

На правах рукописи

*Солодкий*



**Солодкий Николай Станиславович**

**ДИНАМИКА ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ  
ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ТРИХОФИТИИ КРУПНОГО  
РОГАТОГО СКОТА**

16.00.02 – Патология, онкология и морфология животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Ставрополь – 2009

18.11.2009

Работа выполнена на кафедре анатомии и патанатомии  
ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет»

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, профессор  
**Лапина Татьяна Ивановна**

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук,  
**Криворучко Александр Юрьевич**

доктор биологических наук,  
**Ермаков Алексей Михайлович**

**Ведущая организация:** ФГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная  
академия ветеринарной медицины,  
г. Санкт-Петербург

Защита диссертации состоится «26» мая 2009 г. в 12<sup>00</sup> часов  
на заседании диссертационного совета Д.220.062.02 при ФГОУ ВПО «Ставро-  
польский государственный аграрный университет» по адресу: 355017, г. Став-  
рополь, пер. Зоотехнический, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Став-  
ропольский государственный аграрный университет».

Автореферат опубликован на официальном сайте ФГОУ ВПО «Став-  
ропольский государственный аграрный университет» <http://www.stgau.ru>

Автореферат разослан «23» мая 2009 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Квочко А. Н.

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** В настоящее время общепризнанна тенденция к ухудшению экологического состояния, что ведет к снижению иммунного статуса животных и людей, и, как следствие, вызывает рост численности заболеваний микозами. По широте распространения микозы подразделяют на следующие группы: микозы с глобальным распространением; микозы, регистрируемые на ограниченных географических территориях; микозы, встречаемые в определенных климатических зонах. Типичными представителями микозов с глобальным распространением являются дерматомикозы. В частности, трихофития крупного рогатого скота, обусловленная *T. verrucosum*, официально зарегистрирована более чем в 120 странах на всех континентах (С.В. Петрович, 1989). Ранее считалось, что зоофильная трихофития встречается, главным образом, у сельских жителей. За последние годы выявлен рост заболеваемости мелких животных трихофитией в городах с одновременным возрастанием числа заражения городских жителей зооантропонозной трихофитией. Подобная ситуация связана с изменениями в системе патогенный агент – хозяин с акцентом на иммунный ответ последнего, так как поражение дерматофитами происходит, в подавляющем большинстве случаев, на фоне различных иммунодефицитных состояний (Дж. Дик, 1982). Но даже в свете всех накопленных данных, до сих пор остается недостаточно изученным иммуногенез при микотических инфекциях. У авторов нет единого мнения по механизму развития иммунитета против грибов-возбудителей.

Таким образом, в настоящее время актуален вопрос более углубленного изучения морфологических проявлений иммунных реакций макроорганизма при микозах.

**Цель и задачи исследований.** Целью выполнения работы явилось изучение динамики иммуноморфологических изменений при трихофитии крупного рогатого скота на лабораторных и сельскохозяйственных животных.

Для достижения выбранной цели были определены следующие задачи:

1. Провести моделирование антигенной нагрузки при заболевании трихофитией на лабораторных моделях – белых лабораторных мышах.

2. Изучить морфологические показатели крови и иммунокомпетентных органов белых лабораторных мышей на протяжении всех этапов становления адаптивного иммунного ответа.

3. Провести моделирование течения заболевания трихофитией у телят 3-х месячного возраста.

4. Изучить морфофункциональные показатели крови, характеризующие состояние иммунной системы на всем протяжении становления адаптивного иммунного ответа.

**Научная новизна работы.** Впервые на основании морфологического и статистического анализа иммунокомпетентных органов у лабораторных мышей определено соответствие иммуноморфологических изменений стадиям развития адаптивного иммунного ответа.

На основании показателей крови, у телят, выявлена слабовыраженная первичная ответная реакция гуморального звена иммунитета на введение вакцинного штамма трихофитона.

Впервые, морфологически описан процесс становления иммунного ответа на внедрение возбудителя дерматофитоза.

Выявлен критический период в становлении адаптивного иммунитета на 10-15 сутки от заражения возбудителем трихофитии.

Определено соответствие этапов становления противомикотического адаптивного иммунного ответа у лабораторных и сельскохозяйственных моделей.

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные данные дополняют и расширяют сведения о морфологических изменениях в иммунных органах животных на всех этапах становления антимикотического иммунитета.

Установленные закономерности дают теоретическую базу ветеринарным специалистам для использования различных групп лечебных средств при комплексной терапии и профилактики дерматофитозов.

Результаты исследования могут быть использованы для оценки морфофункционального состояния иммунной системы при течении дерматомикозов у различных видов животных.

Установленный критический период дает основания рекомендовать практикующим ветеринарным врачам проводить иммунную коррекцию в 10–15 сутки заболевания трихофитией.

Полученные данные могут быть использованы в учебном процессе на ветеринарных и биологических факультетах, а также при написании учебников, учебных пособий, монографий.

**Апробация работы.** Основные положения работы были доложены и получили положительную оценку на: X международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Энтузиазм и творчество молодых ученых в развитии фундаментальной и прикладной науки» г. Троицк (13-15 ноября 2006); 71, 72, 73 научно-практических конференциях СтГАУ (2007, 2008, 2009 гг.); Всероссийской научно-практической конференции, г. Новочеркасск, ГНУ СКЗНИВИ (2007); Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессоров В.Н. Жеденова, Г.М. Удовина, Н.В. Садовского (Оренбург, 21-23 октября 2008).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 6 работ, в том числе 1 в журнале, из списка, рекомендованного ВАК РФ для защиты кандидатских диссертаций.

**Внедрение.** Полученные данные внедрены в учебный процесс при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по дисциплине патологическая анатомия сельскохозяйственных животных и как справочный материал при научно-исследовательских работах по патоморфологии животных в ФГОУ ВПО «Алтайский государственный аграрный университет», «Башкирский государственный аграрный университет», «Кубанский государственный аграрный университет», «Брянская государственная сельскохозяйственная академия», «Великолукская государственная сельскохозяйственная академия», «Вятская государственная сельскохозяйственная академия», «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия», «Кабардино-Балкарская государственная сельскохозяйственная академия» «Самарская государственная сельскохозяйственная академия», «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины».

**Благодарность.** Выражаем благодарность доктору биологических наук, Заслуженному деятелю науки, профессору кафедры эпизоотологии и микробиологии ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» А.Ф. Дмитриеву за консультативную помощь в выполнении научной работы, а также Генеральному директору ФГУП «Ставропольская биофабрика» доктору ветеринарных наук В.И. Заерко и его заместителям, кандидату ветеринарных наук А.П. Сурмило и С.А. Бугаеву за предоставление экспериментального материала для проведения исследовательской части работы.

#### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Воздействие микотических антигенов индуцирует становление адаптивного иммунного ответа у телят и белых лабораторных мышей, преимущественно, клеточного звена.

2. Морфологические изменения в иммунных органах у белых лабораторных мышей регистрируются, начиная с первого часа после введения вакцинных антигенов, степень их проявлений зависит от временного фактора.

**Объем и структура диссертации.** Общий объем работы составляет 140 страницы машинописного текста, включает 111 рисунков, 10 таблиц. Диссертация включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов, выводы, практические предложения и список литературы. Список использованной литературы включает 123 источника, в том числе 24 иностранных авторов.

## 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материалы и методы исследований

Работа выполнена в период с 2006 по 2009 годы на кафедре анатомии и патанатомии ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», а также в КФХ «Матлашов» с. Кугульта.

Эксперимент был проведен в два этапа. На первом этапе проводили: моделирование антигенной нагрузки при течении заболевания трихофитией на белых лабораторных мышах; приготовление мазков крови и отбор иммунных органов на основных этапах становления специфического адаптивного ответа с последующим изготовлением гистологических препаратов; изучение морфологических показателей иммунных органов и крови, характеризующих становление и течение адаптивного иммунного ответа; математический анализ, характеризующий изменения в иммунных органах на основных этапах становления адаптивного антимицозного ответа.

Для проведения 1 этапа эксперимента было сформировано 14 групп животных по принципу аналогов по 5 голов в 13 опытных группах и 39 головы в группе контроля. С целью моделирования активного инфекционного процесса с многофакторной активацией иммунной системы нами была использована живая лиофилизированная вакцина ЛТФ-130 (В.В. Анников, Л.Г. Белов, В.А. Каптюшин, 2007). Антигенную стимуляцию проводили путем введения вакцинного штамма ЛТФ-130 в область холки в стандартном разведении в дозе 0,1 см<sup>3</sup>. Животных усыпляли эфиром и проводили убой в соответствии с временными интервалами, указанными в таблице 1, затем проводили взятие крови и отбор органов (тимус, селезенка, регионарные области введения антигенов лимфатические узлы). Выбор временных интервалов осуществляли на основании описанных в доступной литературе основных фаз становления иммунитета (Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, 2000; Е.С. Воронин и др., 2002; Abul K. Abbas, 2004). Органы фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина, по общепринятым методикам заливали в парафин и изготавливали гистологические срезы толщиной 4-5 мкм с последующей окраской гематоксилином и эозином (Г.А. Меркулов, 1969).

## Сроки отбора проб при проведении первого этапа эксперимента

Номер группы животных	Время убоя от начала эксперимента	Количество животных, голов	
		опыт	контроль
1	1 час	5	3
2	2 час	5	3
3	3 час	5	3
4	4 час	5	3
5	1 сутки	5	3
6	2 сутки	5	3
7	3 сутки	5	3
8	4 сутки	5	3
9	10 сутки	5	3
10	15 сутки	5	3
11	20 сутки	5	3
12	25 сутки	5	3
13	30 сутки	5	3
	Итого	65	39

В мазках крови определяли лейкоцитарную формулу. Морфометрические исследования проводили посредством комплекса визуализации «Видео-Тест-Мастер 4,0». В тимусе измеряли толщину коркового и мозгового слоев, определяли их соотношение. Подсчитывали абсолютное количество лимфоцитов в поле зрения светооптического микроскопа и их абсолютные размеры. Определяли относительное количество лимфоцитов. В селезенке устанавливали соотношение красной и белой пульпы. Подсчитывали количество лимфоцитов в области центральных артериол в поле зрения светооптического микроскопа.

На втором этапе эксперимента осуществляли моделирование антигенной нагрузки при течении заболевания трихофития на телятах красной степной породы. Телят в возрасте 3 месяцев по принципу аналогов формировали в 2 группы: опытная (5 голов) и контрольная (3 головы). Опытной группе, согласно наставлению по применению, ввели двойную лечебную дозу вакцины ЛТФ-130, контрольной группе – растворитель для вакцины в той же дозе. Проводили отбор проб крови и сыворотки крови, согласно временным интервалам, указанным в таблице 2; определяли морфологический состав крови, концентрацию общего белка и белковых фракций, титра иммуноглобулинов в сыворотке крови.

Подсчитывали количество эритроцитов и лейкоцитов крови в камере Горяева. Подсчитывали лейкоцитарную формулу. Определяли общий белок крови и белковые фракции – рефрактометрическим и турбидиметрическим не-

фелометрическим методами, соответственно (И.П. Кондрахин, 2004). Производили расчет альбумин/глобулинового индекса. Титр иммуноглобулинов сыворотки крови исследовали при помощи наборов реагентов для иммуноферментного анализа концентрации иммуноглобулина в сыворотке крови фирмы «ВЕКТОР Бест». Определяли общие иммуноглобулины классов: А, М, G и E. (И.П. Кондрахин, 2004).

Таблица 2

**Сроки отбора проб при проведении первого этапа эксперимента**

№ п/п	Время от начала эксперимента	Количество проб от животных			
		опыт		контроль	
		Кровь	Сыворотка крови	Кровь	Сыворотка крови
1	1 сутки	5	5	3	3
2	10 сутки	5	5	3	3
3	15 сутки	5	5	3	3
4	20 сутки	5	5	3	3
5	30 сутки	5	5	3	3
	Итого	25	25	15	15

Цифровые данные обрабатывали методами описательной статистики; определение достоверности разницы между исследуемыми значениями проводили посредством применения критерия однофакторного дисперсионного анализа при  $p < 0,05$  (П.Ф. Рокицкий, 1973; А.А. Любищев, 1986; Г.Ф. Лакин, 1990; В.М. Зайцев, В.Г. Лифляндский, В.И. Маринкин, 2003; Д.А. Новиков, В.В. Новочадов, 2005).

## 2.2. Результаты исследований

### 2.2.1. Динамика морфологических показателей органов системы иммунитета белых лабораторных мышей при антигенной стимуляции вакцинным штаммом гриба рода *Trichophyton*

#### Динамика морфологических и морфометрических показателей в тимусе

С 1 по 4 час от начала эксперимента происходило непрерывное увеличение толщины как коркового, так и мозгового вещества от  $420,9 \pm 13,2$  мкм до  $866,0 \pm 47,3$  мкм, и с  $267,6 \pm 12,2$  мкм до  $310,0 \pm 36,4$  мкм, соответственно. Та же тенденция наблюдалась и в корково-мозговом отношении – увеличение с  $1,59 \pm 0,12$  до  $2,79 \pm 0,48$ . Абсолютное и относительное количество лимфоцитов в корковом веществе снижалось с  $210,5 \pm 9,3$  клеток до  $184,0 \pm 12,67$  клеток



и с  $0,50 \pm 0,04$  клеток до  $0,21 \pm 0,03$  клеток, соответственно. В мозговом веществе абсолютное количество лимфоцитов увеличилось ко 2 часу (с  $74,7 \pm 2,8$  клеток до  $104,2 \pm 3,0$  клеток) и далее оставалось практически на одном уровне ( $102,6 \pm 5,6$  клеток к 4 часу). Аналогичная картина наблюдалась и с динамикой относительного количества лимфоцитов – с  $0,28 \pm 0,02$  клеток до  $0,35 \pm 0,04$  клеток и до  $0,33 \pm 0,06$  клеток. Процентное отношение малых лимфоцитов в корковом веществе непрерывно увеличивалось (с 57% до 69%); в мозговом веществе увеличилось ко второму часу (с 30% до 67%) и снизилось к 4 часу до 50%. Таким образом, за период проведения эксперимента нами выявлено, что в тимусе, в корковом веществе снижалась плотность нахождения тимоцитов, выражавшаяся как в абсолютных, так и в относительных показателях. На наш взгляд, это свидетельствовало об ускоренном выходе созревших Т-лимфоцитов из коркового вещества, что согласуется с данными О.К. Хмельницкого и др. (1990). В мозговом веществе также происходило увеличение линейных размеров, но и абсолютная, и относительная плотность заселения лимфоцитами возрастала, что может быть объяснимо гиперемией и отеком и увеличением притока лимфоцитов крови в данную часть органа. К первому часу резко снижалась популяция малых лимфоцитов в корковом веществе тимуса с последующим ее увеличением на протяжении первых 4-х часов эксперимента. В мозговом веществе происходило постоянное накопление малых лимфоцитов. Данный факт косвенно подтверждает выход из тимуса в кровеносное русло наиболее активных в функциональном отношении малых Т-лимфоцитов.

С 1 по 3 сутки происходило непрерывное уменьшение толщины коркового вещества с  $435 \pm 10,6$  мкм до  $237,7 \pm 10,4$  мкм с дальнейшим увеличением к 4 суткам до  $304,7 \pm 13,9$  мкм. Толщина мозгового вещества снизилась ко 2 суткам (с  $275,0 \pm 7,0$  мкм до  $166,4 \pm 6,4$  мкм) и далее к 4 суткам увеличивалась до  $209,5 \pm 8,9$  мкм. Корово-мозговое отношение ко 2 суткам увеличилось (с  $1,58 \pm 0,08$  до  $1,97 \pm 0,21$ ), а затем к 4 суткам снизилось до  $1,44 \pm 0,13$ . Изменения в абсолютном количестве лимфоцитов носили синусоидный характер, максимальные значения на 2 и 4 сутки ( $249,1 \pm 2,8$  клеток и  $256,4 \pm 3,4$  клеток, соответственно), минимальные значения на 1 и 2 сутки –  $241,4 \pm 4,8$  и  $222,5 \pm 8,3$  клеток. Количество лимфоцитов в мозговом веществе последовательно снижалось до 3 суток (с  $90,8 \pm 3,7$  до  $66,1 \pm 2,6$  клеток), а затем, увеличилось до  $81,4 \pm 2,6$  клеток. Относительное количество лимфоцитов в корковом веществе увеличилось к 3 суткам (с  $0,55 \pm 0,02$  до  $0,94 \pm 0,08$  клеток), а к 4 суткам снизилось до  $0,84 \pm 0,05$  клеток. В мозговом веществе увеличение пришлось на 2 сутки (с  $0,33 \pm 0,02$  клеток до  $0,48 \pm 0,03$  клеток), к 4 суткам снизилось до  $0,39 \pm 0,03$  клеток. Процентное отношение малых

лимфоцитов в корковом веществе осталось практически неизменным (79% на 1 сутки и 82% на 4 сутки). В мозговом веществе происходило последовательное снижение малых лимфоцитов (с 80% до 53%).

Таким образом, в период с 1 по 4 сутки увеличение популяции малых лимфоцитов свидетельствует о появлении функционально активных, зрелых форм тимоцитов. Возрастание относительного количества лимфоцитов в мозговом веществе указывает на увеличение плотности заселения мозгового вещества рециркулирующим пулом тимоцитов.

С 10 по 30 сутки изменения в толщине коркового и мозгового веществ носили синусоидный характер и принимали максимальные значения у коркового вещества на 20 и 30 сутки ( $397,6 \pm 20,6$  и  $360,8 \pm 15,7$  мкм), мозгового на 10 и 25 сутки ( $459,2 \pm 23,4$  и  $557,2 \pm 44,6$  мкм). Минимальные значения коркового вещества выявлены на 15 и 25 сутки ( $268,2 \pm 9$  и  $324,3 \pm 22,2$  мкм), мозгового – на 15 и 30 сутки ( $186,8 \pm 5,7$  и  $239,3 \pm 11,4$  мкм). Корово-мозговое отношение также имело два пика максимальных величин, – на 15 и 30 сутки ( $1,42 \pm 0,09$  и  $1,52 \pm 0,14$ ), и минимальных – на 10 и 25 сутки ( $0,712 \pm 0,08$  и  $0,605 \pm 0,09$ ). Абсолютное количество лимфоцитов в корковом веществе с 10 по 15 сутки увеличилось с  $204,4 \pm 8,0$  клеток до  $231,1 \pm 5,3$  клеток, к 20 суткам снизилось ( $203,5 \pm 6,4$  клеток) и далее, к 30 суткам, последовательно увеличилось до  $212,2 \pm 10$  клеток. Колебания размеров мозгового вещества носили характер синусоиды с максимальными значениями на 15 ( $86,6 \pm 4,1$  клеток) и 25 сутки ( $92,4 \pm 3,1$  клеток), минимальные значения были отмечены на 10 ( $81,9 \pm 3,9$  клеток) и 30 сутки ( $75,9 \pm 2,7$  клеток). Изменения относительного количества лимфоцитов в корковом веществе носили характер синусоиды с максимальными значениями на 15 ( $0,86 \pm 0,05$  клеток) и 25 сутки ( $0,65 \pm 0,06$  клеток), минимальными на 20 ( $0,51 \pm 0,04$  клеток) и 30 ( $0,59 \pm 0,05$  клеток) сутки. В мозговом веществе с 10 по 15 сутки относительное количество лимфоцитов увеличилось (с  $0,18 \pm 0,02$  до  $0,46 \pm 0,04$  клеток), далее к 20 суткам уменьшилось ( $0,15 \pm 0,02$  клеток) с последующим увеличением количества до 30 суток ( $0,32 \pm 0,03$  клеток). Процентное отношение лимфоцитов в корковом веществе от 10 к 15 суткам увеличилось (с 68% до 88%), к 20 снизилось (52%), с последующим последовательным ростом к 30 суткам (68%). В мозговом веществе процентное содержание малых лимфоцитов с 10 по 20 сутки увеличилось (с 62% до 69%), на 25 сутки снизилось (53%) и к 30 суткам вновь несколько возросло (62%). Таким образом, с 10 по 30 сутки выявлена динамика морфологических изменений в тимусе, свидетельствующая о снижении степени его иммунологической напряженности.

### Динамика морфологических показателей селезенки

С 1 по 3 час эксперимента происходило увеличение отношения белой пульпы к красной (с  $0,98 \pm 0,05$  до  $0,99 \pm 0,16$ ) с последующим уменьшением к 4 часу до  $0,92 \pm 0,17$ . Изменения в количестве лимфоцитов в периартериальной зоне селезенки носили синусоидный характер с максимальными значениями на 2 и 4 часы ( $111,1 \pm 3,7$  и  $102,8 \pm 4,2$  клеток) и минимальными на 1 и 3 часы ( $100,1 \pm 3,9$  и  $95,5 \pm 5$  клеток). Таким образом, в период с 1 по 4 час отмечалось увеличение отношения площади белой пульпы к красной и количества лимфоцитов в белой, красной пульпах и Т-зонах, что согласуется с данными об изменениях в селезенке при антигенной стимуляции с С.И. Колесниковым, Л.М. Морозовой, 1985; P. Tosi et al., 1978.

С 1 по 4 сутки характер изменений отношения белой пульпы к красной носил характер синусоиды, максимальные значения отмечены на 2 сутки ( $0,73 \pm 0,19$ ) и 4 сутки ( $0,57 \pm 0,15$ ). Минимальные значения на 1 ( $0,45 \pm 0,15$ ) и 3 сутки ( $0,55 \pm 0,12$ ). Количество лимфоцитов последовательно возрастало с 1 суток ( $83,3 \pm 9,6$  клеток) по 4 сутки ( $114,4 \pm 3,9$ ). Таким образом, в данный период в селезенке накапливалась популяция Т-лимфоцитов, свидетельствующая об активной реакции клеточного звена адаптивного иммунитета.

С 10 по 15 сутки отношение белой пульпы к красной возрастало (с  $0,86 \pm 0,27$  до  $1,39 \pm 0,3$ ), затем к 20 суткам снижалось до  $0,3 \pm 0,05$  и далее последовательно увеличивалось до 30 суток ( $1,19 \pm 0,18$ ). Количество лимфоцитов в периартериальной зоне с 10 по 15 сутки увеличивалось (с  $96,1 \pm 4,5$  клеток до  $106,8 \pm 1,7$  клеток), затем был отмечен спад к 20 суткам ( $95,2 \pm 8,0$  клеток) с дальнейшим увеличением на 25 сутки ( $147,8 \pm 6,0$  клеток) и уменьшением к 30 суткам ( $133,1 \pm 4,4$  клеток). Таким образом, морфологически выявлен критический период на 15 сутки, который характеризуется максимальным отношением белой пульпы к красной, а также максимальным количеством Т-лимфоцитов в периартериальной зоне, что, по-видимому, свидетельствует о максимальной реакции селезенки в ответ на внедрение микотического возбудителя, с последующим снижением иммунной реактивности этого органа.

### Динамика морфологических показателей регионарных лимфатических узлов

Через 1 час после введения вакцины обнаруживали переполнение лимфой краевого и промежуточных синусов с содержанием значительного количества лимфоцитов. Через 2 часа после введения вакцины краевой и промежуточные синусы заполнялись лимфой с лимфоцитами. В фолликулах и мозговых шнурах появлялись процессы пролиферации лимфоцитов. Клетки располагались недлинными цепочками. Через 3 часа после введения вакцины,

как в корковом, так и в мозговом веществе была выражена пролиферация лимфоцитов. Все лимфоциты располагались рядами, как в лимфатических фолликулах, так и в мозговых тяжах. Цепочки продолжались за пределы фолликула в синусы. В светлом центре фолликула встречали единичные лимфобласты. Были видны фигуры митоза лимфоцитов. Появлялись кооперации макрофаг-лимфоцит. Через 4 часа после введения вакцины в центре фолликула выявляли дегенеративные процессы в лимфоцитах. Они претерпевают изменение формы. В мозговых тяжах выявляли бластные формы лимфоцитов. Таким образом, описанные явления свидетельствуют о начале антигензависимой реакции в данном органе.

Через 1 сутки после введения вакцины в лимфатических фолликулах был хорошо выражен светлый центр, в котором просматривали макрофаги и бластные формы лимфоцитов. Рядом с фолликулами шла активная пролиферация лимфоцитов, которые имели гроздевидное расположение. По краям фолликула лимфоциты располагались диффузно, маленькими цепочками. Краевой и промежуточные синусы были расширены и наполнены лимфоцитами. Через 2 суток после введения вакцины из гроздьев лимфоцитов образовались вторичные узелки, организованные в группы. Во вторичных узелках лимфоциты располагались хаотично, светлые центры были не выражены. Наблюдали пролиферацию лимфоцитов в мозговых тяжах. В краевом и промежуточных синусах находили умеренное количество лимфоцитов, а также встречали бластные формы. Через 3 суток после введения вакцины были выражены светлые центры во всех лимфатических узелках. В их центре возрастала частота межклеточных коопераций. По периферии фолликулов обнаруживали гроздья из лимфоцитов. В краевом синусе много клеток лимфоцитарного ряда, макрофагов кооперирующих с лимфоцитами. В мозговых тяжах чаще встречали лимфоциты, организованные в короткие цепочки. В промежуточных синусах также встречали кооперации клеток. Через 4 суток после введения вакцины наблюдали гиперплазию лимфатических узлов. Были значительно увеличены лимфатические узелки, в них лимфоциты располагались гроздьями. Центр узелка расширен, заполнен лимфоидными клетками с гипо- и нормохромными ядрами. Здесь встречали лимфоциты с характерной морфологической картиной апоптоза и макрофаги. В мозговых шнурах встречали различные клетки, кооперирующие между собой. Краевые и промежуточные синусы были заполнены лимфоцитами. Таким образом, выявлены морфологические процессы, свидетельствующие об окончании ранней индуцибельной стадии, характеризующиеся появлением картины саморегуляции иммунного ответа посредством соотношения митоз/апоптоз лимфоцитов.

Через 10 суток после введения вакцины видны узелки были незначительных размеров, в них лимфоциты располагались гроздьями. Аналогичная картина

обнаружена в мозговых шнурах. Краевой и промежуточные синусы полностью заполнены лимфоцитами. Через 15 суток после введения вакцины продолжалась гиперплазия узелков. В центре узелков встречали бластные формы лимфоцитов. По периферии лимфоциты располагались крупными гроздьями. В гроздьях лимфоциты располагались цепочками. В мозговых телях лимфоцитов немного. В краевом синусе – умеренное количество лимфоцитов, много макрофагов, встречали кооперации макрофаг-лимфоцит. В промежуточных синусах встречали большое количество лимфоцитов, макрофагов. В мозговом веществе встречали кровеносные сосуды, стенка которых инфильтрирована лимфоцитами. Через 20 суток после введения вакцины в краевом синусе уменьшилось количество лимфоцитов. По периферии лимфатических узелков имела узкая зона гроздевидно расположенных лимфоцитов. Лимфатические фолликулы имели четкую границу. Светлый центр широкий. Через 25 суток после введения вакцины узелки имели округлую форму. Светлый центр не выражен. Лимфоциты располагались диффузно, ядра лимфоцитов гиперхромные. По периферии лимфатического узелка циркулярно расположены ретикулярные клетки. Краевой синус умеренно расширен, в нем – ретикулярные клетки и лимфоциты. В мозговых шнурах и промежуточных синусах много лимфоидных клеток. Через 30 суток после введения вакцинного штамма трихофитона, гистологическая картина аналогична 25 суткам. Таким образом, описанная картина свидетельствует о прекращении антигенного стимулирования лимфоцитов в лимфатических узелках, сопровождающегося нормализацией морфологической картиной, снижением реактивности светлых зон.

### **2.2.2. Динамика морфологических показателей крови белых лабораторных мышей при антигенной стимуляции вакцинным штаммом гриба рода *Trichophyton***

В период с 1 по 4 час эксперимента в крови экспериментальных мышей отмечено снижение числа сегментоядерных нейтрофилов с  $11,0 \pm 3$  до  $8,0 \pm 0$  клеток, с одновременным увеличением количества юных нейтрофилов с  $4,0 \pm 2$  до  $9,95 \pm 3$  клеток.

С 1 по 4 сутки снижалось количество юных нейтрофилов с одновременным увеличением числа палочкоядерных и сегментоядерных, а также снижением количества лимфоцитов с  $72,3 \pm 7,2$  до  $60,2 \pm 7,8$ . Отмечали некоторое увеличение количества эозинофилов с  $4,3 \pm 2,3$  до  $5,1 \pm 1,7$  клеток.

В период с 10 по 15 сутки количество лимфоцитов увеличивалось с  $65,0 \pm 9$  до  $79,0 \pm 14$ , с последующим снижением до  $71,7 \pm 7,1$  к 30 суткам. Количество моноцитов уменьшалось с  $7,0 \pm 3$  (на 10 сутки) до  $1,1 \pm 0,5$  к 30 суткам. Максимальное количество сегментоядерных нейтрофилов было на

10 сутки ( $19 \pm 1,52$ ), минимальное – на 15 сутки ( $10,44 \pm 7,31$ ), после чего происходило увеличение их соотношения до  $17,6 \pm 1,5$  клеток. Количество юных и палочкоядерных нейтрофилов снижалось с 10 по 30 сутки с  $4,3 \pm 0,3$  до  $3,43 \pm 0,5$  и  $5,67 \pm 1,7$  до  $4,5 \pm 4,5$ , соответственно.

### 2.2.3. Динамика показателей крови телят при антигенной стимуляции вакцинным штаммом гриба рода *Trichophyton*

На всех этапах эксперимента изменения показателей количества эритроцитов и гемоглобина в крови носили достоверно незначимый характер как в контрольной, так и в опытной группах, и составили, соответственно,  $6,8 \pm 0,5 \cdot 10^{12}/л$  и  $101,94 \pm 2,65$  г/л. Фоновый показатель количества лейкоцитов в крови на протяжении всего эксперимента составил, в среднем,  $9,05 \pm 0,89 \cdot 10^9/л$ . На первые сутки численность клеток увеличилась до  $11,72 \pm 1,04 \cdot 10^9/л$ . На пятые сутки количество лейкоцитов достигло своего максимального значения –  $12,53 \pm 1,42 \cdot 10^9/л$ . К 10 суткам отмечен резкий (на 20,2%) спад показателя до  $10,0 \pm 1,23 \cdot 10^9/л$ . В дальнейшем отмечена тенденция к снижению показателя, – на 15 сутки –  $8,73 \pm 0,3 \cdot 10^9/л$  (12,7%), на 20 сутки –  $8,35 \pm 0,42 \cdot 10^9/л$  (4,3%), на 30 сутки –  $8,28 \pm 0,46 \cdot 10^9/л$  (0,8%).

В динамике изменений содержания лейкоцитов имелась следующая закономерность: количество лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов снижалось к 10 суткам до  $3,668 \pm 0,597 \cdot 10^9/л$  и  $1,464 \pm 0,428 \cdot 10^9/л$ , соответственно. Количество юных и палочкоядерных нейтрофилов, напротив, увеличивалось до  $1,808 \pm 0,506 \cdot 10^9/л$  и  $1,08 \pm 0,533 \cdot 10^9/л$ , соответственно. С 10 по 30 сутки количество лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов восстановилось до уровня фоновых показателей, –  $4,695 \pm 0,763 \cdot 10^9/л$  и  $2,405 \pm 0,432 \cdot 10^9/л$ . Количество юных и палочкоядерных нейтрофилов к 30 суткам снизилось до значений фоновых показателей, – 0 – юных и  $0,475 \pm 0,198 \cdot 10^9/л$  палочкоядерных нейтрофилов. Количество моноцитов также увеличивалось к 10 суткам ( $0,668 \pm 0,108 \cdot 10^9/л$ ) и оставалось высоким до окончания эксперимента. Количество базофилов постоянно увеличивалось до 30 суток и составляло  $0,469 \pm 0,1 \cdot 10^9/л$ .

Таким образом, в динамике морфологического состава крови на протяжении эксперимента выявлен критический период на 10 сутки, характеризующийся сменой тенденции от увеличения к снижению юных и палочкоядерных нейтрофилов и сменой тенденции уменьшения к увеличению лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов. На всем протяжении эксперимента увеличивалось количество моноцитов, свидетельствующее об активизации мононуклеарно-макрофагальной системы организма; и базофилов, свидетельствующее о процессе аллергизации организма.

Фоновые показатели общего белка сыворотки крови на протяжении всего эксперимента составили в среднем  $67,2 \pm 1,52$  г/л. Отмечено снижение на 5 сутки уровня общего белка до  $54,04 \pm 2,17$  г/л, с последующим его ростом до  $71,10 \pm 0,81$  г/л к 20 суткам. Изменения альбумин-глобулинового соотношения носили синусоидный характер с пиками максимальных величин на 1, 10, 20 сутки и равнялись  $0,54 \pm 0,11$ ;  $0,62 \pm 0,05$ ;  $0,64 \pm 0,05$  г/л, соответственно. Концентрация альбуминовых фракций также изменяла свои значения по синусоидному типу с пиками на 1, 10, 20 сутки –  $22,33 \pm 3,31$ ;  $23,77 \pm 1,61$ ;  $27,22 \pm 0,86$  г/л, соответственно.

Концентрация альфа-глобулинов увеличилась на 1 сутки и составила  $15,87 \pm 4,98$  г/л, снизилась к 10 суткам ( $9,05 \pm 1,54$  г/л) и в дальнейшем происходило увеличение концентрации вплоть до 30 суток –  $12,12 \pm 0,60$  г/л. Изменение уровня концентрации бета-глобулинов носило синусоидный характер с пиками максимальных величин на первые (  $21,42 \pm 4,50$  г/л), 15 ( $22,05 \pm 1,88$  г/л) и 30 сутки ( $29,74 \pm 1,72$  г/л). Уровень гамма-глобулинов снизился к 1 суткам и составил  $8,46 \pm 3,65$  г/л, в последующем произошел рост концентрации и к 10 суткам достиг максимального значения ( $17,93 \pm 0,81$  г/л), к 30 суткам выявлен спад значения до  $7,89 \pm 0,47$  г/л.

Фоновые показатели концентрации иммуноглобулинов на протяжении всего эксперимента носили статистически незначимые изменения и составили: IgA –  $24,13 \pm 1,36$  МЕ/мл; IgM –  $21,5 \pm 1,92$  МЕ/мл; IgG –  $15,81 \pm 0,28$  МЕ/мл; IgE –  $4,94 \pm 0,47$  МЕ/мл. Концентрация IgA с 1 суток к 5 снизилась (с  $22,76 \pm 0,05$  МЕ до  $22,69 \pm 0,03$  МЕ), к 10 суткам отмечено ее увеличение до  $29,93 \pm 3,09$  МЕ, с последующим уменьшением к 15 суткам ( $22,62 \pm 0,15$  МЕ) и последовательным увеличением к 30 суткам ( $25,11 \pm 0,38$  МЕ). Концентрация IgM на протяжении эксперимента изменялась статистически незначимо. Концентрация IgG несколько увеличилась с 1 суток ( $15,81 \pm 0,25$  МЕ) к 5 суткам ( $16,18 \pm 0,37$  МЕ), после чего последовал период снижения концентрации на 10 сутки ( $15,83 \pm 0,01$  МЕ) с последующим ростом до  $18,47 \pm 0,73$  МЕ к 20 суткам. К 30 суткам происходило снижение концентрации до  $16,27 \pm 0,13$  МЕ. Концентрация IgE с 4 часа до 10 суток медленно увеличивалась (с  $5,11 \pm 0,16$  МЕ до  $5,73 \pm 0,36$  МЕ), к 15 суткам относительно резко увеличилась до  $8,63 \pm 1,2$  МЕ и далее последовательно снизилась до  $5,63 \pm 0,18$  к 30 суткам.

Таким образом, у телят отмечены явления аллергизации, сопровождающиеся увеличением количества базофилов на фоне увеличения концентрации общего IgE, что мы связываем с развитием реакции гиперчувствительности замедленного типа (А.Д. Адо, 1978; Г.Н. Дранник, 2003; Г.А. Новик, 2004).

### 3. ВЫВОДЫ

1. При введении возбудителя трихофитии белым лабораторным мышам в латентный период становления адаптивного иммунного ответа наблюдается картина реакций со стороны сосудистого русла иммунных органов, проявляющаяся гиперемией, отеком. Происходят процессы увеличения количества иммунокомпетентных клеток в иммунных органах.

2. На 4 сутки после введения возбудителя трихофитии в органах иммуногенеза морфологически выявляется переход индуктивной стадии в продуктивную, характеризующуюся в тимусе уменьшением количества лимфатических клеток за счет миграции их в периферические органы иммунитета. В лимфатических узлах и селезенке продолжают являться гиперплазии и клеточной бласттрансформации.

3. К 30 суткам эксперимента происходит снижение иммунологической реактивности тимуса и регионарных лимфатических узлов. Морфологическая картина процессов иммунной реактивности в селезенке к окончанию эксперимента остается выраженной.

4. На 10 сутки от введения вакцинного штамма выявлен критический период, характеризующийся сменой увеличения нейтрофилов на реакцию роста количества лимфоцитов в крови.

5. Максимальное количество лейкоцитов в крови телят отмечено в период перехода от индуктивной фазы адаптивного иммунного ответа к продуктивной.

6. При введении телятам вакцинного штамма трихофитона слабо выражено развитие первичного иммунного гуморального ответа.

7. Регистрируемое увеличение титров антител, характеризующих начало вторичного иммунного ответа у телят на введение трихофитона, начинается с 10 суток проведения эксперимента.

### 4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Полученные данные могут использоваться для дальнейших исследований становления адаптивного иммунитета против полевых и вакцинных штаммов возбудителей дерматомикозов.

Результаты исследования могут быть использованы в качестве критериев при лабораторной оценке морфофункционального состояния иммунной системы животных при заболевании дерматомикозами.

Установленный критический период при становлении антимикотического иммунитета дает основания предлагать практикующим ветери-



нарным врачам проводить иммунную коррекцию на 10 – 15 сутки заболевания трихофитией.

При назначении иммуномодулирующей терапии при дерматомикозах рекомендуем использовать препараты, преимущественно, направленные на модуляцию Т-клеточного звена иммунитета.

Результаты исследований могут быть использованы в учебном процессе и научной работе высших и средних научных заведений биологического и медицинского профиля; в научной работе экспериментальных медицинских и биологических лабораторий, научных центров и институтов; в руководствах, пособиях и учебниках по патологической анатомии; при написании монографий.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Солодкий, Н.С. Микологические вопросы в современной практике ветеринарной медицины / Н.С. Солодкий // Энтузиазм и творчество молодых ученых в развитии фундаментальной и прикладной науки: Материалы X межд. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов. – Троицк, 2006. – С. 137-138.

2. Солодкий, Н.С. Показатели иммунного статуса крупного рогатого скота в различные физиологические периоды при поражении дерматофитами рода *Trichophyton* / Естествознание и гуманизм: сб. науч. трудов «Современный мир, природа и человек». – Томск, 2007. – Т. 4. – №2. – С. 98.

3. Лапина, Т.И. Иммунная система продуктивных животных в аспекте требований промышленного животноводства / Т.И. Лапина, Н.С. Солодкий // Актуальные проблемы патологии, морфологии и онкологии животных: Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Новочеркасск, 2007. – С. 5-8.

4. Лапина, Т.И. Динамика морфометрических показателей системы иммунных органов белых мышей при антигенной стимуляции грибом рода *Trichophyton* / Т.И. Лапина, Н.С. Солодкий // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных: сб. науч. статей по мат. 72-й науч.- пр. конф. – Ставрополь: «Агрус», 2008. – С. 63-64.

5. Лапина, Т.И. Гистологическая картина иммунокомпетентных органов белых мышей при антигенной стимуляции грибом рода *Trichophyton* / Т.И. Лапина, Н.С. Солодкий // Роль биологии и ветеринарной медицины в реализации государственной программы развития сельского хозяйства на 2008-2012 гг.: материалы международной научно – практической конференции/ под общ. Ред. Л.Л. Абрамовой. – Оренбург: ЗАО «Инсис», 2008. – С. 64-68.

6. Солодкий, Н.С. Морфометрические показатели тимуса белых лабораторных мышей в процессе становления адаптивного иммунного ответа на введение вакцины ЛТФ-130 / Н.С. Солодкий, Т.И. Лапина // Труды Кубанского аграрного университета. 2009. – июнь (внеочередной).

---

Подписано в печать 21.05.2009	Уч.-изд.л. 0,79
Формат 60×84 1/16	Усл.печ.л. 1,05
Бумага офсетная	Тираж 150 экз.
	Заказ 194

---

Отпечатано в Издательско-полиграфическом комплексе  
Ставропольского государственного университета.  
355009, Ставрополь, ул.Пушкина, 1.