

М.М. Брошков, к.вет.н., доцент, Одеський державний аграрний університет

У статті представлено динаміку змін абсолютної кількості лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій, фагоцитарної активності нейтрофілів за дворазового проведення процедури фільтраційного плазмаферезу у собак. Встановлено, що після першої процедури плазмаферезу в організмі собак зменшується абсолютна кількість лейкоцитів. При цьому абсолютна кількість лімфоцитів та їх субпопуляцій навпаки збільшується. Найбільш вираженим є підвищення субпопуляції В-лімфоцитів. Оцінка показника абсолютної кількості фагоцитуючих нейтрофілів показала, що після однієї процедури значно зменшується кількість нейтрофілів здатних до фагоцитозу. Проведення другої процедури плазмаферезу сприяло наступним змінам імуніфізіологічного стану: збільшення абсолютної кількості лейкоцитів, абсолютний вміст лімфоцитів майже не змінився в порівнянні з кількістю після першої процедури, але при цьому відмічається збільшення субпопуляції Т-лімфоцитів в основному за рахунок Т-хелперів (індукторів). Відмічається також поступове відновлення фагоцитарної активності нейтрофілів в дослідній групі, після другої процедури. Зберігається також тенденція збільшення абсолютної кількості В-лімфоцитів як після першої так і після другої процедури плазмаферезу. Оцінка показника імунорегуляторного індексу (ІРІ) показала, що цей показник протягом проведення процедур плазмаферезу знаходився в межах нормальних значень. Це свідчить про те, що плазмаферез не викликає дисбалансу субпопуляцій Т-лімфоцитів а відповідно і здатність цих клітин до адекватної імунної відповіді

Ключові слова: лейкоцити, Т-лімфоцити, В-лімфоцити, фагоцитарна активність нейтрофілів, фільтраційний плазмаферез, імунорегуляторний індекс.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Мембранний плазмаферез є одним з видів еферентної терапії, яка направлена на виведення з організму різниці патологічних продуктів (лат. *Efferens*– видалення) [1].

Доволі часто в минулому використовували такий метод еферентної терапії, як кровопускання, яке окрім виведення надлишкового об'єму циркулюючої крові, звільняло організм від токсичних речовин. Але більш безпечним методом є видалення не цільної крові а її рідкої складової-плазми, компоненти якої є основними носіями патологічних продуктів організму, при цьому відновлення її в організмі відбувається набагато швидше ніж формені елементи крові [2].

Причиною різноманіття хронічних захворювань є порушення складу внутрішнього середовища організму-гомеостазу внаслідок або надлишкового надходження ксенобіотиків, в тому числі і токсичних, ззовні, або порушення різних ланок захисту – детоксикації, імунітету, виведення патологічних продуктів з організму [3]. Без ліквідації причин депресії або спотворених імунних реакцій важко розраховувати на стійку імункорекцію. Якщо не провести санацію внутрішнього середовища, не вивести патологічні продукти, не відновити нормальний перебіг метаболічних процесів, зокрема перекисного окиснення ліпідів або протеоліза, тобто, якщо не ліквідувати «токсичний прес» на імунітет то важко розраховувати на відновлення тільки за допомогою медикamentозної стимуляції [4].

Мембранний плазмаферез почав використовуватись в останні десятиріччя і в клініці дрібних хатніх тварин [5]. В літературі майже відсутні дані щодо впливу проведення такої процедури на зміни фізіологічних показників клітинного імунітету. Тому вважаємо доцільним проведення експериментальних досліджень, які дозволять оцінити

зміни імуніфізіологічного стану у собак за проведення жебраного плазмаферезу.

Метою наших досліджень було визначення впливу мембранного плазмаферезу на імуніфізіологічні показники крові собак.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили на собаках віком від 2 до 5 років, в кількості 6 голів, середня жива вага яких складала 22 кг. Для проведення процедури плазмаферезу використовували апарат АПФ – 1 «Гемофер» який являє собою камерний насос шлуночкового типу з впускаючими та випускаючими клапанами, які в період «діастоли» засмоктують кров з вени, а в період «систолі» виштовхують її далі. При здійсненні плазмаферезу використовували магістраль та плазма фільтр (ПМФ-800) одноразового використання. В якості плазма замітника 0,9% ізотонічний розчин NaCl. Як антикоагулянт застосовувався розчин гепарину (5000 МО/мл) в середньому 3 мл на голову. Антикоагулянт додавався поступово в 0,9 % NaCl з розрахунку 1 мл на 200 мл ізотонічного розчину. В середньому на одну процедуру плазмафереза витрачалось 600 мл 0,9 % NaCl. Кожній тварині процедуру плазмаферезу проводили тричі з інтервалом 48 годин.

Перед процедурою у тварин на тещерце відбирали периферичну кров і після стабілізації визначали кількість лейкоцитів (автоматичний геманалізатор MINDRAY VET 2800), лімфоцитів та їх субпопуляцій в реакції озетко утворення з еритроцитами барана (Е-РОК) та (Ем-РОК) з еритроцитами миші. В мазках забарвлених за Романовським-Гимзою підраховували кількість широкоплазмених лейкоцитів (НК-клітин). За здатністю захоплювати пекарські дріжджі визначали фагоцитарну активність нейтрофілів. Дослідження крові на вищевказані показники проводилися тричі (перед першою, перед другою та перед

третьою процедурами).

Результати власних досліджень та їх обговорення. Як показали результати досліджень в крові (табл.) собак, перед проведенням процедури плазмаферезу, абсолютна кількість лейкоцитів, лімфоцитів та їх субпопуляцій у тварин контрольної та дослідної груп суттєво не відрізняються і знаходяться у фізіологічних межах. Щодо фагоци-

тарної активності нейтрофілів то у собак дослідної групи середнє значення цього показника дещо вище, ніж у тварин контрольної групи.

Оцінка показників клітинного імунітету у собак після однієї процедури плазмаферезу показала, що у тварин дослідної групи, в порівнянні з собаками контрольної групи відбулося зниження абсолютної кількості лейкоцитів на 35 %.

Таблиця

Динаміка абсолютних показників клітинного імунітету за проведення плазмаферезу (M±m)

Показники	Абсолютна кількість імунокомпетентних клітин					
	Перед першою процедурою		Перед другою процедурою		Перед третьою процедурою	
	Дослідна (n=3)	Контрольна(n=3)	Дослідна (n=3)	Контрольна(n=3)	Дослідна (n=3)	Контрольна (n=3)
Лейкоцити, • 10 ⁹ л	10,65±2,48	10,93±2,05	7,85±0,26	10,33±2,8	9,4±0,81**	10,4±2,75
Лімфоцити, • 10 ⁹ л	1,59±0,21	1,53±1,07	2,24±0,82	1,63±0,23	2,23±0,13	1,64±1,57
Т-лімфоцити, кл/мкл	1070±2,31	1094±19,0	1273±27,3	1120±86,59	1461±25,98	1078±160,3
Т-хелпері/індуктори, кл/мкл	659,0±20,78	573±23,84	796±70,89	586±68,58	1007±281,7	614±32,0
Т-супресорі/цитотоксичні, кл/мкл	411,0±18,47	439±26,24	477,5±102,2	451,0±53,1	454,5±37,7	453±93,0
В-лімфоцити, кл/мкл	177,5±42,14	163,3±15,6	222,5±69,86	173,3±10,99	279,5±29,44	179,6±51,5
Імунорегуляторний індекс, Тх/Тс	2,8±0,08	2,27±0,59	2,6±0,07	2,07±0,08	3,0±0,07	2,23±0,08
НК-клітини, кл/мкл	141,5±0,57	142,6±112,76	270,0±2,47	130,3±28,6	249,0±12,49	139,3±28,6
Фагоцитоз нейтрофілів, кл/мкл	4463,5±164,3	3771±124,0	2359±180,13*	3935±944,8	3678±705,38	3866±640,04

Примітка: * - для p≤0,05 ** - для p≤0,01

Проте кількість лімфоцитів, а також їх субпопуляцій збільшилось. Більш вираженим, у відсотковому співвідношенні, є збільшення В-лімфоцитів (в середньому на 25 %) в порівнянні з абсолютною кількістю Т-лімфоцитів (на 19 %). Можливим фактором, який спричинив більш виражене збільшення В-лімфоцитів в крові дослідних собак імовірно є виведення з організму, під час плазмаферезу, значної кількості імуноглобулінів і саме їх зменшення спричинило проліферацію цих клітин.

Після першої процедури плазмаферезу, встановлено значне зниження абсолютної кількості фагоцитуючих нейтрофілів (4463,5±164,3 кл/мкл перед процедурою проти 2359±180,13 кл/мкл після її проведення) в крові собак дослідної групи.

Вивчення основних показників клітинного імунітету після другої процедури плазмаферезу показало збільшення абсолютної кількості лейкоцитів в крові дослідних собак. Абсолютна кількість лімфоцитів в крові дослідних тварин майже не змінився в порівнянні з їх кількістю після першої процедури. При цьому відмічається збільшення субпопуляції Т-лімфоцитів в основному за рахунок Т-хелперів (індукторів). Відмічається також поступове відновлення фагоцитарної активності нейтрофілів в крові тварин дослідної групи, після другої процедури. Зберігається також тенденція збільшення абсолютної кількості В-лімфоцитів як після першої так і після другої процедури плазмаферезу в крові тварин.

Оцінка показника імунорегуляторного індексу (ІРІ) показала, що цей показник протягом проведення процедур плазмаферезу в крові тварин знаходився в межах нормальних значень. Це свідчить проте, що плазмаферез не викликає дисбалансу субпопуляцій Т-лімфоцитів, а відпо-

відно і здатність цих клітин до адекватної імунної відповіді. Відомо, підвищення ІРІ свідчить про дисбаланс між імунорегуляторними субпопуляціями лімфоцитів (переважанням Т-хелперної над Т-упресорною) і може бути одним з факторів ризику розвитку імунопатологічних реакцій після проведення плазмаферезу.

Проведений зрівняльний аналіз імунограм при проведенні процедур плазмаферезу у собак показав, що ряд показників, які оцінюють клітинного імунітету суттєво змінюються в динаміці. Динаміка цих змін має бути врахована при проведенні плазмаферезу при різноманітних клінічних станах в клініці дрібних тварин.

Висновки. 1. Встановлено, що однократна процедура плазмаферезу у собак спричинює зниження абсолютної кількості лейкоцитів, збільшення абсолютної кількості лімфоцитів та їх субпопуляцій, а також значне зменшення фагоцитарної активності нейтрофілів. Проведення другої процедури плазмаферезу призводить до збільшення абсолютної кількості лейкоцитів та субпопуляції Т-лімфоцитів в основному за рахунок Т-хелперів (індукторів)

2. З'ясовано, що показник імунорегуляторного індексу (ІРІ) протягом проведення процедур плазмаферезу знаходився в межах нормальних значень. Сталість цього показника свідчить проте, що плазмаферез не викликає дисбалансу субпопуляцій Т-лімфоцитів а відповідно і здатність цих клітин до адекватної імунної відповіді.

Перспектива подальших досліджень. Вивчення впливу мембранного плазмаферезу на основні показників гуморального імунітету та біохімічні показники крові собак, дозволяють встановити зміни імунофізіологічного стану при різних дисфункціях імунної системи за проведення плазмаферезу та обґрунтувати його використання.

Список використаної літератури:

1. Sokolov E.I. Klinicheskaya immunologiya [Clinical immunology] / Sokolov E.I. – M.: Medicine, 1998. – 272 p. (In Russian)
2. Fedorov Y.N. Osnovy immunologii i immunopatologii sobak [Basics of immunology and immunopathology of dogs]. – Fedorov Y.N., Verhovskiy O.A., Slugin I.V. – M.: Inform-12, 2000. – 248 p. (In Russian)
3. Voinov V.A. Efferentnaya terapiya. Membranniy plazmaferez [Efferent therapy. Membrane plasmapheresis] / Voinov V.A. – M.: News, 2010. – 368 p. (In Russian)
4. Kazmirchuk V.E. Klinicheskay aimmunologiya i allergologiya s vozrastnimi osobennostyami [The clinical immunology and allergology with age characteristics] / Kazmirchuk V.E., Kovalchuk L.V., Malcev D.V. – K.: Medicine, 2012. – 520 p. (In Russian)
5. Solovyeva O.V. Opit primeneniya metoda plazmafereza v medicine criticheskikh sostoyanii [The experience of applying the method of plasmapheresis in critical care medicine] / Solovyeva O.V. – Biocontrol, 2010. – № 1. – P. 18-20. (In Russian).

Брошков М.М. Показатели клеточного иммунитета собак под влиянием мембранного плазмофереза

В статье представлена динамика изменений абсолютного количества лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций, фагоцитарной активности нейтрофилов при двукратном проведении процедуры фильтрационного плазмафереза у собак. Установлено, что после первой процедуры плазмафереза в организме собак уменьшается абсолютное количество лейкоцитов. При этом абсолютное количество лимфоцитов и их субпопуляций наоборот увеличивается. Наиболее выраженным является повышение субпопуляции В-лимфоцитов. Оценка показателя абсолютного количества фагоцитирующих нейтрофилов показала, что после одной процедуры значительно уменьшается количество нейтрофилов способных к фагоцитозу. Проведение второй процедуры плазмофереза способствовало следующим изменениям иммунофизиологического состояния: увеличению абсолютного количества лейкоцитов, абсолютное содержание лимфоцитов почти не изменилось по сравнению с количеством после первой процедуры, но при этом отмечается увеличение субпопуляции Т-лимфоцитов в основном за счет Т-хелперов (индукторов). Отмечается также постепенное восстановление фагоцитарной активности нейтрофилов в опытной группе, после второй процедуры. Сохраняется тенденция к увеличению абсолютного количества В-лимфоцитов как после первой так и после второй процедуры плазмафереза. Оценка показателя иммунорегуляторного индекса (ИРИ) показала, что этот показатель в период проведения процедур плазмафереза находился в пределах нормальных значений. Это свидетельствует о том, что плазмаферез не вызывает дисбаланса субпопуляций Т-лимфоцитов, а соответственно не влияет на способность этих клеток к адекватному иммунному ответу.

Ключевые слова: лейкоциты, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, фагоцитарная активность нейтрофилов, фильтрационный плазмаферез, иммунорегуляторный индекс.

Broshkov M.M. The influence of membrane plasmapheresis to immunophysiological parameters of dogs organisms

The article provides the information of the changes of the absolute number of leukocytes, lymphocytes and their subpopulations, phagocytic activity of neutrophils at double filtration plasmapheresis in dogs. The absolute number of leukocytes decreased after the first plasmapheresis in dogs. The absolute number of lymphocytes and their subpopulations increased. The subpopulation of B-lymphocytes increased. The number of neutrophils capable to phagocytosis reduced after one plasmapheresis. The second plasmapheresis procedures facilitated the following changes of immunophysiological state. The absolute number of leukocytes and lymphocytes increased. The subpopulation of T lymphocytes mainly increased due to T-helper cells (inducers). There is also a gradual recovery of phagocytic activity of neutrophils in the experimental group. The absolute number of B-lymphocytes after the first and after the second procedure of plasmapheresis increased. Immunoregulatory index during the plasmapheresis procedure was within the normal range. This indicates that plasmapheresis does not cause an imbalance of subpopulations of T-lymphocytes, without affecting the ability of these cells to an adequate immune response.

Keywords: white blood cells, T-lymphocytes, B-lymphocytes, phagocytic activity of neutrophils, filtration plasmapheresis, immunoregulatory index.

Дата надходження до редакції: 29.12.2014 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Камбур М.Д.