

12. Ветеринарно-санітарна експертиза з основами технології і стандартизації продуктів тваринництва / [Якубчак О.М., Хоменко В.І., Мельничук С.Д. та ін.]; — К.: ТОВ «Біопром», 2005. — 800 с.
13. Якубчак О.М. Збірник науково-методичних рекомендацій з ветеринарно-санітарної експертизи / Якубчак О.М., Горчанок Н.В., Юрахно В.М. — Київ: «Біопром», 2008. — 256 с.
14. Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине: справочное пособие. / [А.Н. Головкин, В.А. Ушкалов, В.Г. Скрыпник и др.] — Х.: «НТМТ», 2007. — С. 472 — 475.
15. Фотіна Г.А. Патогенні властивості умовно-патогенних мікроорганізмів ізольованих з тушок птиці / Г.А. Фотіна / Мат. міжнар. наук. конф. «Актуальні проблеми та інновації в тваринництві, ветеринарній медицині і харчових технологіях» — Львів, 2005 — С. 29-31.
16. Spies J.S. and Chambers D.S. Chemical Determination of Tryptophan in proteins Anal / Cheem. — 1987. — V. 21 — № 10. — 1249-1266.

УДК 619:636.1:591.478:577.175.1:616-097

УМІСТ ІНТЕРЛЕЙКІНУ–1 ТА ІНТЕРЛЕЙКІНУ–4 У СПОЛУЧНОТКАНИННИХ УТВОРЕННЯХ КОПИТ КОНЕЙ ЗА ОРТОПЕДИЧНОЇ ПАТОЛОГІЇ

Лазоренко А.Б.

У статті викладено результати дослідження IL-1 та IL-4 у сполучнотканинних утвореннях копит за ортопедичної патології в коней. Встановлено, що розвиток гострого пододерматиту та хронічного ламініту в коней супроводжується зростанням у основі шкіри копит концентрації IL-1 за одночасного зниження концентрації IL-4, що свідчить про істотний цитокіновий дисбаланс та низькі можливості інгібування продукції прозапальних цитокінів у запальному осередку. Концентрація IL-1 та IL-4 в гомогенатах сухожилків глибокого пальцевого згинача та м'якушних хрящів за копитних деформацій істотно зростає, що вказує на одночасне посилення їх локальної гіперпродукції клітинами моноцитарного походження та Th2-клітинами.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Розвиток запальної реакції як патогенетичної основи ортопедичної патології обумовлюється кінетикою міжклітинних взаємодій, що ініціюються та опосередковується через синтез різних груп медіаторів, особливо пептидної природи, серед яких ключове місце займають коротко-дистантні білково-пептидні фактори — цитокіни. [1-3]. Класифікація цитокінів проводиться за їх хімічними та біологічними властивостями, а також типами рецепторів, за допомогою яких вони виконують свої біологічні функції. В залежності від того, які клітини імунної системи переважно синтезують той чи інший цитокін, розрізняють лімфокіни, монокіни та інтерлейкіни. Вони, в свою чергу, можуть бути розподілені на прозапальні і протизапальні, ростові та диференціюючі фактори, регуляторні цитокіни. Дія цитокінів на клітини здійснюється різними шляхами: аутокринно — на клітину, що синтезує й секретує даний цитокін; паракринно — на клітини розміщені поруч із клітиною-продуцентом; ендокринно-дистанційно — на клітини будь-яких органів та тканин після потрапляння цитокіну в кровообіг [2-6]. Протизапальні цитокіни посилюють гуморальний та пригнічують клітинний імунітет за рахунок пригнічення продукції прозапальних цитокінів, тоді як останні є медіаторами запалення та деструкції тканин, посилюють клітинний та пригнічують гуморальний імунітет, стимулюють продукцію факторів росту [2].

Зв'язок роботи з важливими науковими чи практичними завданнями. Патогенетичні основи розвитку і перебігу асептичної запальної реакції, її пролонгації, дезорганізації сполучнотканинного матриксу копитної дерми та ресорно-амортизаційних утворень копит (латеральні хрящі

та сухожилок глибокого пальцевого згинача) за унгулярних деформацій в коней є мало вивченими, а тому потребують більш ґрунтовного і деталізованого дослідження передусім тканинних утворень, де саме і відбувається експресія цитокінів як локальних медіаторів, що дозволить з'ясувати механізми розвитку ортопедичної патології, з метою опрацювання на цій основі патогенетично обґрунтованих методів лікування.

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми. Серед прозапальних і протизапальних цитокінів одними з ключових індукторів запальної реакції та регенерації є інтерлейкін–1 (IL-1) та інтерлейкін–4 (IL-4). Інтерлейкін — 1 є прозапальним цитокіном та медіатором гострого і хронічного запалення. Головними продуцентами IL-1 є фагоцитуючі мононуклеари — макрофаги та моноцити. Окрім цього, здатністю до секреції IL-1 володіють Т і В-лімфоцити, кератиноцити, фібробласти та нейтрофіли. IL-1 ініціює та регулює запальну реакцію через активацію нейтрофілів, Т і В-лімфоцитів, стимуляцію синтезу протеїнів гострої фази гепатоцитами, інших цитокінів клітинами запального осередку, молекул адгезії, прокоагулянтів, простагландинів, підвищення хемотаксису, фагоцитозу, ексудації та цитотоксичну активність. Відомо, що IL-1, також здатен викликати затримку спонтанного апоптозу активованих нейтрофілів чим поглиблюється перебіг запально-деструктивних процесів, а також синтез сироваткового амілоїдного протеїну [4, 7-9].

Інтерлейкін — 4 є протизапальним цитокіном, продукується активованими Т-клітинами (Th2) та є фактором диференціювання для Т і В-лімфоцитів. Окрім цього, обмежена здатність до синтезу IL-4 виявлена в тучних клітинах, базофі-

лах та стромальних клітинах кісткового мозку [10]. Як функціональний антагоніст прозапальних цитокінів, IL-4 гальмує секрецію макрофагами та моноцитами IL-1, IL-6, IL-8, фактору некрозу пухлин, утворення активних метаболітів оксигену й азоту, простагландинів, одночасно підвищуючи продукцію ними гранулоцитарного та моноцитарно-макрофагального колонієстимулювального фактору, тим самим здійснюючи протизапальну дію. Водночас, IL-4 підвищує цитотоксичну активність макрофагів, посилює їх міграцію у вогнище запалення, поглиблює токсичність фактору некрозу пухлин, що призводить до фіброзних змін у тканині [11]. Дисрегуляція секреції IL-4 є ключовим фактором у розвитку алергічних реакцій, що пов'язане із здатністю останнього змінювати синтез імуноглобулінів класу G на E та стимуляції росту тканинних базофілів і синтезу ними прозапальних алергогенних інтерлейкінів – 5, 6 [7,9].

Постановка завдання. В доступній літературі відсутні дані стосовно вивчення вмісту IL-1 та IL-4 в сполучнотканинних утвореннях копит у коней відсутні, тому перед нами була поставлена **мета** – визначити концентрацію IL-1 та IL-4 у тканинних гомогенатах копитної дерми за пододерматитів, м'якушних хрящів і сухожилків глибокого пальцевого згинача за унгулярних деформацій та обґрунтувати роль цитокінового дисбалансу в патогенезі ортопедичної патології в коней.

Матеріал і методика дослідження. Оскільки цитокіни і, зокрема, IL-1 та IL-4 є локальними медіаторами, з метою збільшення інформативності досліджень доцільно визначати їх рівень у відповідних тканинах [12].

Матеріалом для досліджень були фрагменти основи шкіри стінок та підшви копит коней української верхової та російської рисистої порід, а також безпородних з копитами анатомічно правильної форми, без ортопедичної патології (n=12), із гострими асептичними пододерматитами (n=10) та хронічними ламінітами (n=8). Фрагменти латеральних хрящів та сухожилків глибо-

кого пальцевого згинача відбирали в коней з копит анатомічно правильної форми (n=12), а також за наявних унгулярних деформацій – їжакове, пласке та повне копито (n=10). Слід зазначити, що всі наведені вище деформації копит супроводжувались супутніми асептичними запальними процесами у дермі стінок та підшви, а в деяких випадках із порушенням дермо-епідермального з'єднання.

Зразки основи шкіри, хрящової та сухожилкової тканин (1-5г) відбирали після забою тварин на м'ясокомбінатах, відмивали у фізіологічному розчині та піддавали кріоконсервації у пластикових мікропробірках при – 20°C. У день проведення визначення концентрації IL-1 та IL-4 тканині зразки гомогенізували на холоді у PBS буфері (pH 7,4), що утримував 1% розчин тритону X-100 у співвідношенні 1:40 та залишали при +4°C на 2 години [13].

Надалі тканинні гомогенати центрифугували при 3000 об/хв. протягом 15 хв. У надосадовій рідині визначали концентрацію IL-1 та IL-4 методом твердофазного імунферментного ELISA аналізу.

Фактичну концентрацію IL-1 та IL-4 у зразках тканинних гомогенатів розраховували з урахуванням співвідношення (тканина–PBS буфер).

Отриманий цифровий матеріал оброблено методами біометрії з використанням параметричного t-критерію Стюдента.

Результати власних досліджень та їх обговорення. Як видно з даних, наведених у таблиці 1, розвиток гострого асептичного пододерматиту та хронічного ламініту в коней супроводжується істотним дисбалансом опозитних інтерлейкінів у копитній дермі. Зокрема, експресія та концентрація прозапального цитокіну – IL-1 в гомогенатах основи шкіри за гострого пододерматиту досягає максимального прояву, зростаючи порівняно з показником інтактних коней майже в 14 разів (p<0,001), тоді як за хронічного ламініту це зростання склало 5,4 рази (p<0,001).

Таблиця 1

Вміст інтерлейкінів 1 та 4 у гомогенатах основи шкіри копит коней за гострого пододерматиту та хронічного ламініту, (M±m)

Показник	Без ортопедичної патології, n=12	Гострий асептичний пододерматит, n=10	Хронічний ламініт, n=8
IL-1, pg/ml	3416,67±184,07 lim 2480–4480	47764,0±2975,91 lim 36000–65200 p1<0,001	18360,0±1762,60 lim 13000–25240 p2<0,001 p3<0,001
IL-4, pg/ml	1690,0±152,73 lim 1080–2680	532,0±35,80 lim 360–720 p1<0,001	825,0±69,15 lim 560–1160 p2<0,001 p3<0,001

Примітки: p1 – гострий асептичний пододерматит порівняно з показником тварин без ортопедичної патології; p2 – хронічний ламініт порівняно з показником тварин без ортопедичної патології; p3 – гострий асептичний пододерматит порівняно з хронічним ламінітом.

Порушення продукції IL-1 клітинами моноцитарного походження в бік його збільшеного си-

нтезу супроводжується надлишковими симптомами запалення та є центральною ланкою розви-

тку глибоких деструктивних процесів у запальному осередку [14].

Гіперпродукція IL-1 та деструктивні ефекти в основі шкіри копит, пов'язані з його медіаторними властивостями, як прозапального цитокіну, поглиблюються істотним зниженням концентрації опозитного до нього IL-4, що засвідчує низькі можливості інгібування продукції прозапальних цитокінів у запальному осередку.

Так, уміст IL-4 у гомогенатах копитної дерми знижується за гострого пододерматиту та хронічного ламініту відносно показника коней без ортопедичної патології майже в 3,2 та 2,1 рази ($p < 0,001$), відповідно. Індекс співвідношення між IL-1 та IL-4, як умовний інтегральний показник тканинного балансу прозапальних та протизапальних інтерлейкінів у основі шкіри копит коней без ортопедичної патології становив – 2,02, тоді як за гострого пододерматиту та хронічного ламініту – 89,8 та 22,3, відповідно, що є свідченням істотного цитокінового дисбалансу та неконтрольованого з боку IL-4 надлишкового рівня IL-1.

Розвиток асептичних запальних процесів у дермі стінок та підшви копит у коней супроводжувався супутніми унгулярними деформаціями за типом їжакового, плаского та повного копита, що супроводжувались в деяких випадках порушенням дермо-епідермального з'єднання. Наве-

дені види унгулярних деформацій сприяють по-тоншенню підшовної частини, зростанню тиску на основу шкіри з виникненням її некрозу, крововиливами та істотному порушенню й ослабленню латеральних опорно-силових взаємодій між роговою стінкою та копитною кісткою. Відомо, що копитні деформації в коней призводять до істотних порушень статико динамічних функцій кінцівок та рессорно-амортизаційних властивостей перерозподілу тиску маси тіла в елементах копита, і як наслідок, порушення механізму копит.

Дослідження вмісту IL-1 та IL-4 в гомогенатах сухожилків глибокого пальцевого згинача та м'якушних хрящів за унгулярних деформацій (табл. 2) свідчать, що рівень даних цитокінів зазнає істотного зростання в обох сполучнотканинних утвореннях.

Зокрема, концентрація IL-1 в гомогенатах м'якушних хрящів за копитних деформацій зростає порівняно з показником коней без ортопедичної патології в 5,4 рази, ($p < 0,001$), тоді як вміст IL-4 збільшується лише на 83%, ($p < 0,001$). При цьому, індекс співвідношення між IL-1 та IL-4 змінювався з 1,4 у інтактних тварин до 4 за копитних деформацій, що свідчить про низький потенціал пригнічення синтезу й секреції прозапальних цитокінів, а також посилення патогенетичних ефектів, які ініціюються та реалізуються через IL-1.

Таблиця 2

Вміст інтерлейкінів 1 та 4 у гомогенатах м'якушних хрящів та сухожилків глибокого пальцевого згинача за копитних деформацій, ($M \pm m$)

Показник	М'якушний хрящ		Сухожиллок глибокого згинача	
	Без ортопедичної патології, n=12	За унгулярних деформацій, n=10	Без ортопедичної патології, n=12	За унгулярних деформацій, n=10
IL-1, pg/ml	2723,33±223,76 lim 1680–3920	14748,0±1812,87 lim 7280–21880 $p < 0,001$	49,87±5,96 lim 30,80–91,60	598,80±61,71 lim 376–912 $p < 0,001$
IL-4, pg/ml	2020,0±138,38 lim 1400–2840	3696,0±170,87 lim 3040–4600 $p < 0,001$	324,67±30,18 lim 220–520	595,20±59,16 lim 392–800 $p < 0,001$

Примітка. p – порівняно із показником тварин без ортопедичної патології.

Уміст IL-1 та IL-4 у гомогенатах сухожилків глибокого пальцевого згинача без ортопедичної патології є найнижчим, порівняно із іншими сполучнотканинними утвореннями копит у коней. Так, уміст IL-1 у сухожилковій тканині відносно показників копитної дерми та м'якушних хрящів інтактних коней є нижчим у 68,5 та 54,6 рази, відповідно, а IL-4 у 5,2 рази для основи шкіри та 6,2 рази для м'якушних хрящів. Водночас, не зважаючи на низький вміст інтерлейкінів у сухожилкових гомогенатах коней без ортопедичної патології, з розвитком копитних деформацій, концентрація IL-1 та IL-4 істотно зростає відносно показника інтактних коней у 12 та 1,8 рази ($p < 0,001$), відповідно, при цьому індекс співвідношення між IL-1 та IL-4 зазнавав зростання з 0,15 до 1, що засвідчує врівноваженість секреції прозапальних та протизапальних цитокінів у сухожилковій тканині.

Таким чином, унгулярні деформації в коней характеризуються розвитком дисбалансу прозапальних та протизапальних цитокінів у сполучнотканинних утвореннях копит, що проявляється гіперпродукцією IL-1 та низьким потенціалом пригнічення синтезу й секреції прозапальних цитокінів через незначне зростання вмісту IL-4.

Перспективи подальших досліджень.

Перспективою подальших досліджень є вивчення ролі порушення секреції цитокінів у формуванні імунозалежного запалення сполучнотканинних утворень копит коней за ортопедичної патології та опрацювання на цій основі патогенетично обґрунтованих методів лікування.

Висновки. 1. Розвиток гострих асептичних пододерматитів та хронічних ламінітів у коней супроводжується зростанням умісту IL-1 в гомогенатах копитної дерми до 47764,0±2975,91 та

18360,0±1762,60 pg/ml, за одночасного зниження концентрації IL-4 до 532,0±35,80 та 825,0±69,15 pg/ml, що свідчить про істотний цитокиновий дисбаланс та низькі можливості інгібування продукції прозапальних цитокинів у запальному осередку.

2. Концентрація IL-1 та IL-4 в гомогенатах сухожилків глибокого пальцевого згинача та

м'якушних хрящів за копитних деформацій зростає до 598,80±61,71 і 595,20±59,16 pg/ml та 14748,0±1812,87 і 3696,0±170,87 pg/ml, відповідно, що вказує на одночасне посилення їх локальної гіперпродукції клітинами моноцитарного походження та Th2-клітинами.

Література

1. Кноринг Г.Ю. Цитокиновая сеть как мишень системной энзимотерапии / Г.Ю. Кноринг // Цитокины и воспаление.–2005.–Т.4.–№4.–С. 45–49.
2. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление.–2004.–Т.3.–№2.–С. 16–22.
3. Захараш А.Д. Цитокиновий профіль крові у хворих на хронічний гепатит із холестатичним компонентом / А.Д. Захараш // Світ медицини та біології.–2005.–№2.–С. 33–37.
4. Ковалева О.Н. Биологические эффекты интерлейкина-1 / О.Н. Ковалева, Т.Н. Амбросова // Врачебная практика.–2001.–№2.–С. 49–53.
5. Ершов Ф.И. Цитокины – новое поколение биотерапевтических препаратов / Ф.И. Ершов // Вестник Российской АМН.–2006.–№9–10.–С. 45–50.
6. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции / И.С. Фрейдлин // Иммунология.–2001.–№5.–С. 4–7.
7. Серебренникова С.Н. Влияние цитокинов на клетки очага воспаления / С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинов, Н.В. Семенов // Сб. научн. трудов «Проблемы и перспективы современной науки».–Томск, 2009.–Т.2.–№1.–С. 20–22.
8. Маянский Н.А. Апоптоз экссудативных нейтрофилов человека / Н.А. Маянский, М.И. Заславская, А.Н. Маянский // Иммунология.–2000.–№2.–С. 11–13.
9. Ветра Я.Я. Цитокины / Я.Я. Ветра, С.М. Л.В. Иванова, И.Э. Крейле // Гематология и трансфузиология.–2000.–Т.45.–№4.–С. 45–49.
10. Bottema W.B. Interleukin 13 and interleukin 4 Receptor-α Polymorphism in Rhinitis and Asthma / W.B. Bottema, L.M. Nottle, T.D. Howard et al. // Int. Arch. Allergy and Immunology.–2010.–Vol.–153.–№7.–P. 259–267.
11. Rook G.A. Th2 cytokines in susceptibility to tuberculosis / G.A. Rook // Curr. Mol. Med.–2007.–Vol.–7.–№3.–P. 327–337.
12. Рябичева Т.Г. Определение цитокинов методом иммуноферментного анализа / Т.Г. Рябичева, Н.А. Вараксин, Н.В. Тимофеева [и др.] // Новости «Вектор-Бест».–2004.–№4 (34). –С. 12–16.
13. Токмакова А.Ю. Особенности хронических ран у больных сахарным диабетом и пути их коррекции / А.Ю. Токмакова, Г.Ю. Страхова, М.И. Арбузова // Эндокринная хирургия. –2007.–№1(1).–С. 38–42.
14. Демьянов А.В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А.В. Демьянов, А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление.–2003.– Т.2. – №3.–С. 20–33.

УДК 619.5:6616-635.5

ВСТАНОВЛЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ ПРОДУКЦІЇ ПТАХІВНИЦТВА ПІСЛЯ ОБРОБКИ ОКРЕМИМИ ПРОТИПАРАЗИТАРНИМИ ЗАСОБАМИ

Нагорна Л.В.

У статті наведено результати досліджень щодо встановлення залишкових кількостей альфаметрину – основної діючої речовини вітчизняних інсектоакарицидних препаратів "Ектосан-пудратм" та "Ектосантм" у харчових яйцях. Згідно методик з використанням високоефективної рідинної хроматографії було встановлено відсутність залишкових кількостей альфаметрину в білку та жовтку харчових яєць. Доведено безпечність зазначеного продукту харчування та можливість його використання без обмежень.

Постановка проблеми в загальному вигляді. У переважній більшості країн світу значна увага приділяється забезпеченню населення якісною сировиною та харчовими продуктами, які сприяють збереженню його здоров'я. Збільшення продовольчих ресурсів можливе лише за рахунок інтенсифікації сільського господарства [1, 2]. Проте, використання інтенсивних промислових технологій при виробництві продукції тваринництва, в окремих випадках не дозволяє отримати якісну та безпечну продукцію, яка б відповідала всім санітарно-гігієнічним вимогам [3].

Якщо взяти до уваги, що найдинамічнішою у своєму розвитку є галузь птахівництва, то стає зрозумілим, чому продуктам птахівництва нада-

ється перевага в порівнянні з іншими видами продукції тваринницьких галузей [4].

Птахівництво – "скороспіла" галузь, якій притаманна висока мобільність в нестійких умовах ринку. На сучасному етапі розвитку птахівництва інтенсивне ведення галузі не можливе без застосування засобів хімічного синтезу – лікувальних препаратів, які спрямовані на боротьбу зі збудниками інфекційних та інвазійних захворювань. Наразі існує надзвичайно великий арсенал протипаразитарних та протимікробних засобів, проте лише незначна їх кількість є відносно безпечними для організму людини та тварин. У світовій практиці на даному етапі найпопулярнішими серед протиектопаразитарних препаратів є група