

рожденных телят [Текст] / Э.Г. Абрамян, С.М. Левонян, А.С. Авокян // Совершенствование мер борьбы с незаразными болезнями молодняка сельскохозяйственных животных : межвуз. сб. науч. тр. – Омск, 1999. – С. 35–40. 3. Карпуть, И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка [Текст] / И.М. Карпуть. – Минск : Ураджай, 1993. – 288 с. 4. Малашко, В.В. Гастроэнтеральная патология и реабилитация больных животных [Текст] / В.В. Малашко, Е.Л. Микулич, Е.М. Кравцова // Актуальные проблемы животноводства : сб. науч. тр. – Горки, 2000. – С. 242–245. 5. Плященко, С.И. Получение и выращивание здоровых телят [Текст] / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров, А.Ф. Трофимов. – Минск : Ураджай, 1990. – 220 с. 6. Самохин, В.Т. Своевременно предупреждать незаразные болезни животных [Текст] / В.Т. Самохин, А.Г. Шахов // Ветеринария. – 2000. – № 6. – С. 3–6. 7. Allison, R.G. Interactions of dietary proteins with the mucosal immune system as a component of safety evaluation [Text] / R.G. Allison // J. Protein. Chem. – 2004. – Vol. 3, № 1. – P. 5–17. 8. Baldwin, R.L. Manipulating metabolic parameters to improve growth rate and milk secretion [Text] / R.L. Baldwin, N.E. Smith, J. Taylor // J. Anim. Sci. – 2000. – Vol. 51, № 6. – P. 1416–1428.

**IMMUNOPATOGENEZA AND STRUCTURAL AND METABOLIC PROCESSES  
AT PATHOLOGY OF DIGESTIVE SYSTEM AT ANIMALS**

**Malashko V.V., Kavrus M.A., Haritonik D.N., Tumilovich G.A., Sukach V.L., Malashko D.V., Chernov O.I., Goylik N.K., Kazyro A.M.,  
Petushok A.N., Yushkevich A.S.**

*EE «Grodno State Agrarian University», Grodno, Belarus*

*Colibacteriosis and virus infection is accompanied with decreasing of calf live mass by 12,7 % in relation to clinically health calves. In infected calves the concentration of serum Jg falls down in the average by 12,91–24,86 % in relation to clinically health calves. The use of microbe and vitamin drug “Biokarotivit” and “Catosal” lets stimulate immune and biological processes, hemogenesis and prevent digestive pathology at calves.*

**УДК 619:616.98:579.852**

**Патогистоморфологическая оценка иммуностимулирующей эффективности гидрохлорида ксимедона  
Муртазина Г.Х., Фазылов В.Х.**

*Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Российская Федерация*

**Залялов И.Н.**

*Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, г. Казань, Российская Федерация*

**Макаев И.Х., Макаев Х.Н.**

*ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»,  
г. Казань, Российская Федерация*

Анализ современной ситуации по инфекционным болезням позволяет констатировать, что обилие различных стресс-факторов, бессистемное применение лечебных препаратов, обладающих иммунодепрессивным действием, снижают резистентность организма вследствие поражения иммунной системы и механизмов неспецифической защиты или обуславливают появление вторичных иммунодефицитов [1, 2, 7].

Одним из путей повышения эффективности специфических средств профилактики и лечения при инфекционных заболеваниях является применение неспецифических стимуляторов резистентности организма. Из множества предложенных неспецифических стимуляторов, различающихся по происхождению, структуре и механизму действия, лишь отдельные получили применение в практике [3, 5, 6, 8, 9, 10].

Многочисленными исследователями подтверждено, что морфологические и гистохимические методы исследования находят широкое применение для контроля безвредности и эффективности различных лекарственных средств, которые могут быть чрезвычайными раздражителями и, попадая во внутреннюю среду организма, могут вызвать развитие различных патологических процессов [4, 6]. Исходя из этого, целью наших исследований являлась пато-гистоморфологическая оценка реактогенности и иммуностимулирующей активности при внутримышечном и аэрогенном введении в организм животных гидрохлорида ксимедона (ГХК) – препарата из группы пиримидиновых производных.

**Материалы и методы исследований.** В опытах использовали 36 кроликов массой 2,5–3 кг и 30 поросят 2-хмесячного возраста. Препарат вводили животным в виде 10 % раствора на дистиллированной воде внутримышечно в объеме 2 мл кроликам и 5 мл поросятам и аэрогенно в дозе 25 мг/гол действующего препарата кроликам и 40 мг/гол поросятам. Аэрозоль раствора ГХК создавали генератором САГ-ІРН в камерах объемом 1,6 и 6,5 м<sup>3</sup>.

Пробы тканей для патогистоморфологических исследований с места введения, паренхиматозных органов и лимфатических узлов декапированных животных брали через 3, 8, 14, 24 часа и 3, 7, 10, 14 и 28 суток после введения препарата. Фиксацию материала и изготовление срезов осуществляли общепринятыми при гистоморфологических исследованиях методами. Гистосрезы окрашивали гематоксилин-эозином, азур II-эозином, по Ван-Гизону, РНК выявляли по Браше, гликоген и нейтральные мукополисахариды – Шик-реакцией по Шабдашу, кислые мукополисахариды – толлуидиновым синим, липиды – суданом черным Б, активность кислой фосфатазы по Гомори и азосочетанием.

Альвеолярный сурфактант выявляли по методу Хакни. Для определения интенсивности свечения альвеолярного сурфактанта использовали люминесцентный микроскоп с оценкой по трёхбалльной системе.

В качестве контроля использовали пробы органов и тканей интактных животных.

Описание морфологических изменений в органах и тканях подопытных животных проводили в соответствии с международной гистологической номенклатурой. Все гисто- и иммунохимические исследования сопровождались постановкой соответствующих контролей.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Через 3 часа на месте внутримышечного введения кроликам ГХК наблюдали рассеянные инфильтрации, состоящие из лимфоцитов и плазмочитов с интенсивной пиронинофилией протоплазмы, в региональных лимфатических узлах – увеличение количества молодых клеток плазматического ряда. На 3 сутки гистоморфологические изменения тканей на месте инъекции ГХК исчезли.

Через 8 часов при внутримышечном и аэрогенном введении ГХК регистрировали усиление лимфоидно-гиперпластических и макрофагальных процессов в региональных и отдаленных лимфатических узлах. На слизистой бронхов наблюдали увеличение числа бокаловидных клеток, в перибронхиальной ткани выявляли скопления лимфоидно-гистиоцитарных клеток. В лимфоузлах

наблюдали хорошо заметный рисунок фолликулярного строения, местами фолликулы располагались в 2 слоя, реактивные центры их были несколько расширены, содержали бластные клетки, значительное количество малых и средних лимфоцитов.

Через сутки в лимфатических узлах наряду с крупными центрами фолликулов обнаруживались и вновь формирующиеся вторичные узелки, которые чаще всего располагались непосредственно под капсулой узла. Промежуточные и центральные синусы содержали синусные макрофаги с высокой активностью кислой фосфатазы.

Лимфоидно-гиперпластическая реакция в селезенке по активности уступала таковой в регионарных лимфоузлах. Периартериальные гильзы были умеренно гиперплазированы, в них формировались небольших размеров герминативные центры. Красная пульпа была умеренно депонирована кровью.

На 3 сутки опыта лимфоидно-гиперпластическая реакция в регионарных и отдаленных лимфоузлах оставалась выраженной. Большинство фолликул имели герминативные центры, в которых наряду с бластными и переходными ретикулярными клетками возросло количество средних лимфоцитов. В подкапсулярных и мозговых синусах отмечалась макрофагальная реакция в виде скопления синусных макрофагов, в мягкотных тканях мозгового вещества четко проявлялась плазмноклеточная реакция, представленная преимущественно незрелыми плазматическими клетками с выраженной пиронинофилией цитоплазмы.

Герминативные центры фолликулов селезенки были расширены. В красной пульпе содержалось значительное количество малых и средних лимфоцитов и скопления плазмоцитов.

Изменения в миокарде, печени и почках опытных животных существенно не отличались от таковых у интактных животных.

На 7 сутки в лимфоузлах выявлялся хорошо выраженный рисунок фолликулярного строения, макрофагальная и плазмноклеточная реакции усилились, наблюдали многочисленные вторичные лимфофолликулы с расширенными герминативными центрами и выраженной пиронинофилией. Промежуточные и центральные синусы содержали значительное число малых, средних лимфоцитов, лимфобластов и синусных макрофагов, проявляющих высокую активность кислой фосфатазы.

В селезенке происходило увеличение размеров герминативных центров фолликул, в которых содержалось значительное число бластных клеток с фигурами митоза. В красной пульпе происходило увеличение количества плазмоцитов.

Подслизистая бронхов все еще оставалась инфильтрированной лимфоидно-гистоцитарными клетками. Гиперпластическая реакция перибронхиальной и периваскулярной лимфоидной ткани была выраженной.

На 10 сутки опыта лишь в регионарных, отдаленных лимфоузлах и селезенке регистрировали слабую лимфоидно-гиперпластическую и макрофагальную реакции.

Таким образом, иммуноморфологические и гистохимические изменения после внутримышечного и аэрогенного введения ГХК лабораторным животным характеризовались быстрым и интенсивным нарастанием лимфоидно-гиперпластической, макрофагальной и плазмноклеточной реакций в иммунокомпетентных лимфоидных органах. Они достигали максимально выраженного развития на 3–7 сутки после введения ГХК.

Анализ результатов патогистоморфологических исследований тканей с места введения ГХК кроликам показал отсутствие воспалительной реакции, атрофических и дистрофических процессов в них.

В целом, патогистоморфологические изменения, возникшие в организме поросят как после внутримышечного, так и после аэрогенного введения ГХК были сходными с изменениями в организме лабораторных животных и не выходили за рамки иммуноморфологических процессов и не сопровождалась развитием клинико-морфологических признаков легочной недостаточности.

Введение ГХК вызывало быструю активацию иммунокомпетентных клеток в лимфатических узлах и селезенке, обуславливая выраженную плазмноклеточную реакцию. Причем, среди клеток плазмноклеточного ряда преобладали зрелые формы, которые дифференцировались от гемоцитобластов, плазмобластов и незрелых плазматических клеток сравнительно выраженной базофилией цитоплазмы. К исходу 14 суток после введения ГХК лимфоидно-гиперпластическая, макрофагальная реакции в лимфоидных органах, селезенке ослабевали, в то время как число плазматических клеток в обоих случаях введения ГХК оставалось на сравнительно высоком уровне.

Все вышеизложенное дополнительно подтверждает безвредность и высокую иммуностимулирующую активность ГХК.

Известно, что реактогенность лечебно-профилактических препаратов, обуславливает повреждение тканей в месте введения и возникновение в организме клеток, вырабатывающих аутоантитела, выявляемые по эффекту локального гемолиза эритроцитов (образование бляшек). Результаты подсчета бляшкообразующих клеток (БОК) в периферической крови свидетельствуют, что при обоих способах введения ГХК максимальное процентное содержание БОК в крови отмечалось в первые сутки опыта. В последующие сроки происходило снижение уровня БОК, и на 3 сутки он не превышал 1,9–2,1 %. У интактных животных за все время опыта этот показатель колебался в пределах 1,82–2,11 % от числа ядросодержащих клеток.

Влияние ГХК на реакцию местных факторов защиты легких у подопытных животных при его аэрогенном введении исследовали путем анализа секреции альвеолярного сурфактанта, обеспечивающего стабильное функционирование аэрогематического барьера.

У интактных животных альвеолы всех долей легких имели интенсивную ярко-оранжевую флуоресценцию сурфактанта, располагающегося в виде светящихся колец на альвеолярной поверхности, которую оценивали тремя крестами. В просвете альвеол встречались единичные альвеолярные фагоциты с умеренной активностью кислой фосфатазы и слущенные большие (гранулярные) клетки.

У животных, которым вводили ГХК аэрогенно, в первые 3–8 часов регистрировали незначительное понижение интенсивности свечения альвеолярного сурфактанта (++) . В этот период установили возрастание содержания слущенных эпителиальных клеток и макрофагов в альвеолах. Макрофаги выделялись возросшей активностью кислой фосфатазы и накоплением Шик-положительного материала в цитоплазме. Нормализация интенсивности свечения поверхностно активного материала альвеол в большинстве долек была отмечена через 14 часов опыта (+++). Альвеолярный сурфактант выявлялся в виде интенсивного свечения оранжевого цвета.

Выявлена закономерность и прямая корреляция интенсивности свечения сурфактанта в зависимости от изменения уровня содержания суданофильных групп в эпителиальных клетках альвеол и макрофагах легких, а также от числа альвеолярных фагоцитов с липидными включениями. Увеличение уровня свечения сурфактанта происходило с увеличением в межальвеолярных перегородках количества альвеолоцитов, содержащих гранулы, дающих резко положительную реакцию с суданом черным Б.

**Выводы.** Анализ результатов проведенных экспериментов свидетельствует, что внутримышечное и ингаляционное введение ГХК не оказывает отрицательного воздействия на общее состояние животных, не вызывает деструктивных изменений в органах и тканях организма и аэрогематическом барьере легких, обуславливает выраженную активацию иммунокомпетентных клеток в лимфатических узлах и селезенке.

Полученные данные явились убедительным подтверждением безвредности и высокой иммуностимулирующей активности ГХК и показали перспективность дальнейших углубленных исследований свойств данного средства с целью внедрения в медицинскую и ветеринарную практику в качестве лечебно-профилактического средства для повышения резистентности организма.

### Список литературы

1. Авилов, Ч. Влияние стресс факторов на резистентность организма свиней [Текст] / Ч. Авилов // Ветеринария с.-х. животных. – 2006. – № 3. – С. 46–47. 2. Изменение резистентности свиней при загрязнении окружающей среды средствами химизации [Текст] / Ю.А. Гаврилов [и др.] // Пути повышения эффективности научных исследований на Дальнем Востоке: I Примор. науч.-исслед. ин-т сел. хоз-ва. – Новосибирск, 2003. – Т. 2. – С. 305–309. 3. Долгих, В. Т. Основы иммунопатологии [Текст] / В.Т. Долгих. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2007. – С. 119–158. 4. Зиновьев, А.С. Морфологические методы при оценке напряженности иммунитета при инфекционных заболеваниях [Текст] / А.А. Зиновьев, А.В. Кононов // Архив патологии. – 1980. – № 10. – С. 72–74. 5. Вторичные иммунодефициты. Возможности использования отечественного иммуномодулятора Галавит [Текст] / Т.В. Латышева [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 3. – С. 95–99. 6. Максимов, Г.В. Состав липидов соматических нервов крысы при действии повреждающих факторов [Текст] / Г.В. Максимов, В.В. Ревин, М.А. Юданов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2006. – № 8. – С. 155–157. 7. Малкина, Е.Ю. Протективное действие ряда иммуномодуляторов и их влияние на активность макрофагов [Текст] / Е.Ю. Малкина, Т.Б. Мастернак, А.С. Ларин // Иммунология. – 1998. – № 1. – С. 33–36. 8. Применение иммуномодулятора ксимедона в качестве индуктора фермента N-ацетилтрансферазы [Текст] / В.И. Погорельцев [и др.] // Клинич. фармакология и терапия. – 2006. – № 2. – С. 82–85. 9. Влияние пиримидиновых производных на аденилатциклазную систему регуляции иммунокомпетентных клеток *in vitro* [Текст] / Ю.Д. Слабов [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1998. – № 6. – С. 663–665. 10. Цибулькин, А.П. Иммунорегуляторные взаимодействия в системе ТН1-ТН2 лимфоцитов – основа развития, как патологического процесса, так и терапевтического эффекта ксимедона у пациентов с atopическими аллергическими заболеваниями [Текст] / А.П. Цибулькин, О.В. Скороходкина, Н.А. Цибулькин // Казанский мед. журн. – 2005. – № 2. – С. 87–91.

### PATHOGISTOMORPHOLOGICAL EVALUATION OF XYMEDONE HYDROCHLORIDE IMMUNOGENIC EFFICIENCY

*Murtazina G.Kh., Fazylov V.Kh.*

*Kazan State Medical University, Kazan, Russia*

*Zalyalov I.N.*

*Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after Bauman N.E., Kazan, Russia*

*Makayev I.Kh., Makayev Kh.N.*

*Federal Centre for Animals Toxicology, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russia*

*We have studied pathohistomorphic changes of the animals' organism in order to control safety and immunostimulating activity of xymedone hydrochloride – a drug of the pyrimidine derivatives' aerogenic infusion. The result of experimental research conducted using 36 rabbits and 30 pigs proves that intramuscular and aerogenic infusion of xymedone hydrochloride doesn't show negative impact on the common state of the animals, doesn't cause destructive changes in organs and tissues of the organism, as well as aeroheumatic barrier in the lungs, cause significant activation of the immunocompetent cells in the lymphnodes and spleen. These data show the perspective of further deeper research of the properties of this substance with the purpose of introducing it in the medical and veterinary practice as an immunocorrecting substance.*

УДК 619:616.981.42.07

### МОДЕЛИРОВАНИЕ *IN VITRO* ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-МЕТОДА ОЦЕНКИ ЦИТОКИНИНДУЦИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ БРУЦЕЛЛЕЗНЫХ АНТИГЕНОВ

*Плотникова Э.М., Панкова Е.В.*

*ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», г. Казань, Российская Федерация*

При ряде хронических инфекций бактериальной природы (туберкулез, бруцеллез и т. д.) наличие в сыворотке крови антител не всегда характеризует состояние противoinфекционного иммунитета. При инфекциях, сопровождающихся внутриклеточной локализацией возбудителя, противoinфекционный иммунитет осуществляется лимфоцитами и фагоцитами без участия антител, при котором антителам принадлежит не ведущая, а вспомогательная роль [1, 3].

Известно несколько способов оценки иммуногенности вакцинных препаратов с использованием серологических реакций (РА, РСК, РНГА), включая иммуноферментный анализ (ИФА). Недостатком этих способов является возможность получения недостоверной информации из-за наличия блокирующих антител, феномена «прозоны», а также наличия в организме гетерологичных микроорганизмов (иерсиний, туляремиий), которые обуславливают ложноположительные серологические реакции на бруцеллез [2, 4].

**Цель работы.** Разработка способа, позволяющего проводить экспресс-метод оценки иммуногенности различных вакцинных штаммов бруцелл *in vitro* без использования лабораторных и сельскохозяйственных животных и сокращение времени исследования.

**Материалы и методы исследований.** Поставленную задачу решали путем исследования биологической жидкости на наличие иммунорегуляторных цитокинов в иммунохимической тест-системе. Наличие иммунорегуляторных цитокинов определяли иммуноферментным анализом в культуральных супернатантах клеток периферической крови на содержание иммунорегуляторных цитокинов: фактора некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкина-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ) и колониестимулирующего фактора (КСФ), синтезированных мононуклеарами периферической крови *in vitro* под воздействием антигенов бруцелл и по соотношению указанных цитокинов 1–1,25 (ФНО- $\alpha$ ): 2–2,50 (ИЛ-1 $\beta$ ): 3–3,70 (КСФ) определяли иммуногенность изучаемых штаммов бруцелл.

Начальным этапом исследований являлось приготовление специфических антигенных фракций бруцелл путем радиоинактивации и лизиса микробных клеток. В качестве источника испытуемых антигенов-индукторов цитокинов *in vitro* тест-системе использовали инактивированные гамма-лучами антигены из штаммов *B. abortus* 19, R-1096, 82, 82 Пч, 82 Ц и единый бруцеллезный антиген.