

УДК: 546.47+579.852.11+591.85

## ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИКІВ ПРИ ПОРУШЕННЯХ ПОКАЗНИКІВ ЛЕЙКОЦИТАРНОЇ ФОРМУЛИ КРОВІ КРОЛІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЦИНКОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

М. В. Кривцова, М. В. Ніколайчук-Малеш

*Ефективність пробіотиків при порушеннях показників лейкоцитарної формули крові кролів за умов експериментальної цинкової інтоксикації. — М.В. Кривцова, М. В. Ніколайчук-Малеш. — Показана ефективність використання пробіотиків із бацил для корекції деяких показників лейкоцитарної формули кролів в умовах експериментальної цинкової інтоксикації. Цинкова інтоксикація, відтворена шляхом перорального введення сульфату цинку із розрахунку 2 мг/кг протягом 10 днів, спричинила зниження кількості лімфоцитів, збільшення числа моноцитів, еозинофілів, нейтрофілів. Регулярне введення отруєним тваринам пробіотиків протягом 7 днів супроводжувалося нормалізацією показників лейкограми.*

**Ключові слова:** цинкова інтоксикація, пробіотики, лейкоцитарна формула.

**Адреса:** м. Ужгород, Ужгородський національний університет, кафедра генетики, фізіології рослин і мікробіології, біологічний факультет, вул. Волошина, 32, e-mail: f-k-m-79@rambler.ru

*Effectiveness of probiotics against the derangements of rabbit's leukocyte formula under experimental zinc condition. — M. V. Krivtsova, M. V. Nikolaychuk-Malesh. — The principal possibility of effective using bacilli-based probiotics for some rabbit's blood indices correction under experimental toxic condition of zinc salts has been shown. Zinc intoxication reproduced by oral administration of zinc sulphate in a daily concentration of 2mg/kg during 10 days caused certain metabolic changes: numbers of lymphocytes are decreased; contents of monocites, eosinophils and neutrophils are increased. Regular oral inoculation of poisoned animals' with probiotics during 7 days leads to the normalization of the all leukocyte formula indices.*

**Key words:** zinc intoxication, probiotic, leukocyte formula.

**Address:** Uzhgorod, Uzhgorod National University, Department of Genetics, Plant Physiology and Microbiology, Biological Faculty, 32, Voloshina St., e-mail: f-k-m-79@rambler.ru

### Вступ

Дослідження впливу важких металів (ВМ) на організм теплокровних та розробка способів профілактики та корекції інтоксикацій, обумовлених тим чи іншим металом, в останні десятиріччя набуває особливого значення у зв'язку з інтенсифікацією негативного впливу ксенобіотиків на організм людини і тварин, значною різноманітністю проявів захворювань, що пов'язані з їх шкочинною дією та обмеженістю засобів, що характеризуються протективними та антиотоксичними властивостями.

Наслідки дії важких металів на організм теплокровних на сьогоднішній день остаточно не з'ясовані. Дослідження впливу цинкової інтоксикації на кишкову мікрофлору, біохімічний, тиреоїдний статус показало значні патологічні зміни досліджуваних показників у отруєних тварин [1, 2]. Вивчення характеру змін показників лейкоцитарної формули за умов отруєння ВМ (на прикладі солі цинку) представляє інтерес з точки зору оцінки впливу останнього на процеси кровотворення (при різних захворюваннях змінюється як кількісний, так і якісний склад лейкоцитів), що розширює уявлення про механізм токсичного впливу сполук

цинку на організм теплокровних. Оскільки зміни лейкограми крові при різних захворюваннях не є строго специфічними і їх характер залежить як від етіологічних факторів, так і стадії, важкості протікання патологічного процесу, клінічний аналіз крові представляє діагностичну цінність у сукупності з всією симптоматикою захворювання. Порівняння даних клінічних аналізів при повторних дослідженнях дає можливість судити про протікання патологічного процесу, ефективність лікування і виникнення ускладнень [3].

Метою нашої роботи було дослідити вплив експериментальної цинкової інтоксикації на показники лейкограми крові кролів та вивчити корегуючу ефективність пробіотиків із бацил стосовно виявлених порушень.

### Матеріал і методи досліджень

Для визначення впливу сульфату цинку та корегуючої ефективності пробіотиків із бактерій роду *Bacillus* на показники лейкоцитарної формули крові організму лабораторних тварин використовували статевозрілих клінічно здорових кролів вагою

2,5 – 3,5 кг породи “шиншила”. Контроль становила одна з восьми груп кролів – здорові тварини. Експериментальне отруєння у тварин відтворювали шляхом перорального введення сульфату цинку з розрахунку 2 мг/кг 1 раз на добу протягом 10 діб. Одна з груп становила контроль інтоксикації – Zn(інтоксикація). Тваринам груп Zn+Моноспорин (терапія) та Zn+Біоспорин (терапія), з метою дослідження дії пробіотиків на організм при цинкової інтоксикації, після припинення введення сульфату цинку застосовували біопрепарати Моноспорин-ПК та Біоспорин відповідно протягом 7 діб у вищевказаній дозі. Дослідження профілактичної ефективності проводили шляхом введення Моноспорину-ПК та Біоспорину тваринам груп Моноспорин+Zn (профілактика) та Біоспорин+Zn(профілактика) за тиждень до відтворення інтоксикації протягом 7 днів. Кролів фіксували в індивідуальному боксі з овальною прорізною у передній стінці. Введення біопрепаратів і солі цинку здійснювали перорально за допомогою металічного катетера, одягнутого на шприц, згідно описаної методики.

Показники лейкограми крові визначали в динаміці: у тварин групи Zn(інтоксикація) – через 1 та 7 діб після припинення введення солі цинку; Zn+Моноспорин(терапія) та Zn+Біоспорин (терапія) – через 1 та 7 діб після останнього введення пробіотику; Моноспорин+Zn(профілактика) та Біоспорин+Zn(профілактика) – через 1 та 7 діб після останнього введення сульфату цинку.

Відсоткове співвідношення різних видів лейкоцитів периферійної крові кролів вивчали шляхом підрахунку лейкоцитарної формули. Мазки крові фарбували за Паппенгеймом: з використання барвника-фіксатора Май-Грюнвальда та барвника Романовського. Зафарбований мазок крові мікроскопіювали з імерсійною системою; реєстрували 200 клітин, підраховували число лейкоцитів кожного виду та отримане число ділили на два [4]. Для виготовлення мазків краплину капілярної крові відбирали за допомогою скарифікатора із вуха тварини [5].

### Результати досліджень

В умовах цинкової інтоксикації нами виявлено різні зміни у лейкоцитарній формулі периферійної крові лабораторних тварин. У крові отруєних сульфатом цинку кролів реєстрували моноцитоз, еозинофілію, лімфоцитопенію, підвищений вміст як паличкоядерних, так і сегментоядерних нейтрофілів (табл. 1). Кількість еозинофілів у інтактних тварин складала  $2,13 \pm 0,23$  %, за умов інтоксикації їх число зростало, причому після припинення введення солі цинку відсоток еозинофілів ще більше збільшувався.

При інтоксикації відмічали підвищений вміст як сегментоядерних, так і паличкоядерних нейтрофілів.

Через 7 діб після припинення застосування токсиканту відсоток моноцитів знижувався до  $7,13 \pm 0,23$  % ( $p < 0,001$ ), але їх кількість у 2,3 рази перевищувала значення цього показника у інтактних тварин; вміст лімфоцитів зростав і становив  $54,75 \pm 0,67$  %, однак у 1,4 рази був нижче, ніж у інтактних тварин. Через 7 днів після припинення останнього введення сульфату цинку реєстрували зниження кількості нейтрофілів: паличкоядерних – до рівня норми ( $8,25 \pm 0,31$  %), сегментоядерних – нижче значення цього показника у інтактних тварин ( $32,63 \pm 0,71$  %).

Кількість моноцитів під впливом введення сульфату цинку зросла у 4,7 разів. В умовах інтоксикації спостерігали суттєве зниження відсотку лімфоцитів, що свідчить про пригнічуючий вплив сульфату цинку на імунну систему тварин.

Реєстровані зміни у лейкограмі крові отруєних тварин, зокрема лімфоцитопенія, нейтрофіліоз, токсична зернистість нейтрофілів, є ознаками інтоксикації організму [4]. Слід зазначити, що встановлена нами лімфоцитопенія не є самостійним гематологічним симптомом, оскільки у переважній більшості супроводжує стани, при яких у лейкоцитарній формулі збільшено число нейтрофілів, і свідчить про інтоксикацію організму. Зростання кількості еозинофілів при отруєнні може вказувати на розвиток алергічних реакцій. Існує також думка, що одним із механізмів захисної функції еозинофілів є їх здатність до адсорбції і знешкодження токсичних речовин, тому еозинофілія іноді розглядається як прояв захисної функції організму. Збільшення відсотку еозинофілів реєструють також при зростанні концентрації цинку в крові [4].

Корегуючий вплив Моноспорину-ПК за умов інтоксикації проявлявся у тенденції до нормалізації вмісту моноцитів. Враховуючи дані літератури стосовно діапазону нормального значення кількості моноцитів у кролів (1-4 %) [5], їх відсоток у групі тварин Zn+Моноспорин(терапія) становив верхню межу норми (табл. 2) Введення Моноспорину-ПК призвело до значного підвищення вмісту лімфоцитів та суттєвого зниження еозинофілів: їх кількість у групі Zn+Моноспорин(терапія) становила  $4,00 \pm 0,19$  % проти  $9,25 \pm 0,25$  % у групі отруєних тварин, які пробіотик не отримували. Після тижневого застосування Моноспорину-ПК в умовах отруєння кількість нейтрофілів не відрізнялась від фізіологічно нормальних значень.

Через 7 діб після припинення введення пробіотику у групі Zn+Моноспорин(терапія) спостерігали нормалізацію числа моноцитів та статистично достовірне зниження кількості еозинофілів.

Профілактичне застосування пробіотику попереджало розвиток лімфоцитопенії: кількість лімфоцитів у цій групі тварин становила  $72,25 \pm 0,59$  %. Число паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів за умов введення пробіотику до відтворення інтоксикації практично не відрізнялось від норми і становило  $8,00 \pm 0,27$  % та  $40,13 \pm 0,44$  %

відповідно, що можна відмітити і відносно числа моноцитів, однак вміст еозинофілів дещо перевищував норму (3,88±0,30 %).

У групі профілактичного застосування Моноспорину-ПК через тиждень після останнього введення сульфату цинку також реєстрували статистично достовірне зниження еозинофілів.

Застосування Біоспорину з метою корекції показників лейкограми у отруєних кролів також показало ефективність пробіотику із бацил при цинковій інтоксикації (табл. 3). Терапевтичне застосування Біоспорину на фоні цинкової інтоксикації кролів забезпечувало зниження кількості моноци-

тів, еозинофілів та підвищення лімфоцитів. При застосуванні Біоспорину число сегментоядерних нейтрофілів знижувалось до рівня, встановленого у здорових тварин, у нелікованих тварин – нижче фізіологічної норми; кількість паличкоядерних нейтрофілів відновлювалась до рівня норми як при терапевтичному введенні пробіотику, так і у тварин, які Біоспорин не отримували.

Через 7 діб після припинення введення Біоспорину спостерігали відновлення нормальних значень моноцитів, паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів, тенденцію до нормалізації еозинофілів та лімфоцитів.

Таблиця 1. Показники лейкоцитарної формули крові кролів за умов експериментальної цинкової інтоксикації, (M±m)

Показник, %	Варіант дослідю		
	Інтактні тварини	Zn (інтоксикація)	
		доба після останнього введення сульфату цинку	
		1	7
Моноцити	3,13±0,23	14,63±0,38*	7,13±0,23***
Лімфоцити	73,88±0,64	42,63±0,91*	54,75±0,67***
Еозинофіли	2,13±0,23	5,38±0,32*	9,25±0,25***
Нейтрофіли паличкоядерні	7,50±0,33	11,88±0,30*	8,25±0,31**
Нейтрофіли сегментоядерні	41,25±0,37	47,00±0,46*	32,63±0,71***

Примітка: \* - зміни показників достовірні у порівнянні з тваринами групи Контроль; \*\* - стосовно показників у тварин групи Zn (інтоксикація) через 1 добу після останнього введення сульфату цинку; \*\*\* - по відношенню до тварин обох зазначених груп, (p<0,05).

Таблиця 2. Вплив Моноспорину-ПК на показники лейкоцитарної формули крові кролів за умов експериментальної цинкової інтоксикації, (M±m)

Показник, %	Варіант дослідю			
	Zn+Моноспорин(терапія)		Моноспорин+Zn(профілактика)	
	доба після останнього введення пробіотику		доба після останнього введення сульфату цинку	
	1	7	1	7
Моноцити	4,13±0,13***	3,38±0,18**	3,50±0,33**	3,38±0,26**
Лімфоцити	68,88±0,91***	70,38±0,68***	72,25±0,59**	72,50±0,63**
Еозинофіли	4,00±0,19***	3,13±0,30***	3,88±0,30***	2,88±0,23**
Нейтрофіли паличкоядерні	7,88±0,30**	7,38±0,26**	8,00±0,27**	7,75±0,37**
Нейтрофіли сегментоядерні	41,63±0,38**	41,88±0,30**	40,13±0,44**	40,50±0,42**

Примітка: \* - зміни показників достовірні у порівнянні з тваринами групи Контроль; \*\* - стосовно показників у тварин групи Zn (інтоксикація) через 1 добу після останнього введення сульфату цинку; \*\*\* - по відношенню до тварин обох зазначених груп, (p<0,05).

Таблиця 3. Вплив Біоспорину на показники лейкоцитарної формули крові кролів за умов експериментальної цинкової інтоксикації, (M±m)

Показник, %	Варіант дослідю			
	Zn+Біоспорин(терапія)		Біоспорин+Zn(профілактика)	
	доба після останнього введення пробіотику		доба після останнього введення сульфату цинку	
	1	7	1	7
Моноцити	4,25±0,25***	3,50±0,19**	3,75±0,16**	3,63±0,18**
Лімфоцити	69,84±0,35***	71,13±0,52***	72,40±0,33**	73,63±0,38**
Еозинофіли	4,00±0,27***	3,00±0,27***	3,75±0,25***	2,70±0,25**
Нейтрофіли паличкоядерні	7,75±0,16**	7,38±0,26**	7,88±0,30**	7,63±0,26**
Нейтрофіли сегментоядерні	40,38±0,38**	40,75±0,37**	40,00±0,38**	40,38±0,46**

Примітка: \* - зміни показників достовірні у порівнянні з тваринами групи Контроль; \*\* - стосовно показників у тварин групи Zn (інтоксикація) через 1 добу після останнього введення сульфату цинку; \*\*\* - по відношенню до тварин обох зазначених груп, (p<0,05).

Введення Біоспорину з профілактичною метою забезпечувало виразну ефективність стосовно показників лейкоцитарної формули: запобігало розвитку моноцитозу, паличкоядерному нейтрофільозу, сприяло суттєво меншому зростанню еозинофілів, сегментоядерних нейтрофілів та зниженню лімфоцитів. Через 7 діб після останнього введення сульфату цинку у групі профілактичного застосування Біоспорину спостерігали відновлення фізіологічно нормальних значень кількісних показників лейкограми.

Порівняльний аналіз дії Моноспорину-ПК та Біоспорину стосовно показників лейкоцитарної формули показав, що терапевтичний та профілактичний ефект застосування пробіотиків практично не відрізнявся. Про вплив пробіотиків на основні бактерій роду *Bacillus* на показники лейкограми свідчать дані літератури, які вказують на збільшення кількості лімфоцитів крові людей та тварин в результаті прийому Біоспорину [6]. Показана стимуляція захисних реакцій організму під впли-

вом біопрепаратів із бацил, яка проявляється і у здатності бактерій роду *Bacillus* до активації регіональних лімфовузлів і лейкоцитів крові [7].

## Висновки

1. Виявлено суттєві зміни кількісних показників лейкограми крові кролів за умов експериментальної цинкової інтоксикації: моноцитоз, лімфоцитопенію, нейтрофільоз та еозинофілію.
2. Показано ефективну корекцію порушень, викликаних інтоксикацією, в результаті терапевтичного введення пробіотиків отруєним тваринам: зниження вмісту моноцитів та еозинофілів, суттєве підвищення відсотку лімфоцитів, нормалізацію числа нейтрофілів. Профілактичне застосування бактеріальних препаратів попереджувало розвиток лімфоцитопенії, нейтрофільозу, моноцитозу, сприяло регуляції кількості еозинофілів у крові отруєних тварин.

- 
1. Кривцова М.В. Ефективність Біо- та Моноспорину-ПК стосовно порушень кишкової мікрофлори при експериментальній цинковій інтоксикації // Довкілля та здоров'я. – 2006. – № 4. – С. 15-19.
  2. Бойко Н.В, Кривцова М.В., Фабрі З.Й. Корекція Моноспорин-ПК низки показників біохімічного статусу організму кролів в умовах експериментальної цинкової інтоксикації // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2004. – № 3. – С. 24-29.
  3. Любина А.Я., Ильичева Л.П., Катасонова Т.В., Петросова С.А. Клинические лабораторные исследования. – М.: Медицина, 1984. – 288 с.
  4. Руководство по клинической лабораторной диагностике / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1982. – 576 с.
  5. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – К.: Высшая школа, 1983. – 383с.
  6. Смирнов В.В., Резник С.Р., Сорокулова Л.Б. Високоэффективный биологический препарат Биоспорин // Лікарська справа. – 1994. – № 5-6. – С. 133 – 138.
  7. Резник С.Р., Вьюницкая В.А., Афонская С.В., Смирнов В.В. Серологический ответ макроорганизма на патогенные бактерии под влиянием пробиотиков из бацилл // Микробиологический журнал – 1993. – Т. 55, № 5. – С. 81-83.

Отримано: 12 січня 2007 р.

Прийнято до друку: 1 лютого 2007 р.