

## Возрастные изменения референтных интегральных гематологических индексов неспецифической реактивности у здоровых лошадей

А.П. Жуков, д.в.н., профессор, М.М. Жамбулов, к.б.н., А.П. Датский, аспирант, ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ

Самым простым и часто применяемым способом лабораторной диагностики для оценки состояния здоровья организма является общий анализ крови (ОАК). Анализ большого количества показателей ОАК нередко бывает трудоёмким, а при субклиническом течении болезни и неэффективным, не дающим врачу достаточной информации для постановки диагноза и назначения адекватной терапии [1]. В связи с этим в настоящее время всё большую значимость приобретает использование диагностических и прогностических возможностей интегральных гематологических индексов, поскольку определённое сочетание показателей гемограммы отражает интегральные характеристики гомеостатических систем организма животных, формирующих его неспецифическую реактивность [2].

К сожалению, в практической ветеринарной медицине данные методики используются ограниченно из-за отсутствия референтных значений индексов у здоровых животных [3, 4].

**Целью** нашего исследования явилась презентация интегральных гематологических индексов неспецифической реактивности у беспородных здоровых лошадей в постнатальном периоде онтогенеза.

**Материал и методы исследования.** Работа выполнена в 2014–2016 гг. в условиях ОАО «Спутник», государственной конюшни с ипподромом «Оренбургская», СПК «Приуральский» Оренбургской области на лошадях, начиная с первых суток жизни, затем через 15 сут., 1 мес., 3 мес., 6 мес. и до 10 лет

с годичным интервалом. Все животные содержались в типовых помещениях, нормы кормления соответствовали возрасту и особенностям эксплуатации. Согласно классификации Т. В. Овсянниковой (2007) [5], неспецифическую реактивность характеризуют индекс Бредекка (ИБ), индекс Кребса (ИК), индексы стресса (ИС) и адаптации (ИА), индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ), индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ), индекс алергизации (ИАЛ), индекс иммунореактивности (ИИР) и лейкоцитарный индекс (ЛИ).

Индексы рассчитывали по выведенным лейкограммам, цифровые результаты исследования обработаны статистически с помощью программы Excel-97. Оценку значимости различий средних арифметических проводили с использованием t-критерия Стьюдента, различия считали статистически значимыми при  $P < 0,05$ .

**Результаты исследования.** Установлено, что к числу особенностей онтогенеза белой крови лошади следует отнести сравнительно выраженный нейтрофилез первого месяца жизни, короткий период гипозинофилии (до 3 мес.) быстрое падение количества нейтрофилов к 6 мес. С первого месяца жизни и до 2 лет лейкограмма имеет лимфоцитарный тип, а во все последующие годы жизни лошади – вновь нейтрофильный (рис.)

За все периоды наблюдения отмечено стабильное представительство базофилов и моноцитов, с 6 мес. – палочкоядерных нейтрофилов, с 3 лет умеренно увеличиваются сегментоядерные нейтрофилы на фоне устойчиво убывающих лимфоцитов.

Индекс Кребса представляет соотношение общего количества нейтрофилов к лимфоцитам,

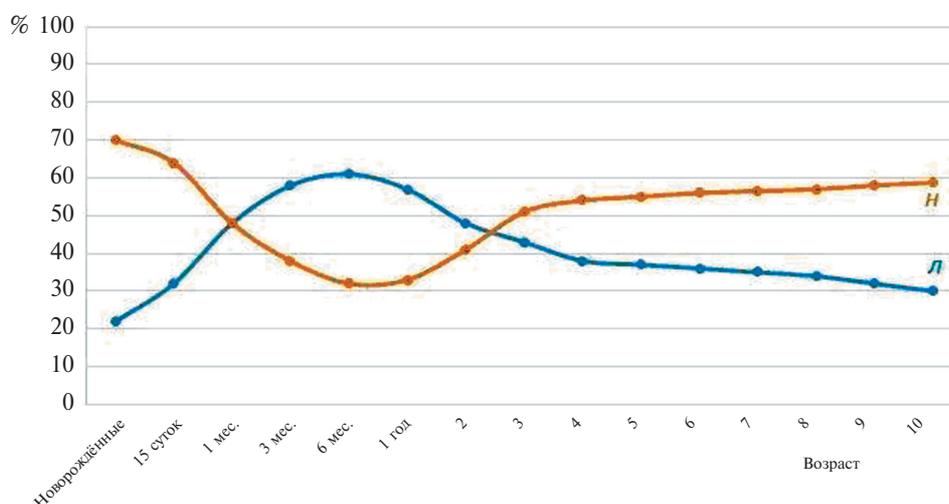


Рис. — Возрастные взаимоотношения нейтрофилов и лимфоцитов в лейкограмме лошади

характеризует участие их в поддержании общей реактивности организма, а также активности факторов специфического иммунитета и фагоцитарной реакции. При оценке полученных результатов следует учитывать онтогенез лейкограммы у лошадей. Если при рождении количество нейтрофилов превышает представительство лимфоцитов, то это и отражается на коэффициенте ИК, который близок к трём условным единицам. Через 15 сут. после рождения их соотношение указывает на двухкратное превышение нейтрофилов. Далее следует первый перекрест, когда в крови месячных жеребят уже превалирует представительство лимфоцитов и ИК будет равен  $0,95 \pm 0,11$  усл. ед. В последующие месяцы уровень индекса будет понижаться, с наименьшими значениями в 6-месячном возрасте, а у животных в возрасте 2 года ИК становится вновь близок к единице. В 3 года в лейкограмме находим главенство полиморфноядерных лейкоцитов над пулом лимфоцитов с показаниями ИК, превышающими единицу, после которого отмечается стабильное увеличение нейтрофилов, в основном за счёт зрелых клеток, вплоть до 10-летнего периода со значением индекса от  $1,11 \pm 0,13$  до  $1,76 \pm 0,18$  усл. ед.

Индекс стресса (ИС) определяется как частное от деления сегментоядерных нейтрофилов на лимфоциты и отражает взаимоотношение клеточного и гуморального звеньев иммунной системы [6].

Если учесть, что в группе полиморфноядерных клеток сегментоядерные – самые представительные, то следует предположить, что у ИК и ИС будут очень близкие значения. И это действительно так, различия между группами не достоверны. Так, при рождении у жеребят в крови в 2,5 раза больше сегментоядерных нейтрофилов, в 15-суточном возрасте их больше в 1,8 раза и далее первый перекрест, когда лимфоцитов уже больше в возрасте 1 мес., при индексе стресса, равном  $0,83 \pm 0,13$  усл. ед. Гегемония лимфоцитов заканчивается в 2-летнем возрасте лошади, а потом нарастает концентрация сегментоядерных нейтрофилов и ИС будет выше единицы до 10-летнего возраста, изменяясь в пределах от  $1,02 \pm 0,14$  до  $1,64 \pm 0,24$  усл. ед.

Таким образом, показатели ИК и ИС имеют общий тренд распределения на всех этапах онтогенеза лошади, образуя три кластера: первый – от рождения и до возраста 1 мес. с максимальными значениями; второй – в возрасте от 1 мес. до 2 лет с минимальными показателями; третий – от 3 и до 10 лет с нарастающими и стабильными признаками.

Л. Х. Гаркави и соавторы [7] доказали, что существует ряд последовательно возникающих неспецифических адаптационных реакций организма, сопровождающихся в том числе определёнными взаимоотношениями лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов, для оценки качества которых они предложили ввести индекс адаптации (ИА). Используя относительное содержание лимфоцитов

в качестве сигнального показателя оценки вида адаптационных реакций, мы определили, что ИА является прямо противоположным по значениям индексам стресса и Кребса. Все полученные данные консолидированы в три группы результатов. Так, в 1-й группе объединены результаты ИА с первых суток после рождения и до 1-месячного возраста, которые имеют наименьшие показатели за все периоды наблюдения –  $0,39 \pm 0,03$  –  $0,56 \pm 0,09$  усл. ед. Далее следует 2-я группа результатов, с первого месяца жизни и до 2 лет, при этом ИА превышает единицу и колеблется от  $1,19 \pm 0,26$  до  $2,11 \pm 0,38$ . В 3-й группе сгруппированы результаты меньше единицы, т.е. с 3-летнего возраста ИА уменьшается вплоть до 10-летнего возраста в силу преобладания в крови пула зрелых нейтрофилов. В период с 4 и до 6 лет ИА укладывается в пределах  $0,72 \pm 0,03$  –  $0,78 \pm 0,17$  усл. ед., а с 7 и до 10 лет он также стабилен, но в интервале  $0,61 \pm 0,12$  –  $0,69 \pm 0,14$ .

Лейкоцитарный индекс (ЛИ) – индекс неспецифической реактивности, отражает взаимоотношение гуморального и клеточного звеньев иммунной системы. ЛИ – это отношение количества (%) лимфоцитов ко всему пулу нейтрофилов, поэтому результаты данного индекса должны быть близки с ИА, в формуле которого используются значения сегментоядерных, а у лошадей они являются самой представительной формой. Действительно, полученные данные по 15 возрастным группам являются очень близкими со значениями индекса адаптации. Также чётко прослеживается влияние смены гегемонии нейтрофилов и лимфоцитов, которые разделяют ЛИ на три комплекса, первый – с минимальными результатами от  $0,34 \pm 0,08$  до  $0,51 \pm 0,16$  усл. ед. у жеребят первого месяца жизни, с максимальными – от  $1,05 \pm 0,18$  до  $1,86 \pm 0,26$  у жеребят в возрасте от 1 мес. до 2 лет и стабильно средними результатами – от  $0,56 \pm 0,13$  до  $0,89 \pm 0,18$  усл. ед. у лошадей от 3 до 10 лет.

Индекс Бредекка (ИБ) является интегральным критерием оценки функционального состояния организма, выражающим отношение количества лимфоцитов к палочкоядерным нейтрофилам. Если охарактеризовать онтогенез палочкоядерных нейтрофилов, то следует отметить их стабильность независимо от возраста с показателями от  $3,95 \pm 0,28$  до  $6,83 \pm 0,56\%$  за период наблюдения с первых сут. жизни до 10 лет. Лимфоциты за этот же возрастной период изменяются значительно динамичнее: до первого перекреста их представительство увеличивается от  $24,23 \pm 1,78$  до  $31,68 \pm 3,61\%$ , затем – от  $48,12 \pm 3,74$  до  $49,74 \pm 4,36\%$ , после второго перекреста – от  $43,58 \pm 3,69$  до  $32,2 \pm 2,44\%$ . Стало быть, изменчивость индекса всецело зависит от насыщения крови лимфоцитами. В первые сутки жизни индекс укладывается в значения от  $3,54 \pm 0,53$  до  $4,93 \pm 0,59$  усл. ед., начиная с первого месяца жизни ИБ увеличивается от  $8,96 \pm 0,78$  до  $14,03 \pm 2,13$  усл. ед. в 2-летнем

возрасте. А с третьего года жизни лошадей индекс стабилизируется в интервале  $8,71 \pm 1,17 - 9,47 \pm 1,75$  усл. ед. В 10-летнем возрасте индекс снижается до  $6,54 \pm 0,47$  усл. ед. на фоне снижения количества лимфоцитов в крови лошадей.

Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ) позволяет судить о соотношении компонентов микрофагально – макрофагальной системы и показывает равновесие между пулами нейтрофилов и моноцитов. Если нейтрофилы динамично изменяются в крови лошадей до 2-летнего возраста, то моноциты – это стабильная по представительству в крови клетка, не превышающая 6% в лейкограмме. Вместе с тем эта клетка формирует в организме животного систему мононуклеарных фагоцитов, т.е. следующую генерацию клеток, являясь полидифферонными предшественниками клеток различных тканей и органов, в которую входят гистиоциты соединительной ткани, клетки Купфера печени, альвеолярные макрофаги лёгких и т.п. Как показали исследования, величина индекса зависима от показателей в знаменателе и в результате распределение его всецело связано с насыщением крови нейтрофилами. Поэтому предсказуемо он максимален в первый месяц жизни – с результатом от  $14,41 \pm 1,83$  до  $15,74 \pm 2,12$  усл. ед., с последующим спадом вплоть до 2-летнего возраста, знаменуя уменьшение в крови нейтрофилов после первого перекреста, а затем следует второй перекрест, после которого начинается увеличение ИСНМ от  $11,62 \pm 1,21$  до  $16,12 \pm 1,93$  усл. ед., объединяя результаты у животных в возрасте от 3 до 10 лет.

Индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ) показывает баланс афекторного и эффекторного звеньев иммунологического процесса, учитывая что иммунная система высших животных призвана поддерживать антигенно-структурный гомеостаз индивидуума, осуществляет свои функции за счёт неспецифической резистентности и иммунитета. Исходя из анализа лейкограммы крови лошади, следует предположить, что наименьшие показатели индекса нужно ожидать у животных первых дней жизни и у 10-летних, именно в эти периоды представительство лимфоцитов в крови минимальное. По совокупности сходных результатов установлены три группы в их иерархии. Первая объединяет результаты индексов у жеребят при рождении ( $5,02 \pm 0,63$ ), 15-суточных ( $7,92 \pm 0,69$ ), а также 10-летних лошадей ( $7,97 \pm 0,53$ ). Максимальные показатели в интервале от  $10,94 \pm 0,87$  до  $16,66 \pm 1,59$  усл. ед. объединены во второй гр., которая представляет результаты у животных в возрасте от 1 мес. до 2 лет жизни. Третья представляет ИСЛМ у животных от 3 до 10 лет с результатом от  $8,06 \pm 0,67$  до  $9,89 \pm 0,93$  усл. ед. Таким образом, ИСНМ и ИСЛМ имеют прямо противоположные результаты в трёх возрастных группах.

Оценку степени алергизации в периферической крови устанавливают по индексу алергизации (ИАЛ), который определяют как соотношение лимфоцитов на эозинофилы, делённое на сумму процентов всех нейтрофилов, моноцитов и базофилов. Все полученные результаты можно сгруппировать исходя из возраста животных. Так, у жеребят с первых сут. жизни до 1-месячного возраста индекс алергизации укладывается в интервале от  $0,45 \pm 0,08$  до  $0,61 \pm 0,11$  усл. ед. На 3-м мес. жизни ИАЛ увеличивается в 5 раз, в возрасте 6 мес. он ещё удерживается, и далее до 3 лет он стабилен в пределах  $4,15 \pm 0,48$  усл. ед. У взрослых лошадей индекс равен 2,5 с недостоверной разницей в возрастной ассоциации 4–10 лет.

Индекс иммунореактивности (ИИР) отражает дисбаланс основных клеток продуцентов цитокинов и дисбаланс в цитокиновом профиле при наличии лимфопении. Дефицит эозинофилов в свою очередь означает недостаток антимедиаторов воспаления, следовательно, недостаток дезинтоксикационного компонента в спектре медиаторов рассчитывается по формуле, где в числителе сумма % лимфоцитов и эозинофилов, а в знаменателе – процент моноцитов в лейкограмме.

Индекс иммунореактивности близок по значениям с ИСЛМ и имеет также три группы родственных элементов статистической совокупности. Первая – с минимальными показателями у жеребят 1-го мес. жизни –  $5,03 \pm 0,43 - 8,02 \pm 0,68$  усл. ед., вторая – с максимальными значениями от  $12,02 \pm 1,18$  до  $18,87 \pm 1,83$  усл. ед. у животных с 1-го месяца жизни до 3-летнего возраста и третий – стабильный, с минимальной разницей в результатах, у лошадей от 3 до 10 лет, с показателями от  $10,03 \pm 0,73$  до  $11,84 \pm 1,68$  усл. ед..

На основании проведённого исследования были сделаны следующие **выводы**:

1. При анализе возрастных изменений интегральных гематологических индексов, полученных при математической обработке лейкограммы, следует учитывать двойной перекрест кривых нейтрофилов и лимфоцитов. До и после перекрестов лейкограмма имеет нейтрофильный тип, а внутри перекреста – лимфоцитарный.

2. Определены референтные величины для девяти индексов в 15 возрастных группах здоровых беспородных лошадей. Установлено, что значения индексов, характеризующих неспецифическую реактивность, объединены в три кластера: первый представлен результатами у жеребят в возрасте от рождения до 1 мес., второй – близкими результатами у животных в возрастной ассоциации от 1 мес. до 3 лет и третий – общностью показателей у лошадей старше 3 лет.

3. Особенности возрастных изменений ИАЛ представляет второй кластер, который декларирует сходные данные обследованных животных с 1-месячного возраста и до 3 лет.

## Литература

1. Козинец Г.И., Макарова В.А. Исследования системы крови в клинической практике. М.: Триада-Х, 1997. С. 204–243.
2. Мустафина Ж.Г., Крамаренко Ю.С., Кобцева В.Ю. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности организма больных с офтальмопатологией // Клиническая лабораторная диагностика. 1999. № 5. С. 47–48.
3. Кавцевич Н.Н., Минзюк Т.В. Лейкоцитарные индексы и активность организаторов ядрышка лимфоцитов крови щенков серых тюленей // Вестник Южного научного центра РАН. 2010. Т. 6. № 4. С. 76–83.
4. Жуков А.П., Бикчентаева Г.Ю., Ростова Н. Ю. Морфологические показатели и индексы крови голштинов канадской селекции в процессе длительной адаптации // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2012. № 2 (34). С. 86–90.
5. Овсянникова Т.В. Особенности нарушения гемолимфоциркуляции в патогенезе обострения хронического воспалительного процесса органов малого таза у женщин и их коррекция лимфогенными технологиями. Автореф. дисс.... докт. мед. наук. Новосибирск, 2007. 37с.
6. Жуков А.П., Шарафутдинова Е.Б., Датский А. П. Возрастные изменения интегральных гематологических индексов у крупного рогатого скота // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2016. № 4 (60). С. 213–216.
7. Гаркави Л.Х., Толмачев Г.Н., Михайлов Н. Ю. Адаптационные реакции и уровни реактивности как эффективные диагностические показатели донозологических состояний // Вестник Южного научного центра РАН. 2007. Т. 3. № 1. С. 61–66.