

УДК 619:616:842.14:615.37:636.2:612.398.13

САХНЮК Н.І., асистент

ІВЧЕНКО В.М., д-р вет. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

ДИНАМІКА ЦИРКУЛЮЮЧИХ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ У ТЕЛЯТ, ІМУНІЗОВАНИХ САЛЬМОНЕЛЬОЗНОЮ ВАКЦИНОЮ, НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ ВІТАМІНІВ А та Е

Вивчена динаміка показників циркулюючих імунних комплексів у телят, імунізованих сальмонельозною вакциною, на тлі застосування вітамінів А та Е. Імунізація телят сальмонельозною вакциною на тлі використання ретинолу ацетату, α -токоферолу та їх комплексу сприяє підвищенню в сироватці крові вмісту ЦК, проте одночасна активація показників ОФР посилює їх виведення з організму.

Ключові слова: телята, імунізація, сальмонельоз, циркулюючі імунні комплекси (ЦК), опсоно-фагоцитарна реакція (ОФР), фагоцитарна активність (ФА), фагоцитарний індекс (ФІ).

Постановка проблеми. Імунна система тварин першою реагує на вплив різних біотичних та абіотичних факторів. Її роль полягає, насамперед, у видаленні з організму екзо- та ендогенних антигенів, у ролі яких можуть бути віруси, бактерії, власні білки та ін. Одним із механізмів виведення антигену з організму є утворення імунного комплексу.

Імунні комплекси – це фізіологічний продукт реакції антиген-антитіло, що є частиною захисних імунних механізмів за різних інфекційно-запальних та незаразних захворювань. Він відображає гуморальну імунну відповідь на розвиток інфекції і значною мірою визначає напруженість антигенного навантаження на імунну систему [1, 2].

В організмі імунні комплекси можуть знаходитись у двох станах: іммобілізованому (зв'язаний з клітинами організму) і мобілізованими (знаходяться в кровотоці). Останніх називають циркулюючими імунними комплексами.

Біологічна дія імунних комплексів має багато проявів, починаючи з нейтралізації антигену до зміни функціональної активності клітин крові [3].

У крові клінічно здорових людей і тварин циркулюючі імунні комплекси постійно присутні в невеликій концентрації, яка вважається фізіологічною. Це є

наслідком постійної стимуляції імунної системи і продукції антитіл. Для нормального функціонування організму і його імунної системи необхідне постійне антигенне навантаження [4].

Постійний рівень імунних комплексів у сироватці крові сприяє реалізації багатьох імунологічних процесів в організмі, починаючи від активації системи комплементу до зміни функціональної активності клітин крові та Т- і В-клітинної відповіді [5].

Krapf F.E. et al. [6] зазначають, що в окремих випадках за надмірного накопичення циркулюючих імунних комплексів, які з'являються за занадто високої продукції їх, або недостатнього виведення їх з організму, можливий перехід в патологію, зумовлену підвищеною активністю імунних комплексів.

Циркулюючі імунні комплекси виводяться з організму клітинами ретикулоендотеліальної системи. Основним органом, через який виводяться ЦК, є печінковий фагоцитоз, який виконує більше 80% функції [7]. Другим органом, що бере участь у виведенні ЦК, є селезінка [8].

Виведення антигену з кров'яного русла системою мононуклеарних фагоцитів є неефективним, особливо в тих випадках, коли антитіла володіють низькою афінністю до даного антигену.

Проблемі вивчення імунних комплексів нині приділяється багато уваги, тому що постійно зростає кількість захворювань, у патогенезі яких вони відіграють важливу роль [9, 10].

Мета дослідження – вивчити динаміку показників циркулюючих імунних комплексів у телят, імунізованих сальмонельозною вакциною, на тлі застосування вітамінів А та Е.

Матеріал і методика дослідження. Вивчали показники циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові телят, імунізованих сальмонельозною вакциною, після парентерального застосування ретинолу ацетату, α -токоферолу та їх комплексу.

Для досліду за принципом аналогів відібрали телят (теличок) 5–7-добового віку з масою тіла 30–35 кг. Телята 1-ї групи (4 гол.) були контрольними (їм вводили ізотонічний розчин натрію хлориду).

Телятам 2-ї дослідної групи (6 гол.) підшкірно вводили олійний розчин ретинолу ацетату у добовій дозі 250 МО/кг маси тіла. Тваринам третьої дослідної групи (6 гол.) підшкірно вводили олійний розчин α -токоферолу у добовій дозі 60 мг/кг маси тіла. Телятам четвертої дослідної групи (6 гол.) парентерально ін'єктували комплекс ретинолу ацетату та α -токоферолу.

Вітамінні препарати вводили 5 разів з інтервалом 3–4 доби. Після цього телят контрольної і дослідних груп імунізували сальмонельозною вакциною двічі з інтервалом у 20 діб (вакцинація в дозі 2 мл, а ревакцинація – 2,5 мл).

До початку досліду, після введення вітамінних препаратів і вакцинації, у сироватці крові визначали вміст циркулюючих імунних комплексів.

Кров у телят брали з яремної вени вранці до початку годівлі.

Уміст ЦІК в сироватці крові визначали методом осадження в розчині політетилєнглїколя (ПЕГ) з молекулярною масою 6000 дальтон. Для проведення реакції готували два розчини: № 1 – це 0,1 М буратний буфер з рН 8,4. Для цього брали 3,410 г борної кислоти і 4,275 г бури розчиняли в дистильованій воді і доводили об'єм до 1 літра. Розчин № 2 готували розчиненням 10 г політетилєнглїколю – 6000 дальтон у 240 мл розчину № 1.

У сироватці крові визначали молекулярний склад ЦІК, фракції великих, середніх і дрібномолекулярних імунних комплексів методом диференційованої преципітації, відповідно у 2,5%, 3,75 і 7% розчині ПЕГ-6000.

Під час дослідження у пробірку вносили по 0,3 мл дослідної сироватки крові, до неї додавали 0,6 мл розчину № 1 (контроль), а в другу – 2,7 мл розчину № 2 (дослід). Вміст пробірок ретельно перемішували і залишали на 60 хв за кімнатної температури. Після цього визначали оптичну щільність на спектрофотометрі в кюветі товщиною робочого шару 10 мм за 450 нм. Вираховували різницю показників оптичної щільності в досліді проти контролю і множили на 1000.

Отриманий результат показував кількість умовних одиниць ЦК у 100 мл сироватки крові до рівних ОП $450 \text{ нм} \times 10^3$.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати досліджень представлені в таблиці 1.

Таблиця 1 – Динаміка циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові телят, імунізованих сальмонельозною вакциною (умовні одиниці)

Показники ЦК		Група тварин			
		Перша група (контрольна, n=4)	Друга група (ретинолу ацетат, n=6)	Третя група (α -токоферол, n=6)	Четверта група (комплекс: ретинолу ацетат з α -токоферолом, n=6)
Початок дослідю					
Дрібні	$M \pm m$	1,13 \pm 0,42	1,12 \pm 0,24	1,16 \pm 0,26	1,2 \pm 0,26
Середні	$M \pm m$	1,25 \pm 0,28	1,75 \pm 0,26	1,58 \pm 0,18	1,8 \pm 0,26
Великі	$M \pm m$	3,0 \pm 1,12	2,25 \pm 1,53	3,0 \pm 0,70	3,2 \pm 0,9
Після введення вітамінних препаратів					
Дрібні	$M \pm m$	1,25 \pm 0,42	2,0 \pm 0,18 **	1,33 \pm 0,18	1,28 \pm 0,23
Середні	$M \pm m$	1,75 \pm 0,14	2,5 \pm 0,53	3,25 \pm 0,80 **	3,3 \pm 0,35 *** ■
Великі	$M \pm m$	5,4 \pm 1,7	4,2 \pm 1,15	5,75 \pm 0,71 **	6,0 \pm 0,71 **
Через 10 діб після вакцинації					
Дрібні	$M \pm m$	1,75 \pm 0,42	1,8 \pm 0,18	3,08 \pm 0,44 *** ■■	2,42 \pm 0,44 **
Середні	$M \pm m$	2,5 \pm 1,12	2,0 \pm 0,35	2,5 \pm 0,89	4,2 \pm 0,44
Великі	$M \pm m$	16,1 \pm 3,8 **	11,8 \pm 1,77 ***	9,0 \pm 2,9	13,3 \pm 1,77 ***
Через 20 діб після вакцинації					
Дрібні	$M \pm m$	4,75 \pm 0,84 ***	3,2 \pm 0,89	2,0 \pm 0,53	1,7 \pm 0,35
Середні	$M \pm m$	3,5 \pm 0,84	5,5 \pm 0,97 ***	4,5 \pm 0,35 *8	8,3 \pm 1,59 ** ■■
Великі	$M \pm m$	20,0 \pm 3,93 **	23,6 \pm 4,43 **	17,2 \pm 3,37	24,0 \pm 3,19 ***
Через 10 діб після ревакцинації					
Дрібні	$M \pm m$	3,75 \pm 1,12	4,3 \pm 0,80	5,0 \pm 1,06 **	4,0 \pm 0,71 ***
Середні	$M \pm m$	6,25 \pm 2,25	8,17 \pm 1,06	6,2 \pm 1,77	10,9 \pm 1,77
Великі	$M \pm m$	20,2 \pm 6,2	26,7 \pm 4,4	19,8 \pm 3,90	34,0 \pm 2,1
Через 20 діб після ревакцинації					
Дрібні	$M \pm m$	7,25 \pm 1,68	3,8 \pm 1,15	8,0 \pm 1,06	5,83 \pm 0,98
Середні	$M \pm m$	11,0 \pm 2,39	9,92 \pm 1,15	10,4 \pm 1,51	13,7 \pm 3,99
Великі	$M \pm m$	44,25 \pm 8,15 **	59,5 \pm 6,83 *	34,83 \pm 5,85 **	41,0 \pm 6,91
Через 2 місяці після ревакцинації					
Дрібні	$M \pm m$	12,8 \pm 1,68 **	11,0 \pm 2,04 ***	14,5 \pm 3,10	7,0 \pm 0,44
Середні	$M \pm m$	27,1 \pm 6,2 **	28,5 \pm 5,58 ***	12,9 \pm 0,80	25,1 \pm 5,5
Великі	$M \pm m$	41,0 \pm 7,86	74,3 \pm 4,08 ■■■	37,3 \pm 6,38	52,0 \pm 6,91

Примітки: * – $p < 0,001$; ** – $p < 0,05$; *** – $p < 0,01$ – порівняно з попередніми показниками; ■ – $p < 0,001$ – ■■ – $p < 0,05$; ■■■ – $p < 0,01$ – порівняно з телятами контрольної групи.

Нами встановлено, що до початку дослідю (в ранній постнатальний період), у сироватці крові телят усіх груп були імунні комплекси за рахунок природних

антитіл. Імунний захист телят у цей період забезпечується, в основному, колостральними антитілами, що надходять в організм з молозивом.

У сироватці крові телят контрольної і дослідних груп встановили низький рівень ЦК: від $1,2 \pm 0,26$ до $3,2 \pm 0,9$ ум. одиниць. Його можна вважати нормальним результатом постійної антигенної активації гуморального ланцюга імунної системи.

Після парентерального введення телятам дослідних груп ретинолу ацетату, α -токоферолу та їх комплексу як імуномодуляторів, відмічали тенденцію до підвищення концентрації окремих груп імунних комплексів, порівняно з попередніми даними, проте їх концентрація знаходилась у межах норми.

Після імунізації телят сальмонельозною вакциною на 10–20-ту добу у тварин контрольної і дослідних груп під впливом антигенного стимулу вакцини підвищився синтез антитіл. Так, у сироватці крові тварин контрольної групи спостерігали тенденцію до підвищення показників дрібних і середніх імунних комплексів, проте концентрація їх була невелика, та вірогідне підвищення великих ЦК порівняно з попередніми показниками ($p < 0,05$). У тварин 2 і 3-ї дослідних груп вірогідно підвищились показники дрібних імунних комплексів порівняно з попередніми даними ($p < 0,05$), а у 1 і 3-ї групі показники великих комплексів ($p < 0,01$), причому рівень середніх і великих імунних комплексів у 1-й і 3-й дослідних групах був вищим ніж у контрольній.

Після ревакцинації телят на 10, 20-ту добу і через 2 місяці в сироватці крові контрольної і дослідних груп відмічали вірогідне підвищення концентрації циркулюючих імунних комплексів порівняно з попередніми даними ($p < 0,001$).

Рівень ЦК у крові телят пов'язаний із функціональним станом фагоцитарної системи і знаходиться у зворотному зв'язку з активністю фагоцитів. Один із механізмів видалення ЦК з організму – це взаємодія їх з мембранами нейтрофілів і макрофагів з наступним розщепленням їх лізосомальними ферментами в клітині.

Тому дуже цікаво порівняти показники ОФР з рівнем ЦК у крові телят, імунованих сальмонельозною вакциною. В захисті організму телят важливу роль відіграють клітинні механізми – імунні комплекси, які володіють властивістю

поглинати мікроорганізми і перетравлювати їх. Фагоцитарна реакція клітин крові є демонстративним показником захисту організму.

Опсонізуючу здатність лейкоцитів крові телят на фоні імунізації оцінювали за показниками фагоцитарної активності (ФА) та фагоцитарного індексу (ФІ). Результати досліджень представлені в таблиці 2.

До початку досліджу нами не встановлено суттєвої різниці в показниках активності фагоцитозу та індексу фагоцитозу між дослідними і контрольною групами телят.

Парентеральне введення ретинолу ацетату та α -токоферолу стимулювали фагоцитарну реакцію телят. Зокрема в крові тварин усіх дослідних груп підвищилась ФА: у 2-й групі – на 16,6 %; ІФ – на 1,9 ($p < 0,001$), 4-й – на 9 та 0,94 %, порівняно з попередніми показниками, та вірогідно на 12,6% ФА 2,08 порівняно з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$).

У цей період не відмічали значного підвищення концентрації імунних комплексів у сироватці крові телят дослідних груп.

Таблиця 2 – Показники ОФР крові телят, імунованих сальмонельозною вакциною, після застосування ретинолу ацетату, α -токоферолу та їх комплексу (%)

Період дослідження	1 контрольна група (n=4)		2-га дослідна група (n=6)		3-тя дослідна група (n=6)		4-та дослідна група (n=6)	
	ФА	ФІ	ФА	ФІ	ФА	ФІ	ФА	ФІ
60 хв								
До початку досліду	75,8±1,55	3,32±0,32	72,7±2,57	3,3±0,30	78,5±1,65	3,6±0,17	78±1,39	3,92±0,19
Після введення ретинолу ацетату, α -токоферолу	76,7±1,89	3,12±0,27	89,3±1,20 *■	5,2±0,76** ■■	80,5±1,5	5,4±0,41 *■	87±1,38 *■	4,86±0,54 ■■
Після імунізації								
Через 10 діб	78,8±1,03	3,26±0,24	89,3±1,45 ■	5,8±0,14 ■	85,2±1,49 **■■■	5,0±1,67	90±2,48 ■	6,33±0,24** ■
Через 20 діб	80,7±0,63	3,11±0,27	84,6±1,76	5,3±0,70 **	93±1,55 ***■	4,96±0,11 ■	89±1,73 ■	6,77±0,36 ■
Після ревакцинації								
Через 10 діб	86±3,34	3,56±0,14	91,3±0,33 ***	4,6±0,07 ■	91±1,87	5,13±0,16 ■	95±0,86 ***■■	7,49±0,19 ■
Через 20 діб	87,5±2,62	3,5±0,18	92±0,58	4,7±0,19 ■	91,8±1,44	4,12±0,12	90,8±1,89	7,32±0,30 ■
Через 2 міс.	81±2,48	3,2±0,42	90±0,82	7,1±0,56 ■	93±0,56	5,0±0,56	87,8±2,25	7,1±0,41

Примітки: * – $p < 0,001$; ** – $p < 0,05$; *** – $p < 0,01$ порівняно з попередніми даними; ■ – $p < 0,001$; ■■ – $p < 0,05$; ■■■ – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

Після щеплення телят сальмонельозною вакциною на 10-ту добу у тварин усіх груп відмічали тенденцію до підвищення ФА порівняно з попередніми даними. В цей період відмічалось незначне підвищення вмісту дрібних і середніх ЦК в усіх групах.

Надалі після реімунізації відмічали тенденцію до зростання активності фагоцитозу та ІФ у крові телят 3 та 4-ї дослідних груп. Слід зазначити, що хоч у сироватці крові телят і спостерігали підвищення концентрації малих та середніх ЦК, проте їх значення знаходились у фізіологічних межах.

Висновки і перспективи подальших досліджень. 1. Імунізація телят сальмонельозною вакциною на тлі використання ретинолу ацетату, α -токоферолу та їх комплексу сприяє підвищенню в сироватці крові вмісту ЦК, проте одночасна активація показників ОФР посилює їх виведення з організму.

Вважаємо перспективним проведення подальших наукових досліджень вивчення динаміки ЦК у сироватки крові телят, імунізованих сальмонельозною вакциною на тлі застосування вітамінних препаратів у комплексі з мікроелементами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бутенко Г.Е. Циркулирующие иммунные комплексы при активних формах туберкулеза / Г. Е. Бутенко, А.П. Античко, В.С. Самараш // Проблемы туберкулеза. – 1988. – № 8. – С. 48–56.
2. Devies K.A. Clearance pathways of soluble immune complexes in the pig insights into the adoptive nature of antigen clearance in humans / K.A. Davies // *Journal of Immunology*. – 1995. – Vol. 155. – P. 5760–5768.
3. Deboez D.G. Immunomodulatory effects of staphylococcal antigen and antigen-antibody complexes on canine MN and PMN leukocytes / D.G. Deboez // *American journal of Veterinary Research* – 1994. – №12. – 55(12). – P.16 90–1696.
4. Лебедев К.А. Иммунограмма в клинической практике / К.А.Лебедев, И.Д. Понякина. – М.: Наука, 1990. – С. 5.
5. Константинов Н.А. Иммунные комплексы и повреждение тканей / Н.А. Константинов. – М.: Медицина, 1996. – 256 с.
6. Krapf F.E. Circulating immune complexes in HIV-infected persons / F.E. Krapf // *Klin. Wochenschr.* – 1990. – № 3. – 66 (6). – P. 299–305.

7. Katz S. Liver bacterial clearance following hepatic artery ligation and portacaval shunt / S. Katz // G. Surg. Res – 1991. – № 9. – 51 (3). – P. 267–270.
8. Corazza Q.R. Changes in peripheral blood lymphocytes and immune complexes in splenectomized patients: lack of correlation with residual splenic function / Q.R. Corazza // G. Clin. Lab. Immunol. – 1990. – № 1. 31 (1). P. – 33–38.
9. Смирнов П.Н. Эколого-иммунологические исследования крупного рогатого скота в Якутии / П.Н. Смирнов, С.И. Логинов, Т.А. Агаркова и др. // Вестник Российской акад. с.-х. наук. – 1997. – № 6. – С. 68–71.
10. Lachmann P.Y. The pathogenesis of autoimmune immune complex disease / P.Y. Lachmann // Malays. J. Patol. – 1992. – № 6. – С.68–71.

Динамика циркулирующих иммунных комплексов у телят, иммунизированных сальмонеллезной вакциной, на фоне применения витаминов А и Е

Н.И. Сахнюк, В.М. Ивченко

Изучена динамика показателей циркулирующих иммунных комплексов у телят, иммунизированных сальмонеллезной вакциной, на фоне применения витаминов А и Е. Иммунизация телят сальмонеллезной вакциной на фоне использования ретинола ацетата, α -токоферола и их комплекса способствует повышению в сыворотке крови содержания ЦИК, но одновременная активация показателей ОФР усиливает их выведение из организма.

Ключевые слова: телята, иммунизация, сальмонеллез, циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), опсоно-фагоцитарная реакция (ОФР), фагоцитарная активность (ФА), фагоцитарный индекс (ФИ).

The dynamics of circulating immune complexes of calves immunized with salmonella vaccine on the background of the ussages of vitamin complex A and E.

N. Sakhnyk, V. Ivchenko

There were studied the dynamic of circular immune complex indexes in calves immunized with Salmonella vaccine on the ground of the usage of vitamins A and E. The level of circular immune complex is an important diagnostic indicator of the functional condition of humoral immunity and phagocyte activity of blood neutrophils. Immunization of calves with Salmonella vaccine on the ground of the vitamins and their complexes leads to increasing of circular immune complex indexes with simultaneous activation of the OFR indexes that facilitate their excretion.

Key words: calves, immunisation, salmonellosis, circulating immune complexes (CIK), fagocitarna activity (FA), fagocitarniy index (FI).