

АНОТАЦІЯ

Сайд В. С. Стан захисних систем організму собак за токсокарозою інвазії та деякі фактори їх регуляції. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина». – Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Львів, 2021.

Дисертаційна робота присвячена вивченню стану імунного та антиоксидантного потенціалу організму собак за умов розвитку токсокарозу та дії коригуючих чинників.

Отримано нові комплексні дані, що характеризують стан імунної та антиоксидантної систем організму собак за умов експериментального токсокарозу та за дії препаратів «Фенбендазол» і «Фенбенсил». Досліджено динаміку показників ензимної та неензимної ланок системи антиоксидантного захисту, імунної системи, протеїнсинтезувальної функції та функціонального стану печінки собак за експериментального токсокарозу. Доведено і проаналізовано функціональний зв'язок між імунним потенціалом та активністю системи антиоксидантного захисту та інтенсивністю процесів пероксидного окиснення ліпідів у собак за умов застосування препаратів «Фенбендазол» і «Фенбенсил».

Результати проведених досліджень значно розширюють і поглиблюють сучасні уявлення про механізм токсичної дії токсокарозу у собак на імунну функцію й антиоксидантний потенціал їх організму. Дослідження показали можливість фармакологічної корекції виявлених метаболічних змін у собак за умов експериментального токсокарозу розробленим імуноотропним засобом.

Комплексна оцінка морфологічних і біохімічних показників крові собак дає змогу всебічно оцінити ступінь ураження організму собак збудником

токсокарозу та вибрати відповідні способи корекції захисних систем організму тварин.

У крові собак за експериментального токсокарозу встановлено вірогідне зниження кількості еритроцитів на 37,5 %, рівня гемоглобіну – на 37,6 %, а також збільшення кількості лейкоцитів на 48,1 %. При цьому у крові інвазованих собак встановлена еозинофілія, яка відображає інтенсивність алергічної реакції, спричиненої токсокарами. Поряд із еозинофілією у крові інвазованих собак спостерігали також і збільшення числа нейтрофілів та моноцитів. У крові собак дослідної групи на 20 і 25 доби досліду кількість лімфоцитів була вірогідно меншою за показник контролю, відповідно, на 13,13 і 16,2 %.

У інвазованих собак зафіксовано порушення протеїнсинтезувальної функції печінки (зниження рівня загального протеїну на 9,6 %, альбумінів – на 11,0 %, альбуміново-глобулінового коефіцієнту на 37,3 %, а також підвищення рівня глобулінів на 11,0 %) та функціонального стану печінки (підвищення активності АлАТ – на 59,1 %, АсАТ – на 45,4 %).

На основі власних експериментальних досліджень встановлено, що розвиток токсокарозу у собак, викликаний експериментальним зараженням збудником токсокарозу у дозі 5000 інвазійних яєць *T. canis* на кг маси тіла, сприяє посиленому утворенню вільних радикалів, які негативно впливають на мембрани клітин. У цілому, одержані нами результати досліджень вказують на те, що розвиток токсокарозу у собак призводить до значного та вірогідного ($P < 0,001$) прискорення утворення і накопичення в крові собак у всі періоди дослідження, вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів.

При дослідженні стану антиоксидантної системи організму собак встановлено, що активність каталази та супероксиддисмутази у крові дослідної групи собак на 5 добу досліду дещо зростала, однак у подальшому активність вказаних ензимів у крові собак інвазованих збудником токсокарозу знижувалася. При дослідженні глутатіонової ланки антиоксидантної системи

встановлено зниження її активності, на що вказує зниження рівня відновленого глутатіону та ензимів: глутатіонредуктази і глутатіонпероксидази.

Інвазування собак збудником токсокарозу спричиняло імунодепресивний вплив на активність імунної системи, на що вказує зниження показників усіх ланок імунного захисту. Зокрема, у крові інвазованих собак встановлено зниження фагоцитарної активності нейтрофілів на 4,8 %, фагоцитраного індексу – на 7,1 %, БАСК і ЛАСК – на 6,1 і 5,9 %, кількості Т-лімфоцитів на 6,9 %, кількості В-лімфоцитів на 4,7 % та підвищення рівня ЦК на 60,0 %.

Розроблено новий комплексний препарат «Фенбенсил» та затверджено Технічні умови України. Теоретично обґрунтовано і практично доведено, що задоволення препарату «Фенбенсил» собакам за токсокарозу сприяє швидкому відновленню гемопоетичної, антиоксидантної імунобіологічної функцій, а також функціонального стану печінки та протеїнсинтезувальної її функції.

Встановлено, що при застосуванні фенбендазолу кількість еритроцитів та вміст гемоглобіну у крові інвазованих собак зростали порівняно з контрольною групою, однак не доходили до фізіологічних величин. Лише у другій дослідній групі тварин, яким застосовували фенбенсил, встановлено підвищення вказаних показників протягом усього дослідження. На 25 та 30 добу дослідження кількість еритроцитів та вміст гемоглобіну коливалися у межах фізіологічних величин.

При визначенні кількості лейкоцитів встановлено, що у крові інвазованих собак вони зростали і найвищою кількістю лейкоцитів була на 20, 25 і 30 доби дослідження. При задоволенні препаратів «Фенбендазол» та «Фенбенсил» встановлено зниження кількості лейкоцитів вже починаючи з 10 доби дослідження.

Застосування препарату «Фенбенсил» собакам за умов експериментального токсокарозу спричинило нормалізуючий вплив на показники протеїнового обміну, зокрема підвищення рівня загального

протеїну, альбумінової фракції та зниження глобулінової, а також відновлення альбуміново-глобулінового співвідношення. Разом з цим у сироватці крові собак на тлі експериментального токсокарозу зафіксовано зниження активності досліджуваних трансаміназ. Так, встановлено, що на 30 добу досліді активність АлАТ у сироватці крові собак, яким задавали фенбендазол, знизилася на 21,7 %, а у тварин, яким задавали фенбенсил – на 37,3 %. При цьому активність АсАТ у сироватці крові собак першої і другої дослідних груп на 30 добу досліді відповідно знизилася на 22,8 і 32,1 %.

При вивченні активності ензимної ланки системи антиоксидантного захисту, а саме каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, а також рівня відновленого глутатіону у тварин дослідних груп встановлено підвищення активності даних показників. Застосування інвазованим собакам препарату «Фенбенсил» сприяло вірогіднішому підвищенню антиоксидантного статусу організму собак другої дослідної групи, оскільки до даного препарату входить розторопша плямиста, яка проявляє антиоксидантні властивості завдяки наявності у своєму складі речовину силімарин, яка відновлює пошкоджені клітини печінки.

Варто зазначити, що найнижчий рівень дієнових конюгатів та ТБК-активних продуктів був у крові собак, яким застосовували препарат «Фенбенсил», на 25 і 30 доби досліді. Пригнічення процесів пероксидного окиснення ліпідів за лікування собак фенбенсилом зумовлене активацією в організмі тварин метаболічних процесів, у яких приймають участь ензими, у тому числі і ензими-антиоксиданти, що каталізують процеси пероксидного окиснення і фосфорилування, а також посилення еритропоетичної функції кісткового мозку. На 30 добу досліді рівень дієнових кон'югатів у крові другої дослідної групи становив $0,29 \pm 0,02$ одА/мл, а ТБК-активних продуктів – $25,2 \pm 0,40$ мкмоль/л.

Згодовування препарату «Фенбенсил» собакам за експериментального токсокарозу спричиняло нормалізуючий вплив на імунну функцію організму,

про що вказує збільшення кількості Т-лімфоцитів у крові собак дослідних груп на 3,0 і 7,2 % та В-лімфоцитів – на 2,5 і 4,6 % відповідно.

При вивченні впливу фенбендазолу та фенбенсилу на неспецифічну ланку імунної системи, а саме на фагоцитарну активність нейтрофілів та фагоцитарний індекс встановлено зростання даних показників, особливо у дослідній групі тварин, яким застосовували фенбенсил, до складу якого входить розторопша та фенбендазол.

Позитивний вплив застосування препаратів «Фенбендазол» та «Фенбенсил» встановлено і на гуморальну ланку природнього захисту організму собак за умов експериментального токсокарозу. Про що вказує зростання БАСК – на 4,1 і 5,9 % ($P < 0,001$), ЛАСК – 5,0 і 6,2 % ($P < 0,001$).

Дослідження показали, що застосування препарату «Фенбенсил» більшою мірою впливає на відновлення антиоксидантного й імунного потенціалу у собак за експериментального токсокарозу, ніж задавання препарату «Фенбендазол». Складники препарату «Фенбенсил» доповнюють призначену терапію і за умов сумісного їх застосування хворим на токсокароз собакам проявляють високу лікувальну ефективність.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що вперше проведено порівняльний аналіз і вивчено стан клітинної, гуморальної та неспецифічної ланок імунітету, інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, активність системи антиоксидантного захисту та функціональний стан печінки у собак за експериментального токсокарозу та дії досліджуваних коригуючих чинників. Розроблено новий препарат «Фенбенсил», виготовлений на основі фенбендазолу та розторопші плямистої. Науково обґрунтовано і експериментально підтверджено доцільність застосування препарату «Фенбенсил» собакам за розвитку токсокарозої інвазії. Експериментально доведено коригувальний вплив препарату «Фенбенсил» на стан імунної та антиоксидантної систем, інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів, протеїнсинтезувальну функцію та функціональний стан печінки собак за умов розвитку токсокарозу.

На основі одержаних результатів розроблено технічні умови України 21.2-00492990-027:2020. Препарат «Фенбенсил» затверджені ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок від 10.03.2020.

Результати дисертаційної роботи використовуються в освітньому процесі та науково-дослідній роботі здобувачів вищої освіти спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» споріднених закладів вищої освіти України.

Ключові слова: паразитологія, фармакологія, собаки, токсокароз, імунна система, антиоксидантна система, препарат «Фенбендазол», «Фенбенсил».

ANNOTATION

Said V. S. The state of the protective systems of dogs' body in toxocariasis invasion and some factors of their regulation. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 21 «Veterinary Medicine» in the specialty 211 «Veterinary Medicine». – Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, 2020.

The dissertation is devoted to studying the state of immune and antioxidant potential of dogs under the conditions of toxocariasis and the action of corrective factors.

New complex data characterizing the state of the immune and antioxidant systems of the dog's body under the conditions of experimental toxocariasis and the action of the drugs «Fenbendazole» and «Fenbenzyl» were obtained. The dynamics of indicators of enzymatic and non – enzymatic components of the system of antioxidant defense, immune system, protein-synthesizing function, and functional state of the liver of dogs in experimental toxocariasis was studied. The functional relationship between the immune potential and the activity of the antioxidant defense system and the intensity of lipid peroxidation processes in canines under the conditions of Fenbendazole and Fenbenzyl has been proved and

analyzed.

The research results significantly expand and deepen modern ideas about the mechanism of toxic effects of toxocariasis in canines on their body's immune function and antioxidant potential. Studies have shown the possibility of pharmacological correction of the detected metabolic changes in dogs under experimental toxocariasis developed by an immunotropic agent.

A comprehensive assessment of morphological and biochemical parameters of dogs' blood makes it possible to comprehensively assess the degree of damage to the body by toxocariasis and choose appropriate methods of correction of the protective systems of animals.

In the blood of dogs with experimental toxocariasis, we noticed a probable decrease: in the erythrocytes number by 37.5 %; the hemoglobin level of – by 37.6 %; and an increase in the leukocytes number by 48.1%. At the same time, eosinophilia was established in the blood, reflecting the intensity of the allergic reaction caused by *Toxocara*. Along with eosinophilia, an increase in the number of neutrophils and monocytes was also observed. In the dog's blood at 20 and 25 days of the investigation, the number of lymphocytes was probably less than the control index, respectively, by 13.13 and 16.2 %.

Infected animals recorded impaired protein-synthesizing function of the liver (decrease in total protein by 9.6 %, albumin – by 11.0 %, the albumin-globulin ratio by 37.3 %, as well as the progress in globulin by 11.0%) and functional liver condition (rise in ALAT activity – by 59.1 %, AsAT – by 45.4 %).

Based on our experimental studies, the development of toxocariasis in dogs caused by experimental infection with toxocariasis at a dose of 5,000 invasive *T. canis* eggs per kg of body weight promotes free radicals' formation adversely affect cell membranes. In general, our analysis results indicate that the evolution of toxocariasis in dogs leads to a significant and probable ($P < 0.001$) acceleration of the formation and accumulation in the animal's blood in all periods of the research, the content of diene conjugates and TBA-active products.

In examining the antioxidant system, it was found that catalase and superoxide dismutase activity on the 5th day of the experiment increased slightly. Still, subsequently, the activity of these enzymes in the blood of dogs infected with toxocariasis decreased. A decrease in the glutathione link was observed, which reduces the level of reduced glutathione and enzymes: glutathione reductase and glutathione peroxidase.

The invasion of dogs with toxocariasis caused an immunosuppressive effect, as indicated by a reduction in all levels of immune defense. In particular, in the blood of infected animals, there was a discount in: phagocytic activity of neutrophils by 4.8 %; phagocytic index – by 7.1 %; BABS and LABS – by 6.1 and 5.9 %; the T lymphocytes number by 6.9 %, the B-lymphocytes number by 4.7 % and an increase in the level of CIC by 60.0 %.

A new complex drug, «Fenbenzyl» was developed, and the Technical Conditions of Ukraine were approved. It is theoretically substantiated and practically proved that the administration of the drug «Fenbenzyl» to dogs for toxocariasis promotes rapid recovery of hematopoietic, antioxidant immunobiological functions, and the functional state liver and its protein-synthesizing function.

It was found that with the use of fenbendazole, the erythrocytes number and hemoglobin content in the blood of infected animals raised compared with the control group but did not reach physiological values. Only in the second experimental group, an increase in these indicators was found throughout the investigation. On days 25 and 30 of the trial, the erythrocytes number and hemoglobin content fluctuated within physiological values.

When determining the number of leukocytes, it was found that they grew in the blood of the control group, and the highest leukocytes number was on 20, 25, and 30 days of the search. When prescribing drugs «Fenbendazole» and «Fenbenzyl» found a decrease in the leukocytes number from 10 days of the investigation. In the second experimental group, the number of leukocytes was more likely to decline compared with the control group.

The use of Fenbenzyl in dogs under conditions of experimental toxocarosis had a normalizing effect on protein metabolism, including an increase in total protein, albumin fraction, and decrease in globulin, as well as the restoration of the albumin-globulin ratio. At the same time, a decrease in the activity of the studied transaminases was recorded in the blood serum of dogs against the background of experimental toxocariasis. Thus, it was found that on the 30th trial day, the AlAT activity in the dog's serum treated with fenbendazole decreased by 21.7 %, and in animals treated with fenbenzyl – by 37.3 %. The AsAT activity in the serum of canines of the first and second experimental groups on the 30th day of the test, respectively, reduced by 22.8 and 32.1 % relative to the control.

When studying catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, and the level of reduced glutathione in animals of experimental groups, an increase in the activity of these indicators was found. The use of fenbenzil in infected dogs contributed to a more likely increase in the antioxidant status of the dogs of the second experimental group, as this drug includes milk thistle, which exhibits antioxidant properties due to the presence of silymarin, which repairs damaged cells.

It should be noted that the lowest level of diene conjugates and TBA-active products was in the blood of dogs of the second group at 25 and 30 days. Inhibition of lipid peroxidation processes in the treatment of dogs with fenbenzyl is due to the activation in animals of metabolic processes involving antioxidant enzymes that catalyze the processes of peroxidation and phosphorylation as enhancing erythropoietic function. On the 30th day of the experiment, the level of diene conjugates in the blood of the second group was 0.29 ± 0.02 IU/ml, and TBA-active products - 25.2 ± 0.40 μ mol/l.

Feeding Fenbenzil to dogs with experimental toxocariasis caused a normalizing effect on the body's immune function, as indicated by an improvement in the number of T-lymphocytes in the blood of dogs of the first and second groups by 3.0 and 7.2 % and B-lymphocytes – by 2, 5 and 4.6 %, respectively.

When studying the effect of fenbendazole and fenbenzyl on the phagocytic

activity of neutrophils and phagocytic index, we observed an increase in these indicators, especially in the experimental group of animals treated with fenbenzil, which includes milk thistle and fenbendazole.

The positive effect of the use of drugs "Fenbendazole" and "Fenbenzyl" was found on the humoral part of animals' natural defenses under the conditions of experimental toxocariasis. As indicated by the growth of BASB – by 4.1 and 5.9 % ($P < 0.001$), LABS – 5.0 and 6.2 % ($P < 0.001$).

Studies have shown that using the drug «Fenbenzyl» has a more significant effect on restoring antioxidant and immune potential in dogs with experimental toxocariasis than the administration of the drug «Fenbendazole». The drug «Fenbenzyl» components supplement the prescribed therapy and, under the conditions of concomitant use in toxocariasis in dogs, show high therapeutic efficacy.

The scientific novelty of the obtained results is that a comparative analysis was performed for the first time. The state of cellular, humoral, and nonspecific immune systems, the intensity of lipid peroxidation, the activity of antioxidant defense system, and functional state of the liver in dogs under experimental toxocariasis and actions of the studied corrective factors were studied. We have developed a new drug, «Fenbenzyl», made based on fenbendazole and milk thistle. The expediency of using the drug «Fenbenzyl» in dogs with the development of toxocariasis invasion has been scientifically substantiated and experimentally confirmed. The corrective effect of Fenbenzyl on the state of the immune and antioxidant systems, the intensity of lipid peroxidation processes, protein-synthesizing function, and the functional state of the liver of dogs under the conditions of toxocariasis have been experimentally proved.

Based on the obtained results, the technical conditions of Ukraine 21.2-00492990-027: 2020 were developed. The drug «Fenbenzyl» approved DNDKI veterinary drugs and feed additives from 10.03.2020.

The results of the dissertation are used in the educational process and research work of students majoring in 211 «Veterinary Medicine» related

institutions of higher education in Ukraine.

Key words: parasitology, pharmacology, dogs, toxocariasis, immune system, antioxidant system, drug «Fenbendazole», «Fenbenzyl».

Список публікацій здобувача

Статті у фахових наукових виданнях України:

1. **Саїд В.**, Стибель В. В., Гутий Б. В., Прийма О. Б. Сучасний погляд на проблему токсокарозу у собак. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія Ветеринарні науки*. 2018. Т. 20. № 83. С. 411–416. (Здобувач зібрав та опрацював літературу за темою статті).

2. **Саїд В.**, Стибель В. В., Гутий Б. В., Прийма О. Б., Мазур І. Я. Протеїнсинтезувальна функція та функціональний стан печінки собак за експериментального токсокарозу. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія Ветеринарні науки*. 2020. Т. 22. № 98. С. 132–137. (Здобувач провів дослідження та підготував статтю до публікації).

3. **Said W. S.**, Stybel V. V., Gytyj B. V., Pryima O. B., Sobolta A. G., Leskiv K. Y., Dytiuk M. P. The state of the immune system of dogs in experimental toxocariasis. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*. 2020. Vol. 3(3). P. 20–24. (Здобувач брав участь у проведенні досліджень, аналізі отриманих результатів та написанні статті).

4. **Саїд В.**, Стибель В. В., Гутий Б. В., Прийма О. Б. Система антиоксидантного захисту організму собак в умовах експериментального токсокарозу. *Вісник ПДАА*. 2020. № 3. С. 233–240. (Здобувач брав участь у проведенні досліджень, аналізі отриманих результатів та написанні статті).

Статті у періодичних наукових виданнях інших держав, які входять до

складу Європейського Союзу:

5. **Said V. S.**, Stybel V. V., Gytyj B. V., Pryima O. B., Sobolta A. G., Leskiv K. Y. Morphological parameters of dogs' blood under experimental toxocarasis. *Colloquium-journal*, 2020, № 23 (75). P. 7–10. *(Здобувач провів дослідження та підготував статтю до публікації).*

Наявність завершеної наукової розробки – технічні умови

6. Стибель В. В., Гутий Б. В., **Саїд В. С.**, Курилас Л. В. (2020). Технічні умови України ТУ У 21.2-00492990-027:2020. Препарат «Фенбенсил». Затверджені ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок від 10.03.2020. *(Дисертант брав участь у проведенні дослідів, оформленні технічних умов).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

Тези наукових доповідей:

7. **Саїд В. С.**, Стибель В. В., Гутий Б. В., Прийма О. Б. Вплив токсокарозної інвазії на морфологічні показники крові собак. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» 4–5 жовтня 2018 р. *Біологія тварин*. Львів, 2018. Т. 20, № 3. С. 160. *(Здобувач брав участь у проведенні досліджень, аналізі результатів та підготовці тез до друку).*