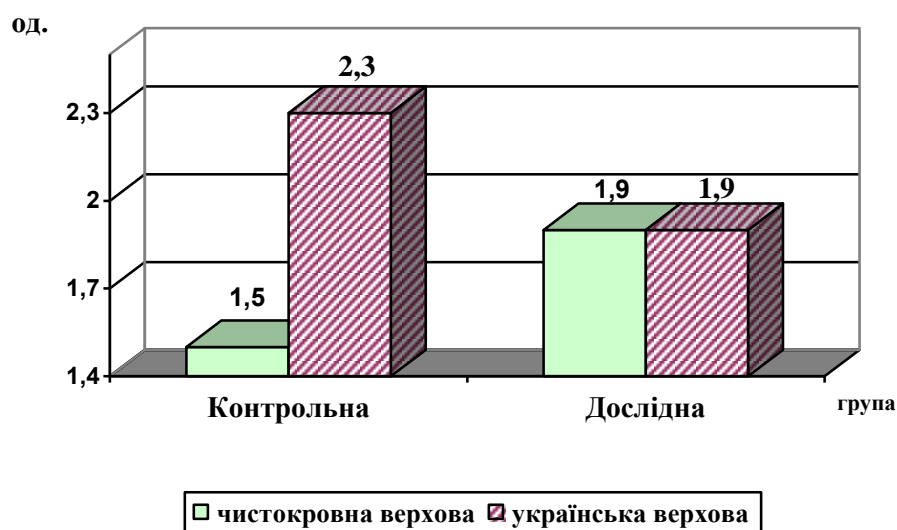


Рис. 3. ІРК крові лошат.

Для нормальної імунної відповіді на 2–3 клітини Т-х повинна припадати 1 клітина Т-с. Якщо відбувається зсув ІРК ліворуч (значення нижче 1,5), то таке співвідношення є характерним для імунодефіцитних станів, онкологічних захворювань.

Аналізуючи співвідношення Т-х/Т-с, слід відзначити, що тенденція до найбільш оптимального значення імунорегуляторного коефіцієнта встановлена у крові лошат дослідної групи (знаходився на рівні 1,9 од.). Збільшення ІРК вище 2 од. свідчить про вищий рівень Т-х, а відповідно в організмі виробляється більше антитіл, що може викликати аутоімунні захворювання. Зменшення ІРК нижче 2 од. вказує на більшу кількість антигена, тобто відбувається недостатня імунна відповідь.

Функціональний стан Т-лімфоцитів визначали за вмістом Т-активних і Т-термостабільних лімфоцитів (табл. 4).

Отримані дані щодо вмісту Т-активних лімфоцитів вказують на вірогідне їх збільшення в 2,3 рази ($P < 0,01$) у крові лошат чистокровної верхової породи дослідної групи. Слід також відзначити тенденцію до збільшення на 0,6% (25%) кількості Т-активних клітин у крові лошат української верхової породи дослідної групи.

Вміст Т-активних і Т-термостабільних лімфоцитів у крові лошат, М±m

Лімфоцити, %	Група	
	контрольна (n=5/5)*	дослідна (n=4/6)*
Т-активні	$\frac{1,3 \pm 0,4}{2,4 \pm 0,2}$	$\frac{3,0 \pm 0,1^{**}}{3,0 \pm 0,3}$
Т-термостабільні	$\frac{4,3 \pm 0,5}{3,8 \pm 0,4}$	$\frac{4,0 \pm 0,1}{4,0 \pm 0,3}$

Примітки: *у чисельнику – чистокровна верхова, у знаменнику – українська верхова породи; n – кількість тварин кожної породи; ** – $P < 0,01$ у порівнянні з контрольною групою тварин.

Отже, можна дійти висновку, що під впливом риботану відбувається ріст активності Т-лімфоцитів, що проявлялося у збільшенні кількості Т-активних лімфоцитів крові лошат дослідної групи.

Встановлена тенденція до найбільш оптимального рівня Т-термостабільних лімфоцитів у крові лошат дослідної групи, який знаходився у межах 3–4%. Збільшення кількості Т-термостабільних клітин вище 4% свідчить про підвищення активності супресорної популяції Т-лімфоцитів та пригнічення активності Т-х, а відповідно і продукцію антитіл.

Отже, підсумовуючи результати досліджень стану клітинного імунітету лошат під впливом риботану, можна зробити висновок про підвищення як клітинної активності Т-системи імунітету (загальна кількість Т-лімфоцитів), так і функціональної (Т-активні лімфоцити) під дією риботану.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Узагальнюючи отримані результати, можна зробити наступні висновки:

1. Застосування риботану в дозі 1 см³ протягом трьох діб призводить до збільшення на 1,4–4,5% кількості лейкоцитів у крові лошат дослідної групи, порівняно з контрольними тваринами.

2. Під впливом риботану у крові лошат підвищується клітинна (кількість Т-лімфоцитів на 0,4–2,3%) та функціональна активність (Т-активні лімфоцити в 2,3 рази; $P < 0,05$) Т-системи імунітету.

В подальших дослідженнях вважаємо необхідним провести дослідження гуморальної ланки імунітету лошат під впливом риботану.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Effects of branched-chain amino acids on immune status of young racing horses / M. Baakhtari, N. Imaizumi, T. Kida [et al.] // Journal of Veterinary Medical Science. – 2022. – Volume 84, Issue 4. – P. 558-565. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0529>.
2. Perkins G.A. The development of equine immunity: Current knowledge on immunology in the young horse / G.A. Perkins, B. Wagner // Equine Veterinary Journal. – 2015. – Volume 47, Issue 3. – P. 267–274. <https://doi.org/10.1111/evj.12387>.

3. Салига Н. Формування клітинного імунітету поросят під впливом імуномодулятора тималіну / Н. Салига, О. Віщур // Вісник Львівського університету. – 2020. – Вип. 29. – С. 165–170.
4. Кичун І. Імунодефіцити у тварин та їхня профілактика / І. Кичун, О. Віщур, І. Скорохід // Тваринництво України. – 2001. – № 9–10. – С. 18–19.
5. Ханис А.Ю. Эффективность иммуномодуляторов и адьюванта при иммунизации кроликов против микроспории / А.Ю. Ханис // Ветеринария. – 2010. – №1. – С. 21–23.
6. Кацы Г.Д. Методы оценки защитных систем организма млекопитающих / Г.Д. Кацы, Л.И. Коюда. – Луганск: Элтон-2, 2003. – 96 с.
7. Коюда Л.І. Морфофункціональні особливості захисних систем організму і продуктивність худоби чорно-рябої породи при адаптації в регіоні Донбасу: автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.13 / Коюда Любов Іванівна; Київ. нац. ун-т ім. Т. Шевченка. – Київ, 2000. – 18 с.

ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРА РИБОТАНА НА ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ЖЕРЕБЯТ/ Крыця Я.П., Меженская Н.А., Захарова О.М., Моложанова А.В., Сидоренко Т.В.

В результате применения иммуномодулятора риботана в крови жеребят отмечается тенденция к увеличению количества лейкоцитов за счет увеличения субпопуляций лимфоцитов, что свидетельствует об усилении уровня клеточного иммунитета.

Результаты исследований содержания Т-хелперных и Т-супрессорных клеток показали, что при применении иммуномодулятора риботана не только росло число Т-хелперов, но и выравнивалось соотношение Т-х/Т-с, которое оказалось наиболее оптимальным (1,9 ед.) у жеребят.

Таким образом, применение иммуномодулятора риботана в дозе 1 см³ в течение трех суток приводит к увеличению на 1,4–4,5% количества лейкоцитов в крови жеребят подопытной группы в сравнении с контрольными животными. Под влиянием иммуномодулятора риботана в крови жеребят повышается клеточная (количество Т-лимфоцитов на 0,4–2,3%) и функциональная активность (Т-активные лимфоциты в 2,3 раза; P<0,05) Т-системы иммунитета.

Ключевые слова: иммунитет, иммуномодулятор, риботан, Т-лимфоциты, жеребята.

EFFECT OF IMMUNOMODULATOR RIBOTAN ON THE INDICATORS OF CELLULAR IMMUNITY IN FOALS / Krytsia Y.P., Mezhenka N.A., Zakharova O.M., Molozhanova A.V., Sydorenko T.V.

Introduction. *It is necessary to maintain a body at sufficient physiological level for the effective functioning of the immune system, which determines the resistance and immune reactivity of animals. The development of equine immunity from the fetus to adulthood is complex. The foal's immune response and the available immune mechanisms along with changes over the first months of life until the immune system becomes adult-like are only partially understood. While several innate immune responses seem to be fully functional from birth, the onset of adaptive immune response is delayed.*

The goal of the work *was to study the cellular immunity of foals under the influence of immunomodulator Ribotan.*

Materials and methods. *14-day-old foals (n = 20) were used for the study. Animals in the experimental group were administered the immunomodulator Ribotan intramuscularly in the middle third of the neck once a day at a dose of 1 cm³/animal for three days. Blood sampling was performed in 1-month old foals.*

Results of research and discussion. Immunomodulators introduction for animals normalizes T-immune system, in particular, increases the number of leucocytes in the blood, lymphocytes of certain populations, especially theophyllinum-resistant subpopulation of T-helper cells, increases the functional activity of lymphocytes.

Results of the content of T-helper and T-suppressor cells in foal's blood after Ribotan administration showed that the use of immunomodulators not only increases the number of T-helper cells, but restores the ratio T-h / T-s, which returned to the optimal rate (1.9).

In relation to thermostable T-lymphocytes, it was noted the trend to the most optimal level of these cells registered in foals after administration of ribotan (values within 3-4%). The increasing in number of thermostable T-cells more than 4% indicated an increase of suppressor T-cells population, indicating the inhibition of T-helper cells, and therefore the production of antibodies.

Conclusions and prospects for further research. Thus, the use of ribotan in dose of 1 cm³/animal for three days leads to an increasing in 1.4-4.5% of the number of leukocytes in the blood of experimental group of foals compared with control animals. Under influence of ribotan in the blood of foals increases cell (number of T-lymphocytes in 0.4-2.3%) and functional activity (T-active lymphocytes in 2.3 times; $P < 0.05$) of T-immune system.

Keywords: immunity, immunomodulator, ribotan, T-cells, foals.

REFERENCES

1. Baakhtari, M., Imaizumi, N., Kida, T., Yanagita, T., Ramah, A., Ahmadi, P., et al. (2022). Effects of branched-chain amino acids on immune status of young racing horses. *Journal of Veterinary Medical Science*, 84, 4, 558-565. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0529>.
2. Perkins, G.A., & Wagner, B. (2014). The development of equine immunity: Current knowledge on immunology in the young horse. *Equine Veterinary Journal*, 47, 3, 267-274. <https://doi.org/10.1111/evj.12387>.
3. Salyha, N., & Vishchur, O. (2020). Formuvannia klitynnoho imunitetu porosiat pid vplyvom imunomoduliatora tymalinu [Formation of cellular immunity of piglets under the influence of the immunomodulator thymalin]. *Visnyk Lvivskoho universytetu – Bulletin of Lviv University*, 29, 165-170 [in Ukrainian].
4. Kychun, I., Vishchur, O., & Skorokhid, I. (2001). Imunodefitsyty u tvaryn ta yikhnia profilaktyka [Immunodeficiency in animals and their prevention]. *Tvarynnytstvo Ukrainy – Livestock of Ukraine*, 9-10, 18-19 [in Ukrainian].
5. Khanis, A.Y. (2010). Efektyvnist imunomoduliatoriv ta adiuventa pry imunyzatsii krolykiv proty mikrosporii [Efficiency of immunomodulators and adjuvant in immunization of rabbits against microsporia]. *Veterynariia – Veterinary*, 1, 21-23 [in Russian].
6. Katsy, H.D., & Koiuda, L.I. (2003). *Metody otsinky zakhysnykh system orhanizmu ssavtsiv [Methods for assessing the defense systems of the mammalian body]*. Luhansk: Elton-2 [in Russian].
7. Koiuda, L.I. (2000). Morfofunktsionalni osoblyvosti zakhysnykh system orhanizmu i produktyvnist khudoby chorno-riaboi porody pry adaptatsii v rehioni Donbasu [Morphofunctional features of the body's defense systems and productivity of black-and-white cattle during adaptation in the Donbass region]. *Extended abstract of candidate's thesis*. Kyiv [in Ukrainian].