

**РЕАКЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ФАКТОРОВ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА СВИНЕЙ ПРИ СМЕШАННОЙ НЕМАТОДОЗНОЙ ИНВАЗИИ**

**С.И. ПОНОМАРЬ**

кандидат биологических наук

Белоцерковский национальный аграрный университет,  
Украина, Киевская обл., г. Белая Церковь, пер. Студенческий, д. 7, кв. 41,  
тел.: (04563)5-75-45, e-mail: [98526@mail.ru](mailto:98526@mail.ru)

**На поросятах в возрасте 2 мес, экспериментально инвазированных одновременно яйцами *Ascaris suum*, *Trichocephalus suis* в дозе соответственно по 500 и 200 яиц/кг, *Oesophagostomum dentatum* в дозе 900 личинок/кг и *Strongyloides ransomi* в дозе 40 тыс. личинок/гол., изучали динамику клеточных факторов иммунобиологической защиты организма в сравнении с моноинвазией, вызванной *S. ransomi*. При смешанной инвазии у поросят отмечали лейкоцитоз, эозинофилию, снижение количества эритроцитов, лимфоцитов, иммунокомпетентных клеток Т- и В-популяций, угнетение хелперного и активацию супрессорного звена иммунной системы, супрессию рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток, снижение уровня и активности зрелых Т-лимфоцитов.**

Ключевые слова: поросята, нематоды, Т- и В-лимфоциты, хелперы, супрессоры, иммунная система.

При разработке мер борьбы с гельминтозами большое значение имеют данные иммунологических исследований [7]. В литературе имеются данные о разных сторонах иммунного ответа хозяина на патогенное воздействие гельминтов. Однако ряд феноменов клеточного и гуморального иммунитета при нематодозах свиней остаются недостаточно изученными, в частности эффекторные механизмы протективного иммунитета расшифрованы не полностью, а их взаимосвязь и зависимость от стадии развития возбудителей до конца не изучены. Взгляды на характер иммунобиологической перестройки макроорганизма при нематодозах имеют несколько дискуссионный характер [9, 11, 15]. Есть сообщения о том, что антигены нематод стимулируют Т- и В-системы, обуславливают накопление иммуноглобулинов IgM, IgG, IgA [1]. Однако многие ученые считают, что возбудители нематодозов угнетают иммунные реакции хозяина [2, 13].

Известно, что развитие патологического процесса при гельминтозах происходит на фоне дисбаланса гуморальных и клеточных факторов иммунитета [12]. Многие исследователи в экспериментах наблюдали активацию Т- и В-систем [4, 5, 8]. При этом слабая инвазия приводила к увеличению количества как Т-, так и В-лимфоцитов в период миграции гельминтов. При перманентном заражении отмечали угнетение иммунного ответа [3]. Предполагается, что иммунные комплексы антиген-антитело образовались с участием IgG-антител, способны через Fc-рецепторы активизировать Т-супрессоры и в результате этого угнетать иммунный ответ [10]. Антитела, которые при этом накопились в организме, реагируют с антидетерминантными участками анти-

тел, которые синтезировались раньше. Антиидиотипичные антитела способны взаимодействовать с иммуноглобулиновыми рецепторами В-лимфоцитов, угнетая способность плазматических клеток синтезировать соответствующие антитела [14].

Целью исследований было изучение особенностей динамики клеточных факторов иммунобиологической защиты организма свиней при смешанной нематодозной инвазии.

### ***Материалы и методы***

Опыт проводили на 18 поросятах 2-месячного возраста, разделенных на 3 группы по 6 голов в каждой. Животных первой подопытной группы заражали стронгилоидами в дозе 40 тыс. личинок на голову, второй – стронгилоидами в дозе 40 тыс. личинок на голову, аскаридами в дозе 500 яиц/кг, трихоцефалами в дозе 200 яиц/кг и эзофагостомы в дозе 900 яиц/кг. Животных контрольной группы не заражали. За состоянием организма опытных и контрольных свиней наблюдали в течение 60 сут.

Исследовали кровь, отобранную из орбитального синуса. Ее морфологический состав определяли по общепринятым методикам. При комбинированном подходе с использованием морфологических, иммунологических и цитохимических методов определяли уровень в периферической крови иммуноцитохимических маркеров популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток. После осуществления соответствующих реакций розеткообразования, префиксации 1 % глутаральдегидом и постфиксации клеток в парах 10 % нейтрального формалина, проводили определение активности лизосомальных ферментов: кислой фосфатазы (КФ) и кислой неспецифической эстеразы (КНЭ), по остаточным продуктам которых дифференцировали иммунокомпетентные клетки [6].

### ***Результаты и обсуждение***

Количество эритроцитов в крови инвазированных свиней постепенно снижалось с 10 по 60-е сутки после заражения и было ниже при смешанной инвазии (при моноинвазии –  $5,18 \pm 0,13$ – $5,28 \pm 0,07$ , при смешанной –  $5,05 \pm 0,14$ – $5,23 \pm 0,13$ , в контроле –  $5,57 \pm 0,09$ – $5,72 \pm 0,08$  тыс./л). У зараженных поросят с 15 по 60-е сутки снижалось содержание гемоглобина в крови при моноинвазии на 14,8 % и при смешанной инвазии – на 16,2 % по сравнению с контролем  $102,83 \pm 2,26$ – $106,83 \pm 1,94$ , при смешанной –  $101,17 \pm 1,92$ – $103,33 \pm 2,17$ , в контроле –  $120,67 \pm 2,22$ – $125,83 \pm 1,96$  г/л).

На протяжении всего опыта у подопытных животных констатировали лейкоцитоз ( $P < 0,05$ ) с увеличением уровня лейкоцитов к концу исследований и большим их количеством при смешанной инвазии (при моноинвазии –  $17,18 \pm 0,49$ – $21,92 \pm 1,11$ , при смешанной –  $18,43 \pm 0,44$ – $23,17 \pm 0,66$ , в контроле –  $15,18 \pm 0,4$ – $16,25 \pm 0,7$  /л).

Дифференцированный подсчет клеток белой крови показал эозинофилию у зараженных нематодами животных, которая возрастала с развитием патологического процесса и была выше у поросят при полиинвазии (при моноинвазии –  $6,17 \pm 0,95$ – $10,83 \pm 1,22$ , при смешанной –  $8,17 \pm 6,78$ – $12,33 \pm 1,98$ , в контроле –  $2,0 \pm 0,45$ – $2,67 \pm 0,49$  %).

Динамика общего пула иммунокомпетентных клеток в крови инвазированных нематодами свиней характеризовалась лимфоцитозом с 7 по 10-е сутки после заражения ( $P > 0,05$ ) и достоверным снижением лимфоцитов на 30–60-е сутки (при моноинвазии –  $37,5 \pm 1,75$ – $40,83 \pm 1,42$ , при смешанной –  $36,67 \pm 1,74$ – $38,67 \pm 2,03$ , в контроле –  $46,17 \pm 1,54$ – $47,33 \pm 1,61$  %).

Количество Т-лимфоцитов возросло на 7-е сутки инвазии ( $P < 0,05$  при смешанной инвазии). После этого (с 10 по 60-е сутки) наблюдали достоверное снижение количества клеток этой популяции, выраженное больше при смешанной инвазии (при моноинвазии –  $27,33 \pm 2,32$ – $31,83 \pm 2,6$ , при смешанной –  $24,83 \pm 2,94$ – $31,17 \pm 2,59$ , в контроле –  $42,83 \pm 2,61$ – $47,33 \pm 2,26$  %). Уровень

Е-РОК также достоверно снижался на 10–60-е сутки заражения и, особенно, у поросят при смешанной инвазии.

Повышение количества В-лимфоцитов констатировали на 7-е сутки у животных при моноинвазии ( $37,33 \pm 1,38$  % против  $32,83 \pm 1,25$  % в контроле). С 15 по 60-е сутки развития инвазионного процесса отмечали достоверное снижение уровня В-лимфоцитов, более выраженное при смешанной инвазии ( $26,17 \pm 1,22$ – $26,67 \pm 1,93$ , в контроле –  $32,5 \pm 1,41$ – $34,17 \pm 1,54$  %). Интенсивность комплиментзависимого розеткообразования не имела достоверного отличия у инвазированных и интактных свиней.

Хелперная активность Т-системы у инвазированных нематодами свиней была угнетенной с 10 по 60-е сутки, о чем свидетельствовало достоверное снижение количества Т-лимфоцитов активной (при моноинвазии –  $18,67 \pm 1,89$ – $22,67 \pm 2,84$ , при смешанной –  $18,17 \pm 2,39$ – $19,5 \pm 3,06$ , в контроле –  $32,67 \pm 3,09$ – $39,33 \pm 2,4$  %) и теofilлинрезистентной субпопуляций (при моноинвазии –  $16,33 \pm 2,94$ – $20,83 \pm 0,91$ , при смешанной –  $16,67 \pm 2,60$ – $18,33 \pm 2,35$ , в контроле –  $31,83 \pm 2,85$ – $34,17 \pm 2,77$  %). Сниженной также была функциональная активность рецепторного аппарата Т-хелперов ( $P < 0,05$ ) с 30 по 60-е сутки. Наряду с этим достоверно возрастал уровень Т-лимфоцитов супрессорной субпопуляции. Количество Т-супрессоров было выше у свиней, зараженных нематодами 4 видов с 7 по 60-е сутки инвазии: при моноинвазии –  $7,33 \pm 0,42$ – $14,33 \pm 1,20$ , при смешанной –  $8,5 \pm 0,43$ – $15,33 \pm 2,23$ , в контроле –  $5,33 \pm 0,41$ – $7,83 \pm 1,45$  %.

Информацию о супрессии клеточных факторов иммунобиологической защиты инвазированных нематодами свиней дополняли данные о динамике иммуноцитохимических маркеров иммунокомпетентных клеток. С 10 по 60-е сутки после заражения выявляли достоверное снижение уровня иммуноцитохимических маркеров Т-лимфоцитов по кислой фосфатазе (при моноинвазии –  $21,17 \pm 2,07$ – $26,33 \pm 2,91$ , при смешанной –  $17,33 \pm 3,41$ – $26,17 \pm 2,47$ , в контроле –  $36,33 \pm 3,19$ – $42,67 \pm 4,1$  %) и кислой неспецифической эстеразе (при моноинвазии –  $18,33 \pm 1,94$ – $20,33 \pm 1,15$ , при смешанной –  $14,17 \pm 1,60$ – $20,17 \pm 1,14$ , в контроле –  $24,67 \pm 1,59$ – $29,0 \pm 2,03$  %), иммунокомпетентных клеток, способных принимать участие в спонтанном розеткообразовании и иметь крупногранулярную реакцию при цитохимическом выявлении КФ (при моноинвазии –  $10,17 \pm 1,96$ – $16,67 \pm 1,15$ , при смешанной –  $8,83 \pm 1,58$ – $14,67 \pm 0,84$ , в контроле –  $21,17 \pm 1,49$ – $25,83 \pm 2,83$  %). При этом констатировали четкую тенденцию к большему снижению уровня упомянутых клеток у свиней при смешанной нематодозной инвазии в сравнении с инвазированными только стронгилоидами.

Таким образом, изложенные выше результаты исследований можно интерпретировать следующим образом. При экспериментальном заражении патологические процессы развивались в ответ на патогенное воздействие стронгилоид, аскаридов, трихурисов и эзофагостом (при смешанной инвазии), а также стронгилоид (при моноинвазии). Лейкоцитарная реакция инвазированного макроорганизма на протяжении всего инвазионного процесса свидетельствовала об ответной реакции защитных механизмов на внедрение и паразитирование нематод. Это проявлялось повышением уровня алергизации организма, о чем свидетельствовала на протяжении всего периода наблюдений эозинофилия.

Сенсибилизация организма поросят антигенами нематод проявилась лимфоцитозом только в начальной стадии развития процесса. В дальнейшем, ответной реакцией организма поросят на воздействие нематод была иммуносупрессия, которая проявлялась снижением уровня лимфоцитов, представителей Т- и В-популяций иммунокомпетентных клеток, угнетением их функциональной активности (исходя из интенсивности розеткообразования и уровня Е-РОК с крупногранулярной реакцией по КФ), уменьшением в крови количества зрелых тимусзависимых лимфоцитов (по характеру распределения остаточных продуктов в реакции по КФ).

Особенно подверглось супрессии хелперное звено тимусзависимой системы. Комплексный подход с использованием иммунологических и иммуноцитохимических тестов обеспечил дополнительные возможности при оценке состояния клеточных факторов иммунитета. Так, по динамике розеткообразующих иммунокомпетентных клеток на 7-е сутки заражения возрастало количество Т- и В-лимфоцитов. Динамика иммуноцитохимических маркеров показала, что в течение всего периода после заражения животных имели место супрессия Т- и В-лимфоцитарного звена иммунитета, а 7-дневное увеличение репродукции Т- и В-лимфоцитов свидетельствовало о кратковременном повышении активности рецепторного аппарата клеток обеих популяций.

Динамика изучаемых показателей также показала, что степень угнетения клеточного звена иммунитета была выше у полиинвазированных животных и возрастала с развитием патологического процесса.

Таким образом, развитие патологического процесса у свиней при нематодозной инвазии проявляется повышенной аллергизацией организма, супрессией клеточного звена иммунитета, возрастающей по мере развития патологического процесса и более выраженной при смешанной инвазии, по сравнению со стронгилоидозной моноинвазией. Изложенные выше результаты исследований показывают целесообразность патогенетической (в частности, иммуностимулирующей) терапии свиней при нематодозах, а при разработке и обосновании схем лечения – дифференцированного подхода с учетом состояния защитных, репаративных механизмов макроорганизма.

### Литература

1. Астафьев Б.А. Иммунопатологические проявления и осложнения гельминтозов. – М., 1987. – 55 с.
2. Даугалиева Э.Х. Особенности реактивности при гельминтозах и ее роль в системе паразит-хозяин // Вестн. с.-х. науки. – 1984. – № 1. – С. 128–135.
3. Даугалиева Э.Х., Пономарь С.И. Определение репродуктивной активности Т- и В-систем и состояния рецепторного аппарата Т-лимфоцитов свиней при нематодозах // Тр. ВИЭВ «Иммунитет сельскохозяйственных животных». – М., 1989. – Т. 67. – С. 97–103.
4. Каньгина И.С. Механизм иммунитета при диктиокаулезе овец и пути его коррекции: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 1989. – 22 с.
5. Полетаева О.Г. Феномен розеткообразования В-лимфоцитами селезенки мышей, инвазированных *Ascaris suum* // Мед. паразитол. и паразит. бол. – 1978. – № 4. – С. 34–38.
6. Пономарь С.И., Сорока Н.М., Литвиненко О.П. Рекомендації з визначення рівня імунобіологічної реактивності тварин за гельмінтозів. – Біла Церква, 2009. – 42 с.
7. Шульц Р.С., Гвоздев Е.В. Основы общей гельминтологии. – М.: Наука, 1976. – Т. 3. – 246 с.
8. Якубовский М.В. Кишечные нематодозы свиней (эпизоотология, патогенез, меры борьбы и профилактика): Автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – Минск, 1987. – 33 с.
9. El-Malky M., Maruyama H., Hirabayashi Y. et al. Intraepithelial infiltration of eosinophils and their contribution to the elimination of adult intestinal nematode, *Strongyloides venezuelensis* in mice // Parasitol. Int. – 2003. – V. 52, № 1. – P. 71–79.
10. Kerepesi L.A., Hess J.A., Nolan T.J. et al. Complement component C3 is required for protective innate and adaptive immunity to larval *Strongyloides stercoralis* in mice // J. Immunol. – 2006. – V. 176, № 7. – P. 4315–4322.
11. Mir A., Benahmed D., Igual R. et al. Eosinophil-selective mediators in human strongyloidiasis // Parasite Immunol. – 2006. – V. 28, № 8. – P. 397–400.
12. Onah D.N., Nawa Y. Mucosal immunity against parasitic gastrointestinal nematodes // Korean J. Parasitol. – 2000. – V. 38, № 4. – P. 209–236.

13. *Seet R.C., Lau L.G., Tambyah P.A.* Strongyloides hyperinfection and hypogammaglobulinemia // *Clin. Diag. Lab. Immunol.* – 2005. – V. 12, № 5. – P. 680–682.

14. *Wilkes C.P., Bleay C., Paterson S., Viney M.E.* The immune response during a *Strongyloides ratti* infection of rats // *Parasite Immunol.* – 2007. – V. 29, № 7. – P. 339–346.

15. *Wirk B., Wingard J.R.* *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in hematopoietic stem cell transplantation // *Transp. Infect. Dis.* – 2009. – V. 11, № 2. – P. 143–148.

### **The reaction of cell factors of swine's organism immunobiological defense at mixed nematodosis**

**S.I. Ponomar**

On pigs, experimentally infected by eggs *Ascaris suum*, *Trichocephalus suis* in a doze of respectively 500 and 200 eggs/kg of body weight, *Oesophagostomum dentatum* in a doze of 900 larva/kg and *Strongyloides ransomi* in a doze of 40 thousand of larva studied the dynamics cell factors of swine's organism immunobiological defense at mixed nematodosis comparatively with strongyloidosis monoinfection. It is established that the development of the pathological process at mixed nematodosis is accompanied by leucocytosis, eosinofilia, decreased number of erythrocytes, lymphocytes and immunocompetent cells of T- and B-population, oppression of the helper and activation of the suppressor element of immune system, suppression of the receptor apparatus of the immunocompetent cells, decreased level of the mature T-lymphocytes and their functional activity.

Keywords: pigs, nematodes, T- and B-lymphocytes, helper, suppressor, immune system.

