

*Гос. арх.*  
На правах рукописи  
*А.В. Смирнов*



003059759

**Пономаренко Дмитрий Григорьевич**

**ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ  
НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОРГАНОВ  
ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НОРОК ПРИ АЛЕУТСКОЙ БОЛЕЗНИ**

16 00 02 — патология, онкология и морфология животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**17 МАЙ 2007**

Ставрополь — 2007

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, профессор  
**Водолажская Маргарита Геннадьевна**

доктор ветеринарных наук, профессор  
**Салимов Виктор Андреевич**

**Ведущая организация:** ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский  
ветеринарный институт патологии,  
фармакологии и терапии»

Защита диссертации состоится «25» мая 2007 г в 10<sup>00</sup> часов  
на заседании диссертационного совета Д 220 062 02 при ФГОУ ВПО  
«Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу  
355017, г Ставрополь, пер Зоотехнический, 12

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО  
«Ставропольский государственный аграрный университет»

Автореферат опубликован на официальном сайте ФГОУ ВПО «Став-  
ропольский государственный аграрный университет» [http //www stgau ru](http://www.stgau.ru)

Автореферат разослан «25» апреля 2007 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Квочко А Н

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы** Россия всегда славилась «мягким золотом», так называли шкурки ценных пушных зверей

Звероводство — одна из самых перспективных отраслей животноводства. В настоящее время более 80 % (по стоимости) пушнины мирового рынка имеет клеточное происхождение (Берестов В. А., 2002). На долю норковых шкурок в РФ приходится около 80–85 % всей продукции звероводства (Ильина Е. Д., Соболев А. Д. и др., 2004).

Основной проблемой пушного звероводства в России является эпизоотическое неблагополучие звероводческих хозяйств по алеутской болезни.

Инфекционные болезни продолжают оставаться главной причиной заболеваемости и смертности. Все чаще констатируется, что течение «старых» инфекционных патологий не укладывается в классическую картину. Установлено, что атипичный иммунный ответ на микроорганизмы часто является причиной развития соматических аутоиммунных заболеваний (Хайтов Р. М., 2004).

В промышленном звероводстве имеет место высокая концентрация поголовья на ограниченных площадях, повышенное содержание микроорганизмов в окружающей среде, особенности кормления и содержания, широкая механизация трудоемких процессов, что изменяет физиологический статус зверей и дестабилизирует защитные силы их организма (Николаев А. В., 2006).

Алеутская болезнь (АБ), гипер-гаммаглобулинемия, или вирусный плазмодитоз (*Morbus aleutica lutreolarum*, *Plasmocytosis of mink*), причиняет звероводству огромный экономический ущерб вследствие снижения хозяйственных показателей и гибели животных. В отдельных звероводческих хозяйствах России заболевание норок АБ достигает 70–100 % (Литвинов А. М., Яременко Н. А., 1998, Тютюнник Н. Н., Кожевникова Л. К., 1998, Узембаева Л. Б., Илюха В. А. и др., 1998, Кузнецов А. Ф., Коротков В. М., 1999, Таранин А. В., Зеленев Е. Ю., 2001, Слугин В. С., 2003).

По данным А. И. Майоровой и А. Н. Семикрасовой (2006), в настоящее время в РФ пораженность зверей алеутской болезнью на отдельных норководческих фермах превышает 50 %.

Несмотря на достижения, связанные с расшифровкой вирусного генома (Фаизулов Е. Б., 2002), наука пока еще далека от создания действенной вакцины, предотвращающей распространение алеутской болезни.

Сегодня назрела необходимость наиболее глубокого изучения показателей клеточного и гуморального звена иммунитета больных АБ норок и разработки рациональной схемы иммунотропной терапии с целью увеличения сохранности зараженных зверей.

**Цель и задачи исследований.** Целью нашей работы является изучение влияния некоторых синтетических иммуномодуляторов на морфофункциональные показатели органов иммунной системы норок при алеутской болезни.

**Задачи исследования**

- изучить гематологические и биохимические показатели крови здоровых, больных АБ, а также опытных (с использованием иммуномодуляторов) норок,

- определить цитологический состав центральных и периферических органов иммуногенеза норок ИФА-отрицательных и ИФА-положительных на АБ, а также динамику этих показателей под воздействием иммуномодуляторов,
- выявить морфологические и гистохимические изменения в органах иммунной системы и клетках крови норок при вирусном плазмодитозе без применения и с применением полиоксидония, тимогена, левамизола

**Научная новизна работы.** Впервые определены характер изменения ферментативной активности нейтрофилов и лимфоцитов крови больных алеутской болезнью норок, а также динамика этих показателей после иммунотерапии полиоксидонием, тимогеном и левамизолом

Дана оценка гематологических показателей, а также биохимических и иммунологических данных сыворотки крови при алеутской болезни и после применения выбранных иммуномодуляторов

Изучены цитологические и некоторые цитохимические показатели красного костного мозга, как центрального органа иммуногенеза, в норме, при инфекционной гипер-гаммаглобулинемии и после иммунотерапии

Выявлена количественная динамика лимфоцитов различных органах иммуногенеза под воздействием иммуномодуляторов

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные данные проведенных исследований в значительной степени дополняют и расширяют сведения о патологических процессах иммунной системы больных плазмодитозом норок. Результаты рекомендуем использовать при оценке морфофункционального состояния иммунной системы норок при иммунодефиците, вызванном хроническим течением АБ

Установленные закономерности дают теоретическую базу ветеринарным специалистам для использования выбранных иммуномодуляторов в качестве лечебных средств при комплексной терапии норок, больных вирусным плазмодитозом, открывают перспективу по применению иммуностропных препаратов в области пушного звероводства

Данные, полученные в ходе проведенного исследования, могут быть использованы в учебном процессе на ветеринарных, зооинженерных и биологических факультетах, а также курсах повышения квалификации, при написании учебников, монографий

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

1 Изменение морфологических, ферментативных и иммуно-биохимических показателей крови норок при алеутской болезни и под воздействием полиоксидония, тимогена и левамизола

2 Эффективность влияния полиоксидония, тимогена и левамизола на динамику цитологических, патогистологических, гистохимических и морфометрических показателей центральных и периферических органов иммуногенеза норок, больных вирусным плазмодитозом

**Апробация работы.** Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на научно-практических конференциях ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» (2004–2006), на II Международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию факультета ветеринарной медицины СтГАУ «Актуальные проблемы охраны здоровья животных» (2004), на научно-практической конференции «Ак-

туальные вопросы зоотехнической и ветеринарной науки и практики в АПК» (Ставрополь, 2005) и научно-практической конференции, посвященной 75-летию СтГАУ «Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных» (Ставрополь, 2005)

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе статья в журнале из перечня рецензируемых ВАК, а также методическая рекомендация «Влияние иммуностимулятора полиоксидония на иммунную систему животных при вторичных иммунодефицитах», утвержденные Управлением ветеринарии и Министерством сельского хозяйства Карачаево-Черкесской Республики (25.08.2005 г.)

**Внедрение.** Результаты исследований внедрены в племенном звероводческом хозяйстве ЗАО «Лесные ключи» Ставропольского края

Полученные данные используются на лекционных и лабораторно-практических занятиях по курсам патологическая анатомия, микробиология, вирусология и иммунология в ФГОУ ВПО СтГАУ, ДонГАУ, КубГАУ, ОмскГАУ, Костромская ГСХА, Вятская ГСХА, Самарская ГСХА, УО Витебская ГАВМ (Беларусь), а также на кафедре животноводства и ветеринарной медицины ФГОУ «Алтайский институт повышения квалификации руководителей и специалистов АПК»

**Объем и структура диссертации.** Диссертация включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов, выводы, практические предложения и список литературы. Список использованной литературы включает 218 источников, в том числе 43 иностранных автора. Работа изложена на 160 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 47 микрофотографиями, 17 таблицами, 25 диаграммами

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материал и методы исследования**

Работа выполнена в период с 2004 по 2006 годы на кафедре анатомии и патанатомии ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», в ГНУ СНИИЖК, звероводческом племенном хозяйстве ЗАО «Лесные ключи» Шпаковского района, Ставропольского края на американской норке (*Mustela vison*) стандартного темно-коричневого окраса, в количестве 50 животных

Опыт проводили на норках 9–10-месячного возраста, положительно и отрицательно реагирующих по ИФА на алеутскую болезнь (АБ), принадлежащих ЗАО «Лесные ключи» Шпаковского района, Ставропольского края. По принципу аналогов сформировали 5 групп (по 5 самцов и 5 самок в каждой, содержавшихся отдельно) группу «ИФА-негативные» составляли здоровые норки, в группу «ИФА-позитивные» входили больные АБ животные, служившие контролем. В опытные группы № 1, № 2 и № 3 вошли звери, больные плазмозитозом, которым применяли по ниже изложенной схеме полиоксидоний, тимоген и левамизол соответственно. Все животные подвергались тщательному клиническому осмотру и дегельминтизации за 21 день до начала эксперимента

Для подтверждения диагноза перед формированием групп нами была поставлена реакция йодной агглютинации (Берестов В. А., 2002)

Иммуномодуляторы применяли больным (положительно реагирующим по ИФА на АБ) поркам по следующей схеме: полиоксидоний — по 0,1 — 0,15 мг/кг на физиологическом растворе, тимоген — в виде 0,01 % продажного раствора по 0,1 — 0,15 мл/кг, 7,5 % левамизол — по 0,1 — 0,15 мл/кг. Препараты вводили внутримышечно во внутреннюю сторону бедра трехкратно через каждые три дня. На 5, 10 и 15 сутки после последней инъекции препарата от всех норок отбирали кровь для цитологического, гематологического, биохимического и энзимо-цитохимического исследования. На 15 сутки опыта был повторно поставлен ИАТ и произведен убой 30 опытных животных (по 3 самца и 3 самки от каждой группы).

Количество эритроцитов, лейкоцитов, гематокрит определяли с помощью гематологического анализатора «ABACUS — Junior» (Австрия). Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) исследовали аппаратом Панченкова по общепринятой методике. Фиксированные метанолом мазки крови для подсчета лейкоформулы окрашивали азуром II — эозином (по Романовскому).

В мазках периферической крови, фиксированных в чистом метаноле или формалин-спиртовой смеси (Локтев Н. А., 2001), выявляли активность внутриклеточных лизосомальных катионных белков (КБ) по В. Е. Пигаревскому (1978) в модификации В. М. Сафронова с соавт. (1994), фермента миелопероксидазы (МПО) (К. Ф. 11117) цитоплазмы нейтрофильных гранулоцитов — по Грэхему — Кнолю. Активность кислой фосфатазы (КФ) (К. Ф. 3132) в лимфоцитах определяли по А. Гольдбергу и Т. Барка (1962) (Ягода А. В., Локтев Н. А., 2005).

Оценку цитохимических реакций и вычисление среднего цитохимического показателя (СЦП) проводили по L. Kaplow (1955).

При биохимическом исследовании сыворотки крови определяли количество общего белка рефрактометрическим методом. Соотношение белковых фракций исследовали турбидиметрическим (нефелометрическим) методом, рассчитывали альбумин-глобулиновый (А/Г) индекс. Липопroteиды низкой плотности ( $\beta$ -липопротеиды) определяли по методу Бурштейна в модификации Виноградовой, концентрацию глюкозы — ортотолуидиновым способом, сиаловые кислоты — по Гессу (Кондрахин И. П., 1985).

Состояние естественной резистентности у норок оценивали по следующим показателям: лизоцимную активность по методу Дорофейчука В. Г. (1968), фагоцитарную активность лейкоцитов и фагоцитарное число согласно методике О. Г. Алексеевой и А. П. Волковой (1966).

Титр антител сыворотки крови исследовали при помощи набора реагентов «ИФА-Бест-стрип» ЗАО «Вектор-Бест», методом радиальной иммунодиффузии по Манчини (1965) (Гутушвили Н. Н. и др., 2001).

Для цитологических, гистологических и гистохимических исследований отбирали материал из органов иммунной системы, — красного костного мозга, тимуса, селезенки и лимфатических узлов.

Костный мозг выщипывали из эпифизов бедренной кости и приготавливали мазки-отпечатки. После фиксации метанолом окрашивали гематоксилином и эозином, подсчитывали 500 клеток для выведения миелограммы с последующим вычислением костно-мозговых индексов (Карпуть И. М., 1986), для выявления РНК и ДНК окрашивали по Паппенгейму (Меркулов Г. А., 1969; Хейхоу Ф. Г., Квagliно Д. Д., 1983).

Кусочки органов фиксировали в 10 % нейтральном формалине и жидкости Карнуа с последующей заливкой в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм изготавливали по общепринятым методикам, окрашивали гематоксилином и эозином — для обзорных исследований, по Браше — для выявления количества и характера расположения плазматических клеток, по Шубичу — на тучные клетки, ставили ШИК-реакцию для выявления углеводсодержащих биополимеров (Лилин Р., 1969, Меркулов Г. А., 1969).

Морфометрические исследования проводили с помощью программы «Видео-ТесТ-Мастер 4.0». При этом определяли размеры структурных компонентов, количество и процентное содержание малых (м), средних (с) и больших (б) лимфоцитов различных зон тимуса, селезенки и лимфатических узлов.

Полученный цифровой материал обработан методами вариационной статистики на ПЭВМ с пакетом программ MS Office. Достоверность различий сравниваемых показателей оценивали по критерию Стьюдента на основании данных вариант распределения и равенства дисперсии ( $p < 0,05$ ).

## 2.2 Результаты исследований

### Оценка гематологических показателей пороков, больных вирусным плазмодитозом, после применения полиоксидония, тимогена и левamisола

Проанализировав данные гематологических исследований, необходимо отметить, что у пороков, больных вирусным плазмодитозом, наблюдается выраженный лейкоцитоз ( $10,5 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ ), увеличение процента гематокрита (65,9 %) и скорости оседания эритроцитов на 31 % ( $p < 0,05$ ). Выявили увеличение в 2,5 раза количества базофилов ( $0,54 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ ) и в 3–4 раза численности эозинофильных гранулоцитов ( $0,33 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ ). Не выявляются юные, на 78 % снижается количество палочкоядерных ( $0,19 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ) и в 2 раза увеличивается число сегментоядерных нейтрофилов ( $3,12 \pm 0,4 \times 10^9/\text{л}$ ), в 4 раза увеличивается число лимфоцитов ( $5,84 \pm 0,07 \times 10^9/\text{л}$ ) ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, у пороков при вирусном плазмодитозе наблюдается лейкоцитоз, который способствовал увеличению процента гематокрита. Повышение СОЭ, на наш взгляд, вызвано усилением плазмодитарной реакции. Выявлен лимфоцитоз, лейкограмма со сдвигом вправо, базофилия. Установленные изменения характерны для хронических аутоиммунных патологий вирусного происхождения (S. Brandt, D. Bodine et al., 1990).

На 15 сутки после введения порокам полиоксидония выявлено увеличение количества эритроцитов ( $8,6 \pm 0,2 \times 10^{12}/\text{л}$ ), снижение гематокрита ( $59,9 \pm 3,5$  %) и СОЭ ( $6,1 \pm 0,1$  мм/24 ч). На 83 % снизилось количество базофилов ( $0,11 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ), в 2 раза увеличилось число эозинофилов ( $0,44 \pm 0,05 \times 10^9/\text{л}$ ). Обнаружено до  $0,08 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$  юных и трехкратное увеличение количества палочкоядерных форм нейтрофилов ( $0,49 \pm 0,05 \times 10^9/\text{л}$ ). Численность моноцитов возросла в 4 раза ( $0,27 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$ ), количество лимфоцитов снизилось на 34,5 % ( $3,85 \pm 0,13 \times 10^9/\text{л}$ ) ( $p < 0,05$ ).

Во 2 группе животных установили увеличение количества эритроцитов ( $9,25 \pm 0,2 \times 10^{12}/л$ ), снижение числа лейкоцитов ( $8,91 \pm 0,5 \times 10^9/л$ ), гематокрита ( $61,1 \pm 1,2 \%$ ) и СОЭ на 11 % Зафиксировали снижение количества базофилов на 73 % ( $0,18 \pm 0,05 \times 10^9/л$ ), установлено двукратное увеличение числа эозинофилов ( $0,47 \pm 0,06 \times 10^9/л$ ) и появление юных форм нейтрофилов ( $0,22 \pm 0,05 \times 10^9/л$ ) Число моноцитов возросло в 2 раза ( $0,18 \pm 0,01 \times 10^9/л$ ) Количество лимфоцитов снизилось на 22 % ( $4,66 \pm 0,17 \times 10^9/л$ ) ( $p < 0,05$ )

В группе норок, инъецированных левамизолом, установлено увеличение лейкоцитоза ( $14,2 \pm 0,2 \times 10^9/л$ ) и гематокрита ( $75,7 \pm 3,1$ ) в первый период исследования, с последующим снижением до уровня контрольных норок К концу эксперимента зафиксировано достоверное четырехкратное повышение числа эозинофилов и увеличение палочкоядерных нейтрофилов в 2 раза ( $0,31 \pm 0,01 \times 10^9/л$ ) ( $p < 0,05$ )

Таким образом, после введения большим норкам полиоксидония и тимогена выявлено снижение числа лейкоцитов, гематокрита По нашему мнению, снижение СОЭ связано с возможным уменьшением продукции плазмочитами антител, которые входят в состав иммунных комплексов, преимущественно транспортирующихся на эритроцитах (Абелев Г И , 1996) Уменьшилось число лимфоцитов, выявляются юные формы нейтрофилов, что индуцировано активацией гранулоцитоза, увеличилось количество эозинофилов крови, что мы связываем с важнейшей способностью этих клеток фагировать иммунные комплексы (Апросина З Г , 1995) Снижение числа базофилов является важнейшим показателем относительно прогнозирования заболевания

На 5 сутки у животных 3 группы установлено усиление лейкоцитоза и увеличение процента гематокрита Последнее мы связываем с увеличением числа форменных элементов белой крови и соответственно уменьшению жидкой части плазмы (Карпуть И М , 1986) Такое явление может провоцировать усиление гиповолемического состояния, и, как следствие, вязкости крови, что в свою очередь может инициировать тромбозы и кровоизлияния (Кондрахин И П и др , 1985) По нашему мнению, повышение СОЭ вызвано увеличением количества плазматических клеток, следовательно, и иммуноглобулинов, тем самым, усиливая интенсивность аутоиммунных процессов, происходящих в больном организме

#### **Показатели ферментативной активности исследуемых лейкоцитов крови после применения полиоксидония, тимогена и левамизола**

Из проведенных цитохимических исследований следует, что у больных АБ норок активность КБ на 40,5 % ( $0,75 \pm 0,09$  у е ) ниже, чем у ИФА-негативных ( $1,26 \pm 0,08$  у е ) Активность миелопероксидазы у ИФА-позитивных норок снижена на 41,3 %, составив при этом  $0,64 \pm 0,06$  ( $p < 0,05$ )

К 5 суткам опыта, в группе, где применяли полиоксидоний, СЦП лизосомальных КБ в нейтрофильных гранулоцитах увеличился на 24 % ( $0,99 \pm 0,03$  у е ), а активность миелопероксидазы стала выше на 45,3 % ( $1,17 \pm 0,044$  у е ), по сравнению с СЦП больных норок, не получавших препаратов Во 2 группе



опытных животных в этот период исследования достоверных изменений не выявлено, однако СЦП КБ и МПО в среднем были выше данных у норок контрольной группы У животных, которым применяли левамизол, выявлено увеличение СЦП МПО на 13,5 % ( $0,74 \pm 0,02$  у е ) ( $p < 0,05$ )

На 10 сутки эксперимента у норок 1 опытной группы СЦП КБ достоверно увеличился в сравнении с контрольной группой на 35 % ( $1,15 \pm 0,067$  у е ) Показатель активности фермента пероксидаза повысился на 39,6 % ( $1,06 \pm 0,072$  у е ) Во 2 группе выявлено увеличение активности катионных белков, так СЦП увеличился на 14 % ( $0,87 \pm 0,035$  у е ) В группе норок, инъецированных левамизолом, в данный период исследования достоверных изменений не выявлено ( $p < 0,05$ )

К 15 суткам опыта в 1 группе норок полиоксидонии инициировал увеличение СЦП КБ на 28 % ( $1,04 \pm 0,07$  у е ) СЦП МПО также оказался выше на 19 % ( $0,79 \pm 0,05$  у е ) при сравнении с показателями ИФА-позитивных норок В группе норок, инъецированных тимогеном, достоверных изменений не выявлено В 3 экспериментальной группе к концу опыта зафиксировано достоверное снижение СЦП КБ и МПО на 13,3 % ( $0,65 \pm 0,04$  у е ) и 14 % ( $0,55 \pm 0,04$  у е ), соответственно ( $p < 0,05$ )

При определении активности кислой фосфатазы в лимфоцитах ИФА-негативных (здоровых) и ИФА-позитивных (контроль) на АБ норок выявлено, что у здоровых норок в мазках крови выявлялось  $74,6 \pm 4,05$  % лимфоцитов, содержащих КФ, против  $40,4 \pm 0,8$  %, в среднем, у животных контрольной группы ( $p < 0,05$ )

На 5 сутки после иммуномодуляции в опытных группах 1, 2 и 3 выявлялось в среднем до  $50,6 \pm 2,9$  %,  $62,0 \pm 4,1$  и  $41,3 \pm 2,4$  % лимфоцитов, содержащих КФ ( $p < 0,05$ )

На 10 сутки в группах ИФА-позитивных норок, где применяли полиоксидоний, тимоген и левамизол, КФ выявлялась у  $56,0 \pm 3$  %,  $64,3 \pm 5,2$  % и  $34,6 \pm 4$  % лимфоцитов, соответственно ( $p < 0,05$ )

На 15 сутки опыта в 1 группе экспериментальных животных выявлялось в среднем  $56,0 \pm 5,2$  %, во второй группе –  $60,6 \pm 4$  %, а в 3 группе норок –  $38,0 \pm 4$  % лимфоцитов, содержащих КФ ( $p < 0,05$ )

Результаты, полученные после воздействия на больных норок иммуномодуляторами, указывают на то, что выбранные препараты являются активными в отношении исследуемых цитоплазматических энзимов, – способны повышать бактерицидный потенциал фагоцитов, путем стимуляции образования внутриклеточных кислородных метаболитов и антинфекционных белков (Ягода А В , Локтев Н А , 2005, Pauksen K , Efman L et al , 1994) Наиболее положительные результаты получены в группе с применением полиоксидония Так, в среднем, по всем периодам исследования в группе норок, инъецированных полиоксидонием, СЦП КБ на 19,6 % и СЦП МПО на 29,4 % были выше, чем в группе норок с применением тимогена, а также на 26,3 % и 29,1 %, соответственно, в сравнении с группой, получавших левамизол

Необходимо отметить, в группе норок, инъецированных левамизолом, СЦП КБ и МПО к концу опыта оказались даже ниже, чем у ИФА-позитивных

Ряд авторов (Агеев А К , 1976, Catovsky D , Galetto J , 1974) относят кислую фосфатазу к ферментным маркерам Т-лимфоцитов Анализируя ре-

зультаты исследования по выявлению фермента кислая фосфатаза в лимфоцитах, можно предположить, что у норок контрольной группы при алеутской болезни наблюдается дефицит Т-лимфоцитов в крови

После применения иммунных препаратов больше всего лимфоцитов, содержащих кислую фосфатазу, выявлено в группе норок, которым применяли тимоген

### **Биохимические показатели сыворотки крови норок после применения полиоксидония, тимогена и левамизола**

Сравнивая результаты биохимических исследований сыворотки крови здоровых и больных животных, можно сказать о снижении у ИФА-позитивных норок глюкозы почти на 42 % и увеличении концентрации  $\beta$ -липопротеидов в 4,5 раза ( $p < 0,05$ )

К концу опыта в I группе норок мы наблюдали достоверное увеличение концентрации глюкозы на 50 % ( $6,3 \pm 0,1$  ммоль/л). Установлено снижение уровня ЛПНП на 52 % ( $313,8 \pm 3,4$  мг%) ( $p < 0,05$ )

В группе норок, инъецированных тимогеном, выявлено повышение уровня гликемии на 28,5 % ( $5,4 \pm 0,1$  ммоль/л). У животных, подвергшихся лечению левамизолом, исследуемые показатели варьировали не достоверно ( $p < 0,05$ )

У больных АБ норок установлено 15 % увеличение концентрации общего белка и повышение уровня глобулинов, преимущественно, за счет  $\gamma$ -глобулинов ( $p < 0,05$ )

На 15 сутки опыта в I группе норок установлено снижение уровня общего белка на 9 % ( $88,7 \pm 0,98$  г/л), зафиксировано увеличение доли альбуминов до  $46,1 \pm 0,18$  г/л. Установлено снижение концентрации  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулинов на 12 % ( $11,4 \pm 0,18$  г/л), 7 % ( $12,5 \pm 0,19$  г/л) и 31 % ( $16,4 \pm 0,16$  г/л) соответственно. А/Г индекс составил  $1,14 \pm 0,01$  у е ( $p < 0,05$ )

В группе норок, получавших тимоген, уровень общего белка составил  $90,2 \pm 0,76$  г/л, выявлено увеличение доли альбуминов до  $46,7 \pm 0,83$  г/л. Зафиксировано достоверное снижение концентрации  $\alpha$ - и  $\gamma$ -глобулинов на 8 % ( $12,0 \pm 0,1$  г/л) и 23 % ( $18,3 \pm 0,54$  г/л), соответственно. А/Г индекс составил  $1,06 \pm 0,06$  у е ( $p < 0,05$ )

В 3 опытной группе выявлено резкое снижение концентрации общего белка на 18 % ( $77,4 \pm 1,79$  г/л) и доли альбуминов на 15 % ( $37,9 \pm 0,15$  г/л). Установлено достоверное снижение концентрации  $\alpha$ - и  $\gamma$ -глобулинов на 11 % ( $11,6 \pm 0,1$  г/л) и 34 % ( $15,6 \pm 0,38$  г/л), соответственно. А/Г индекс составил  $0,95 \pm 0,01$  у е ( $p < 0,05$ )

Таким образом, анализируя результаты биохимического исследования сыворотки крови ИФА-позитивных и ИФА-негативных на АБ норок, можно предположить, что гипогликемия у больных норок приведет к истощению энергетических резервов, усилению катаболических процессов, гипоксии структур важнейших систем организма, внутриклеточной гипергидратации (Ленинджер А, 1974)

Увеличение уровня  $\beta$ -липопротеидов, предположительно, вызвано токсическим поражением печени (Васильева Г И, 2000 и др.) В свою очередь,

ЛПНП инициируют патологическую трансформацию макрофагов, что может приводить к ангиопатиям и апоптозу клеток (Абрикосов А И, Анничков Н Н, 1940, Нагорнев В А, Анестиади В Х и др, 2001, Нагорнев В А, Мальцева С В и др, 2003)

У больных плазмочитозом норок выявлено увеличение содержания общего белка за счет характерного увеличения гамма-глобулинов, имеет место дис- и парапротеинемия

Одним из важнейших показателей положительного действия иммунотерапии является повышение уровня глюкозы и снижение концентрации липопротеинов низкой плотности в сыворотке крови. Так, к концу опыта уровень глюкозы в группе животных с применением полиоксидония был выше на 16,6 % в сравнении с животными 2 группы и на 45,8 % по отношению к норкам, инъецированным левамизолом.

Снижение общего белка в испытуемых группах произошло за счет уменьшения фракции  $\gamma$ -глобулинов и пропорционального увеличения альбуминов, которые являются пластическим материалом.

Необходимо отметить, что в группе норок с применением левамизола, к концу опыта произошло резкое снижение уровня общего белка. Можно предположить, что это вызвано нарушением белково-образующей функции печени или вероятным обострением патологических процессов в пораженных почках (Адо А Д, Владимиров Ю А, 2002).

#### **Показатели общей резистентности норок после применения полиоксидония, тимогена и левамизола**

При определении статуса естественной резистентности здоровых и ИФА-позитивных норок следует отметить, что в контрольной группе животных наблюдается снижение фагоцитарной активности (ФА) более, чем в 2 раза ( $22,06 \pm 1,12$  %). Выявлено уменьшение фагоцитарного числа (ФЧ) на 46,3 % ( $1,14 \pm 0,02$  у е). Лизоцимная активность варьировала недостоверно. Выявлено двукратное увеличение уровня сиаловых кислот (СК). Установлено снижение титров практически всех антител за исключением IgM, который был на 63 % выше ( $2,91 \pm 0,05$  ммоль/л), чем у ИФА-негативных ( $p < 0,05$ ).

Очевидно, что у норок, больных вирусным плазмочитозом имеет место снижение фагоцитарного числа за счет уменьшения активности фагоцитов. Вместе с результатами по определению энзимной активности установлено ослабление потенциала бактерицидной системы нейтрофилов.

Установлено существенное увеличение уровня сиаловых кислот у больных животных, что, вероятно, связано с повышенной гибелью собственных клеток и тканей организма (Broll S et al, 1996), а также увеличением уровня IgM, который содержит в 10 раз больше мурамовой кислоты, чем все классы иммуноглобулинов. Ряд авторов указывают на роль сиаловых кислот в усилении иммунологических реакций. При осложненных формах заболеваний, преимущественно вирусной этиологии, наблюдается трехкратное увеличение уровня свободных сиаловых кислот (Барсуков А К, Иванов В Г, 2002). У положительно реагирующих норок концентрация IgM почти на 40 % выше, чем у здоровых. По нашему мнению, это обусловлено тем, что по мере снижения продукции IgG и уменьшения его титра, резко возрастает

синтез малоспецифичных IgM, который регулируется только уровнем соответствующего ему по специфичности IgG. Снижение концентрации IgG у норок мы связываем с тем, что этот класс иммуноглобулинов вырабатывается лишь при обязательном участии Т-лимфоцитов (Караулов А. В., 2002, Дранник Г. Н., 2003, Галактионов В. Г., 2005), которых, как показали исследования, наблюдается дефицит, что в какой-то степени обуславливает патогенез заболевания.

После применения полиоксидония и тимогена у норок на 15 сутки эксперимента выявлялись высокие фагоцитарные показатели. Так, в 1 и 2 группе ФА составила  $34 \pm 1,08 \%$  и  $26,2 \pm 1,25 \%$ , соответственно, фагоцитарное число к концу опыта выявлялось достоверно повышенным только у норок, получавших полиоксидоний (на  $14 \%$  –  $1,27 \pm 0,04$  у е) ( $p < 0,05$ ).

С 5 по 15 сутки после иммунотерапии полиоксидонием концентрация IgA увеличилась на  $48,1 \%$ , IgG на  $30 \%$ , в сравнении с данными контроля. Вместе с тем снизился уровень IgM на  $29,4 \%$ . Наиболее активно моделировались титры Ig во 2 группе. Так, у норок, инъецированных тимогеном, с 5 по 15 сутки опыта концентрация IgA возросла до  $0,656 \pm 0,002$ , увеличившись при этом почти в 3 раза. Уровень IgG повысился в 4 раза, составив при этом  $1,28 \pm 0,03$  мг/мл, концентрация IgM снизилась на  $8,8 \%$ . В группе применения левамизола значительных изменений не произошло.

Полученные результаты указывают на то, что после иммуномодуляции в начале опыта установлено достоверное увеличение концентрации СК во всех экспериментальных группах, что, на наш взгляд, можно объяснить усилением фагоцитарной активности микро- и макрофагов, увеличением числа иммуноглобулинов и возможной десалинизацией вирусной оболочки (Кропоткина Е. А. и др., 1998). Однако снижение уровня СК было установлено преимущественно в группе норок, инъецированных полиоксидонием, что, по нашему мнению, связано с детоксикационной, корректирующей и мембрано-стабилизирующей способностью препарата (Петров Р. В., Хаитов Р. М., Некрасов А. В., 1999).

При определении титров иммуноглобулинов установлено, что в группе норок, инъецированных тимогеном, выявлен самый высокий уровень нормализации исследуемых показателей.

#### **Цитологические и цитохимические показатели красного костного мозга норок после применения полиоксидония, тимогена и левамизола**

При подсчете миелограммы выявлено, что у больных норок увеличивается численность клеток лимфатического ствола, – бластных форм на  $54,4 \%$  ( $43,7 \pm 4,8$  кл.), лимфоцитов на  $32,2 \%$  ( $107,8 \pm 10,1$  кл.), плазматических в 5 раз ( $45 \pm 3,61$  кл.). Выявлялись так называемые «пламенеющие» вакуолизируемые плазматиче- скости. На  $37,4 \%$  снижено количество нейтрофильных лейкоцитов ( $71,4 \pm 8,9$  кл.), причем представлены они, преимущественно, бластными формами. На это также указывает и увеличение индекса созревания нейтрофилов ( $0,87 \pm 0,07$  у е). Выявлено увеличение лейко-эритробластического (Л/Э) индекса на  $47 \%$  ( $2,54 \pm 1$  у е) ( $p < 0,05$ ).

Аналогичная тенденция наблюдалась и в мегакариоцитарном ряду, где преимущественно встречались гигантские формы ( $10,6 \pm 0,5$  кл.). Пропорционально

снижению числа моноцитов ( $13 \pm 1,11$  кл) в контрольной группе опытных животных в 2 раза увеличилась доля макрофагов костного мозга ( $13,2 \pm 1,8$  кл) ( $p < 0,05$ )

При окраске мазков-отпечатков пиронином G и метиловым зеленым по Паппенгейму в контрольной группе норок резкая пиронинофилия выявлялась в клетках лимфатического и базофильного ствола. Нейтрофильный и эозинофильный ряды клеток окрашивались преимущественно равномерно.

В группе норок, подвергшихся лечению полиоксидонием, наблюдалось увеличение на 36 % юных ( $46,2 \pm 3,7$  кл) и на 48 % сегментоядерных форм нейтрофилов ( $19,1 \pm 1,6$  кл). Установили двукратное увеличение бластных эозинофилов ( $28,3 \pm 2,3$  кл), отмечали 74 % снижение численности юных ( $3,1 \pm 0,63$  кл) и двукратное увеличение зрелых форм базофилов ( $10,6 \pm 1,8$  кл). Зафиксировали снижение количества плазматических клеток на 41 % ( $45 \pm 3,61$  кл), что способствовало уменьшению доли лимфатического пула клеток на 19 % ( $158,2 \pm 11,9$  кл). Также определили 54 % снижение количества мегакариоцитов ( $5,7 \pm 0,78$  кл) и увеличение индекса созревания эозинофилов в 2,5 раза ( $1,49 \pm 0,07$  у е). Л/Э индекс составил  $2,24 \pm 1$  ( $p < 0,05$ ).

В миелограмме норок 2 опытной группы выявили уменьшение на 54 % бластных ( $14,6 \pm 1,1$  кл) и увеличение в 5 раз сегментоядерных форм ( $61,1 \pm 5,9$  кл) нейтрофилов, что инициировало увеличение нейтрофильного ростка клеток на 33 % ( $94,7 \pm 8,1$  кл). Выявлено уменьшение палочкоядерных на 80 % ( $3,5 \pm 0,9$  кл) и увеличение в 7 раз ( $31,7 \pm 3,6$  кл) сегментоядерных форм эозинофилов. На 32 % снизилось количество незрелых базофилов ( $8,1 \pm 0,5$  кл). Выявили уменьшение слабо дифференцированных лимфоцитов на 65 % ( $14,9 \pm 5,1$  кл) и 23 % ( $34,4 \pm 4,5$ ) снижение числа плазматических клеток. Установлено уменьшение количества клеток лимфоцитарной формации на 20 % ( $157,1 \pm 12,3$  кл) ( $p < 0,05$ ). До  $7,8 \pm 0,8$  кл увеличилось количество ретикулоцитов, снизилась численность мегакариоцитов на 40 % ( $6,3 \pm 0,3$  кл). Установили снижение индексов созревания нейтрофилов и эозинофилов на 79 % ( $0,18 \pm 0,02$  у е) и 56 % ( $0,26 \pm 0,015$  у е), соответственно. Л/Э индекс составил  $2,21 \pm 1$  ( $p < 0,05$ ).

После иммунотерапии левamisолом в миелограмме опытных животных выявили снижение числа палочкоядерных на 39 % ( $14,5 \pm 2,5$  кл) и увеличение сегментоядерных нейтрофилов на 56 % ( $20,1 \pm 1,7$  кл). В 7 раз увеличилось количество зрелых эозинофилов ( $32,1 \pm 3,2$  кл), на 72 % увеличилось количество клеток базофильного пула ( $29,8 \pm 1,2$  кл). Установлено трехкратное увеличение численности ретикулярных клеток ( $11,3 \pm 3$  кл) и снижение индекса созревания эозинофилов на 31 % ( $0,19 \pm 0,045$  кл). Л/Э индекс составил  $2,8 \pm 1$  ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, после иммунотерапии в группе животных, стимулированных полиоксидонием, заметно увеличилось количество пиронинофильных клеток нейтрофильного, эозинофильного, моноцитарного и эритроидного пула. Большинство базофилов проявляли ДНК-активность. Снизилась пиронинофилия в клетках лимфоцитарного ростка.

При окраске пиронином G и метиловым зеленым костного мозга норок 2 группы установили уменьшение пиронинофилии клеток одновременно с увеличением количества зрелых форм нейтрофилов и эозинофилов. Из лимфоцитарного ростка пиронинофилию закономерно проявляли бластные формы плазмочитов и лимфоцитов. Усиление окраски пиронином наблюда-

ли в клетках эритроидного ряда. Базофильная формация в основе своей окрашивалась равномерно.

Окраской по Паппенгейму мазков-отпечатков костного мозга норок 3 опытной группы значительных изменений не выявлено, однако установлено усиление пиронинофилии клетками лимфоцитарной формации.

### **Патогистологические, гистохимические и морфометрические показатели тимуса норок после применения иммуномодуляторов**

При микроскопии выявили, что у норок контрольной группы дольки тимуса располагались в виде четко ограниченных участков, междольковые перегородки содержали большое количество жировых клеток. Следует отметить, что наблюдалась слабая дифференцировка коркового и мозгового вещества, в некоторых дольках корковое вещество не дифференцировалось, но имела зона размножения.

В мозговом плато обнаружили застойную гиперемию, периваскулярный отек, стенки некоторых сосудов утолщены, местами разволокнены. Вокруг мелких и крупных сосудов наблюдали скопление ШИК-положительных плазмочитов, макрофагов и пенистых клеток. Тельца Гассала выявлялись в единичных случаях. Большей частью в мозговом веществе наблюдали увеличение количества преимущественно дегранулированных тучных клеток.

Большинство лимфоцитов коркового и мозгового плато находилось на разных стадиях некроза (кариопикноз, кариорексис, кариолизис), они имели нехарактерную треугольную, квадратную и прямоугольную форму. Из-за слабой конденсации хроматина большая доля лимфоцитов окрашивалась менее интенсивно.

Выявили увеличение количества плазмочитов, которые в корковом веществе располагались в несколько рядов вокруг сосудов, в мозговом плато, главным образом, — в виде небольших очагов.

Обнаружили снижение толщины коркового ( $139,58 \pm 3,15$  мкм) и мозгового ( $229,1 \pm 5,5$  мкм) слоев ( $p < 0,05$ ).

Установили снижение общего количества лимфоцитов в корковом веществе на 63 % ( $158,5 \pm 5,5$  кл.), в мозговом на 59 % ( $68,4 \pm 4,3$  кл.).

Корковое и мозговое вещество тимуса контрольной группы норок представляли, преимущественно, малые и средние лимфоциты. Выявлялось значительное количество плазматических клеток как в корковом ( $13,0 \pm 0,8$ ), так и в мозговом ( $8,1 \pm 0,6$ ) плато ( $p < 0,05$ ).

После иммуномодуляции в группах, где применяли полиоксидоний и тимоген, в большинстве сосудов наблюдали пролиферацию эндотелия интимы и миоцитов мышечной оболочки. Лимфоциты располагались плотно столбиками и рядами, приобретали округлую форму и более четко окрашенное ядро. Снизилась численность тучных клеток.

У норок, инъецированных левамизолом, наблюдали усиление периваскулярного отека, внутрисосудистый гемолиз эритроцитов.

В 1 и 2 группах опытных животных выявили увеличение толщины коркового ( $478,82 \pm 8,8$  мкм и  $33,14 \pm 11,8$  мкм) и мозгового ( $599 \pm 10,7$  мкм и  $917,5 \pm 3,4$  мкм) слоев тимуса. В 3 группе норок в 2 раза увеличилась толщина коркового ( $395,5 \pm 10,0$  мкм) и в 3 раза мозгового ( $600,5 \pm 9,2$  мкм) вещества ( $p < 0,05$ ).

Число лимфоцитов в 1, 2 и 3 группах опытных животных составляло  $176,3 \pm 5,2$ ,  $188,6 \pm 9,4$  и  $61,1 \pm 4,0$  клеток в корковом и  $83,6 \pm 4,1$ ,  $99,4 \pm 11,1$  и  $52,0 \pm 5,7$  в мозговом веществе соответственно. В значительной мере изменился процентный состав малых, средних и больших лимфоцитов. Так, в корковом веществе тимуса норок 1 группы процент определяемых классов лимфоцитов составлял: малых (м) –  $69,6 \pm 2,6$  %, средних (с) –  $23,71 \pm 2,8$  %, больших (б) –  $6,67 \pm 1,4$  %, во 2 группе – (м) –  $94,4 \pm 1,05$  %, (с) –  $3,96 \pm 0,9$  %, (б) –  $1,5 \pm 0,4$  %, в 3 группе – (м) –  $59,05 \pm 4,8$  %, (с) –  $25,6 \pm 4,7$  %, (б) –  $15,3 \pm 1,2$  %. В мозговом веществе тимуса опытных животных наблюдалась иная картина. Так, у норок 1 группы (м) лимфоцитов выявлялось  $73,42 \pm 7,1$  %, (с) –  $18,8 \pm 6,2$  %, (б) –  $7,7 \pm 1,7$  %, во 2 экспериментальной группе – (м) –  $47,74 \pm 6,1$  %, (с) –  $41,9 \pm 4,9$  %, (б) –  $10,26 \pm 2,1$  %, у норок, получавших левамизол, – (м) –  $63,3 \pm 4,8$  %, (с) –  $28,9 \pm 4,5$  %, (б) –  $7,7 \pm 2,6$  % ( $p < 0,05$ ).

Достоверное снижение количества плазматических клеток выявлено только в корковом веществе тимуса 1 группы норок на 27 % ( $9,5 \pm 0,9$  кл.), в других экспериментальных группах данный показатель изменился незначительно.

Таким образом, гистологически у норок при вирусном плазматозе установлена патологическая инволюция тимуса с уменьшением количества телец Гассалья, изменяется морфология лимфоцитов. Наблюдается лимфоидно-плазматическая инфильтрация органа, пропитывание стенки сосудов пенистыми клетками, скопление ШИК-положительных крупноклеточных инфильтратов. Выявлено увеличение преимущественно дегранулированных тучных клеток.

После иммуностимуляции у норок 1 и 2 групп значительно снизилась степень выраженности патологических процессов. Во многих сосудах выявлена пролиферация эндотелия, граница коркового и мозгового вещества в долях выражена. Количество лимфоцитов увеличилось преимущественно за счет малых форм.

В группе норок, инъецированных левамизолом, в тимусе выражены застойные явления, снизилось количество лимфоцитов.

### **Патогистологические, гистохимические и морфометрические показатели селезенки норок после применения иммуномодуляторов**

При макроскопическом исследовании селезенки отмечали ее уплотнение, капсула органа напряжена, цвет от красно-вишневого до красно-коричневого с четко выраженными шарообразными желто-серыми фолликулами. При разрезе наблюдалось выбухание паренхимы за пределы капсулы, пульпа темно-вишневого цвета, соскоб обильный.

При микроскопическом исследовании выявили плазматическое пропитывание, разволокнение и некроз стенки сосудов красной пульпы. В отдельных сосудах микроциркуляторного русла кровь часто находилась в состоянии гемолиза. Просвет некоторых артерий и вен заполнен бледно-розовой жидкостью. Вокруг сосудов и трабекул выявляли расположенные в несколько рядов крупные резко ШИК-позитивные макрофаги, плазматиты, а также пиронинофильные мегакарициты, ксантомные клетки и эозинофилы. Выявлено увеличение количества и дегрануляции тучных клеток.

Фолликулы округлой формы увеличены в размере, в них четко просматривались расширенный светлый центр и краевая зона. Средний размер фолликула в контрольной группе норок составлял  $210945,61 \pm 22717$  мкм<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ )

Выявлено резкое увеличение, по сравнению с группой здоровых норок, количества лимфоцитов, — в красной пульпе  $82,5 \pm 3,2$  клеток, в краевой зоне на 40 % ( $103,4 \pm 5,9$ ) и светлом центре фолликула в 2 раза ( $90,4 \pm 6,6$ ), представленных, преимущественно, средними лимфоцитами ( $p < 0,05$ )

Установлено достоверное увеличение количества плазматических клеток по сравнению с группой ИФА-негативные, — в красной пульпе  $34,4 \pm 1,4$  клетки, в краевой зоне и реактивном центре фолликула  $21,1 \pm 0,8$  и  $21,7 \pm 1,1$  клеток, соответственно ( $p < 0,05$ )

После иммунотерапии полиоксидонием и тимогеном произошло снижение кровенаполнения селезенки, края разреза сходятся, уменьшилось количество тучных клеток

В опытных группах 1 и 2 зафиксировали достоверное уменьшение площади фолликулов до  $132712,2 \pm 9836$  мкм<sup>2</sup> и  $104154,1 \pm 9116,4$  мкм<sup>2</sup>, соответственно. После стимуляции левамизолом средний размер площади фолликулов практически не изменился ( $176856,8 \pm 6843$  мкм<sup>2</sup>) ( $p < 0,05$ )

В красной пульпе селезенки норок, инъецированных полиоксидонием и тимогеном, выявлено снижение количества лимфоцитов на 56 % ( $36,5 \pm 1,7$ ) и 45 % ( $45,3 \pm 1,9$ ), соответственно. Установлено снижение лимфоцитов и в белой пульпе селезенке. Так, у норок 1 и 2 опытных групп в краевой зоне и светлом центре выявляли  $84,2 \pm 4,6$ ,  $57,3 \pm 3,5$  и  $83,8 \pm 3,7$ ,  $47,2 \pm 3,5$  клеток, соответственно. У норок, инъецированных левамизолом, определили резкое уменьшение количества лимфоцитов в фолликуле, — в краевой зоне  $47,7 \pm 3,5$ , в светлом центре  $30,4 \pm 2,5$  клеток, что ниже, чем у норок ИФА-негативной группы ( $p < 0,05$ )

В группе норок, подвергшихся лечению полиоксидонием, в краевой зоне фолликула селезенки преобладали малые лимфоциты ( $61,2 \pm 1,7$  %), установили снижение процента средних ( $30,9 \pm 2,6$  %) и больших форм ( $7,8 \pm 2,0$  %), в светлом центре популяционный состав лимфоцитов остался без изменений. Во 2 группе выявлено увеличение процента малых лимфоцитов в краевой зоне ( $54,5 \pm 4,6$  %) и увеличение больших форм в светлом центре ( $23,5 \pm 6,5$  %) фолликула. В белой пульпе селезенки норок, инъецированных левамизолом, обнаружено достоверное увеличение больших лимфоцитов в светлом центре ( $37,8 \pm 6,5$  %) ( $p < 0,05$ )

Выявлено снижение количества плазматических клеток. Так, в красной пульпе селезенки норок, получавших полиоксидоний и тимоген, насчитывалось  $17,7 \pm 1,1$  и  $19,6 \pm 0,9$  клеток, в краевой зоне фолликулов —  $16,7 \pm 0,6$  и  $18,3 \pm 0,7$ , соответственно. Численность плазмочитов светлого центра достоверно снизилась только в группе норок после применения полиоксидония. В 3 опытной группе достоверных изменений не зафиксировано, однако число плазмочитов незначительно превышало таковой у норок контрольной группы ( $p < 0,05$ )

Таким образом, под влиянием полиоксидония и тимогена эндотелий многих сосудов находится в состоянии пролиферации, сужаются просветы и насыщенность их стенок иммунокомпетентными клетками, популяцион-



ный состав фолликула становится более однородным, наблюдается ослабление лимфо-пролиферативной активности. Границы макрофагально-лимфоидных муфт становятся более выраженными за счет накопления в них малых лимфоцитов. Замедленно уменьшается количество сидерофагов и плазмочитов, снижается численность и доля клеточных кооперации. Среднее содержание лимфоцитов в исследуемых тканях уменьшилось. Преимущественно в красной пульпе находили крупные многоядерные клетки, многие из которых фагировали лимфоциты, плазматические и ксантомные клетки, уменьшается площадь фолликулов и количество лимфоцитов в фолликулах и красной пульпе.

У некоторых норок, получавших левамизол, интенсивность патологических процессов осталась на прежнем уровне, а у ряда зверей выявлялось прогрессирование васкулопатии, отеков, пролиферации пиронинофильных клеток, увеличение количества мегакариоцитов, эозинофилов и сидерофагов. В белой пульпе обнаружено резкое уменьшение количества лимфоцитов. Левамизол вызвал увеличение инфильтрации плазмочитами тканей селезенки, выявлялось большее количество ШИК-положительных депозитивов иммунных комплексов.

#### **Патогистологические, гистохимические и морфометрические показатели лимфатических узлов норок после применения иммуномодуляторов**

При макроскопическом исследовании лимфатических узлов опытных и контрольной групп выявлено, что наиболее интенсивным патологическим изменениям подвергаются лимфатические узлы внутренних органов.

Лимфатические узлы набухшие, цвет их варьировал от светло-серого до бледно-коричневого, при разрезе выделяется мутная серо-белая жидкость. Граница слоев сглажена.

При микроскопическом исследовании, в контрольной группе животных, выявлена гиперемия сосудов, периваскулярный отек, плазматическое пропитывание стенки. Обнаружено скопление вокруг сосудов пенистых тел и ШИК-позитивных макрофагов, плазмочитов. Наблюдалась стертость структуры лимфатических фолликулов, светлые центры расширены, не четко просматриваются мозговые тяжи и синусы. Хроматин ядер лимфоцитов фолликулов и мозгового вещества выявлялся в виде эксцентрично расположенных глыбок. Часть лимфоцитов, размножаясь в реактивном центре, устремляется в мозговое вещество.

Установлена плазмочитоклеточная инфильтрация тканей лимфатического узла. Так, в корковом веществе плазматические клетки обнаруживаются под краевым синусом в виде гроздей винограда, в мозговом располагаются диффузно и в несколько рядов вокруг сосудов. В краевой зоне фолликула плазмочиты выявляются разреженно, в центре узелка, преимущественно, в виде близко расположенных групп. Выявляли увеличение количества и дегрануляцию тучных клеток.

В контрольной группе норок средний размер фолликулов составлял  $197572,1 \pm 16083$  мкм<sup>2</sup>. Установлено увеличение количества лимфоцитов в краевой зоне на 62 % ( $133,7 \pm 4,5$  кл.), в светлом центре на 61 % ( $80,5 \pm 7,0$  кл.) в сравнении со здоровыми животными. Обнаружено уменьшение числа ма-

лых и двукратное увеличение больших лимфоцитов фолликула (в краевой зоне и светлом центре  $14,5 \pm 2,3$  % и  $33,2 \pm 4,3$  %, соответственно) ( $p < 0,05$ )

Установлено достоверное двукратное увеличение количества плазматических клеток в мозговом веществе ( $10,7 \pm 0,5$  кл.), в краевой зоне в 3,5 раза ( $17,2 \pm 0,4$  кл.) и в 4,5 раза в реактивном центре фолликула ( $33,7 \pm 1,1$  кл.) ( $p < 0,05$ )

После иммунотерапии в опытных группах 1 и 2 выявлены ослабление гиперемии лимфатических узлов, интенсивная пролиферация эндотелия сосудов. Произошло снижение численности макрофагально-лимфоцитарных кооперации. Заметно увеличилась плотность расположения лимфоцитов в краевой зоне фолликула. Форма и характерная окраска лимфоцитов стали наиболее четкими, особенно это выражено в группе норок, инъецированных тимогеном. Выявлялись участки тканей, в которых лимфоциты кооперируют с пеннистыми телами, и выражен фагоцитоз макрофагами плазматических и ксантомных клеток, уменьшилось количество тучных клеток.

У норок, получавших левамизол, некоторые фолликулы принимали нехарактерные формы в виде раздвоенных овалов, в некоторых лимфатических узлах наблюдалось обеднение узелков лимфоцитами, расширение светлого центра фолликула. Выявлялись периваскулярные отеки, деструктуризация сосудов, инфильтрация их стенки макрофагами, крупными лимфоцитами, плазматическими клетками. В корковом веществе плазматиты располагались группами и вихреобразно вокруг сосудов, в мозговой части преимущественно выявлялись диффузно.

В группах 1 и 2 зафиксировано достоверное уменьшение, в сравнении с контролем, площади фолликулов  $135451,2 \pm 4621$  мкм<sup>2</sup> и  $116571,2 \pm 9836$  мкм<sup>2</sup>, соответственно. В группе животных, инъецированных левамизолом, площадь фолликула осталась практически неизменной ( $188916,3 \pm 5172$  мкм<sup>2</sup>) ( $p < 0,05$ )

У норок, подвергшихся лечению полиоксидонием и тимогеном, обнаружено снижение количества лимфоцитов в краевой зоне фолликула, на 35 % ( $87,3 \pm 8,4$  кл.) и 39 % ( $81,8 \pm 3,7$  кл.), соответственно. В 3 группе выявлено резкое снижение лимфоцитов ниже, чем в группе ИФА-негативные на 24,5 % ( $62,2 \pm 4,4$  кл.) ( $p < 0,05$ )

В значительной мере изменился процентный состав малых, средних и больших лимфоцитов. Так, в фолликуле лимфатического узла норок 1 и 2 опытных групп увеличилось количество малых лимфоцитов, составив в краевой зоне  $58,2 \pm 3,6$  % и  $59,0 \pm 5,8$  %, в центре  $59,0 \pm 5,8$  % и  $52,7 \pm 5,8$  %, соответственно. В группе норок, инъецированных левамизолом, зафиксировано уменьшение числа малых ( $19,7 \pm 2,6$  %) и увеличение больших ( $33,2 \pm 5,2$  %) лимфоцитов в краевой зоне фолликула ( $p < 0,05$ )

В группах норок, подвергшихся иммунотерапии полиоксидонием и тимогеном, установили достоверное снижение, в сравнении с контролем, количества плазматических клеток в светлом центре фолликула на 72 % ( $9,3 \pm 0,7$  кл.) и 61 % ( $13,0 \pm 0,7$  кл.), соответственно. В группе норок, инъецированных левамизолом, подобных изменений не выявлено ( $p < 0,05$ )

Таким образом, у норок контрольной группы выявлено нарушение гемодинамики и архитектоники лимфатических узлов, гиперплазия фолликулов и серозный лимфаденит. Обнаружена пролиферация и изменение струк-

туры лимфоцитов, плазмодитоклеговая инфильтрация, увеличение количества и дегрануляция тучных клеток. Выявлено насыщение лимфатических узлов большими лимфоцитами.

После применения полиоксидония и тимогена выявлено уменьшение степени выраженности периваскулярных отеков, морфологическая нормализация микроструктуры лимфатических узлов и лимфоцитов. Снижение напряженности аутоиммунных процессов, — уменьшение числа межклеточных кооперации, патологических макрофагальных трансформаций, количества тучных клеток.

После применения левамизола в тканях некоторых лимфатических узлов выявили усиление деструктуризации и пропитывания сосудистых стенок плазмодитами и пенстыми телами. Выявили насыщение лимфатических фолликулов большими лимфоцитами и снижение количества лимфоцитов в краевой зоне.

При патогистологическом и гистохимическом исследовании иммунных органов у норки контрольной группы имеет место выраженная акцидентальная инволюция вилочковой железы, увеличение лимфатических узлов и спленомегалия, гиперплазия фолликулов. Рисунок строения органов сглажен.

Можно предположить о снижении гормонообразующей функции тимуса в связи с уменьшением количества телец Гассали, наблюдается характерная для данной патологии плазмодитарная инфильтрация, периваскулярные отеки, гомогенизация, некроз стенок многих сосудов, пропитывание стенки сосудов пенстыми клетками, скопление ШИК-положительных крупноклеточных инфильтратов. Установили увеличение в тканях селезенки количества мегакариоцитов, эозинофилов и макрофагов. Выявлено увеличение числа и дегрануляция тучных клеток. Особый интерес представляют данные об участии гранул тучных клеток в переносе липопротеидов низкой плотности в макрофаги, индуцируя их трансформацию в пенстые ксантомные клетки, играющие важную роль в ангиопатиях различного происхождения (Жданов В. С., Дробкова И. П., Чумаченко П. В., 2006).

После применения полиоксидония и тимогена значительно снизилась выраженность патологических процессов, структуры органов становятся более четкими, наблюдается ослабление лимфо-пролиферативной активности клеток. Выявлено умеренное напочнение кровью иммунных органов. Наблюдается регенерация эндотелия сосудов. Популяционный состав лимфоцитов становится более однородным, снижаются просветы и насыщенность стенок сосудов иммунокомпетентными клетками. В селезенке становятся более выраженными границы макрофагально-лимфоидных муфт за счет накопления в них малых лимфоцитов, уменьшается количество лимфоцитов в красной пульпе. Выявляются крупные многоядерные фагоциты, фагирующие плазматические, пенстые клетки и, вероятно, инфицированные вирусом макрофаги и лимфоциты. Предположительно появление так называемых цитотоксических лимфоцитов, кооперирующих с макрофагами и ксантомными клетками. Заметно уменьшается количество сидерофагов и плазмодитов, снижается численность и доля кооперации иммунокомпетентных клеток.

У некоторых норок, получавших левамизол, интенсивность патологических процессов осталась на прежнем уровне, а у ряда зверей увели-

чилась клеточная инфильтрация стенок сосудов исследуемых органов. Повысилась интенсивность плазмоцитоклеточной пролиферации. В лимфатических узлах выявили обеднение структурных зон фолликула лимфоцитами.

Необходимо отметить, что в группе норок, получавших тимоген, морфологическая нормализация лимфоцитов и структур иммунных органов находилась на более высоком уровне, но снижение интенсивности сосудистых патологических процессов выражено в группе норок, получавших полиоксидоний.

При постановке ЙАТ в контрольной группе норок и в группе животных с применением левамизола установлена 100 % (++) положительная реакция. В группе животных, инъецированных полиоксидонием выздоровление наступило у 80 % норок. В группе зверей, подвергшихся лечению тимогеном, 30 % норок прореагировали положительно.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что применение полиоксидония и тимогена норкам при алеутской болезни способствует полной или частичной нормализации основных гематологических и биохимических показателей, увеличивает общую резистентность больных норок, ослабляет напряженность аутоиммунных процессов, снижает смертность зараженных животных.

Однако полиоксидоний в сравнении с тимогеном обладает наиболее выраженным истинным пролонгированным иммуномодулирующим, детоксикационным, мембраностабилизирующим свойством.

Применение левамизола больным норкам в начале опыта способствовало усилению естественной резистентности, однако к концу эксперимента установлено снижение общей реактивности, интенсификация аутоиммунных патологических процессов, что способствует увеличению риска летального исхода среди больных зверей.

### 3. ВЫВОДЫ

- 1 У норок при алеутской болезни выявили
  - лейкоцитоз ( $10,5 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ )\*, повышение гематокрита (65,9 %)\* и СОЭ на 31 %\*, базофилию ( $0,54 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ )\*, эозинофилию ( $0,33 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ )\*, лимфоцитоз ( $5,84 \pm 0,07 \times 10^9/\text{л}$ )\*,
  - низкие показатели естественной резистентности, — снижение ФА ( $22,1 \pm 1,1$  %)\* и ФЧ ( $1,14 \pm 0,01$  у е)\*, уменьшение бактерицидного потенциала фагоцитов СЦП КБ ( $0,75 \pm 0,09$  у е)\*, СЦП МПО ( $0,64 \pm 0,06$  у е)\*, концентрации IgA ( $0,218 \pm 0,05$  мг/мл) и IgG ( $0,308 \pm 0,07$  мг/мл)\*, повышение на 63 %\* титра IgM,
  - гипогликемию ( $4,2 \pm 0,1$  ммоль/л), увеличение концентрации ЛПНП в 4,5 раза ( $659,3 \pm 10,4$  мг/ %), СК ( $2,91 \pm 0,05$  ммоль/л), уровня общего белка, за счет гипер-гаммаглобулинемии ( $23,6 \pm 0,5$  г/л)\*,
  - в костном мозге увеличение лимфоцитарного пула ( $196 \pm 10,32$  кл) плазматических клеток ( $45 \pm 3,61$  кл), мегакариоцитов ( $10,6 \pm 0,5$  кл) и на 39 % базофилов. Снижение клеток неэритрофильной формации ( $71,4 \pm 8,9$  кл),

- в органах иммуногенеза нарушение гемодинамики и структуры большинства сосудов, пролиферацию лимфоцитов и плазматических клеток, патологическую макрофагальную трансформацию, увеличение количества и размеров тучных клеток
- 2 Выбранные иммуномодуляторы в разной степени проявили способность к иммунокоррекции защитных сил и патологических процессов у норки при вирусном плазмодитозе
- 3 Установили пролонгированное истинное иммуномодулирующее и выраженное детоксикационное действие полиоксидония на организм больных норок
  - нормализацию гематологических показателей, – повышение количества эритроцитов ( $8,61 \pm 0,2 \times 10^{12}/л$ )\*\*\*, моноцитов ( $0,46 \pm 0,1 \times 10^9/л$ )\*, юных ( $0,08 \pm 0,03 \times 10^9/л$ )\*\* и палочкоядерных ( $0,7 \pm 0,12 \times 10^9/л$ )\* нейтрофилов, снижение гематокрита ( $59,9 \pm 3,5 \%$ )\*\* и СОЭ ( $6,13 \pm 0,01$  мм/24 ч)\*, числа базофилов ( $0,11 \pm 0,01 \times 10^9/л$ )\* и лимфоцитов ( $4,13 \pm 0,28 \times 10^9/л$ )\*,
  - увеличение естественной резистентности организма, – усиление потенциальной бактерицидности и активности фагоцитов, – КБ ( $1,06 \pm 0,04$  у е)\* и МПО ( $1,0 \pm 0,1$  у е)\*, ФА ( $35,1 \pm 1,4 \%$ )\* и ФЧ ( $1,39 \pm 0,08$  у е)\*, увеличение количества Т-лимфоцитов ( $54,2 \pm 1,8 \%$ ), концентрации IgA ( $0,324 \pm 0,06$  мг/мл)\* и IgG ( $0,455 \pm 0,002$  мг/мл)\*\*\*, снижение концентрации СК ( $2,63 \pm 0,03$  ммоль/л)\*\* и уровня IgM ( $0,319 \pm 0,001$  мг/мл)\*\*\*,
  - нормализацию биохимических показателей сыворотки крови, – увеличение уровня глюкозы ( $6,3 \pm 0,1$  ммоль/л) и концентрации альбуминов ( $46,8 \pm 0,4$  г/л)\*, снижение ЛПНП ( $313,8 \pm 3,4$  мг %) и уровня  $\gamma$ -глобулинов ( $16,4 \pm 0,43$  г/л)\*\*\*,
  - в костном мозге снижение количества общего лимфатического пула ( $158,2 \pm 11,9$  кл), плазматических клеток ( $45 \pm 3,61$  кл) и мегакариоцитов ( $5,7 \pm 0,78$  кл)
- 4 Установили специфическую избирательную особенность в действии тимогена на организм больных АБ норок
  - нормализацию гематологических показателей, – повышение количества эритроцитов ( $9,23 \pm 0,23 \times 10^{12}/л$ )\*, моноцитов ( $0,18 \pm 0,01 \times 10^9/л$ )\*\* и юных нейтрофилов ( $0,29 \pm 0,06 \times 10^9/л$ )\*, снижение гематокрита ( $61,1 \pm 1,2 \%$ )\*\*, СОЭ ( $6,4 \pm 0,3$  мм/24 ч)\*\*\*, количества лейкоцитов ( $6,4 \pm 0,3 \times 10^9/л$ )\*\*, базофилов ( $0,18 \pm 0,05 \times 10^9/л$ )\*\* и лимфоцитов ( $4,37 \pm 0,17 \times 10^9/л$ )\*,
  - повышение естественной резистентности организма, – увеличение ФА ( $29,6 \pm 2,11 \%$ )\*, количества Т-лимфоцитов ( $61,3 \pm 0,4 \%$ )\*, уровня антител класса А ( $0,61 \pm 0,13$  мг/мл)\* и G ( $0,89 \pm 0,23$  мг/мл)\*, снижение концентрации IgM ( $0,41 \pm 0,03$  мг/мл)\*,
  - нормализацию некоторых биохимических показателей сыворотки крови, в виде повышения уровня глюкозы ( $5,4 \pm 0,1$  ммоль/л), альбуминов ( $47,9 \pm 0,8$  г/л)\* и снижения  $\gamma$ -глобулинов ( $17,6 \pm 1,2$  г/л)\*,
  - повышение уровня дифференцировки нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов красного костного мозга, снижение лимфоцитарного пула ( $157,1 \pm 12,3$  кл) и плазматических клеток ( $34,4 \pm 4,5$ )

5 Установили непролонгированное слабое иммуномодулирующее воздействие левамизола на организм больных АБ норок. — первоначально повышение естественной резистентности Наряду с этим препарат инициировал

- резкое снижение уровня общего белка ( $77,4 \pm 1,8$  г/л)\*\*; фракции альбуминов ( $37,9 \pm 0,15$  г/л)\*\*; концентрации IgG ( $0,295 \pm 0,002$  мг/мл)\*\*;
- увеличение числа клеток базофильного ствола ( $29,8 \pm 1,2$  кл) и ретикулярных клеток ( $11,3 \pm 3$  кл) красного костного мозга

6 Введение полиоксидония и тимогена способствовало снижению степени интенсивности патологических процессов и аутоиммунных реакции, инфильтрации иммунных органов плазматическими и тучными клетками

- полиоксидоний преимущественно способствовал снижению степени выраженности патологических макрофагальных трансформации и ангиопатий;
- тимоген активнее способствовал морфологической нормализации клеток и структурных компонентов тимуса, селезенки и лимфатических узлов

7 Применение больным норкам левамизола инициировало увеличение степени выраженности патологических процессов и активности аутоиммунных цитотоксических реакции

\* — среднее из данных на 5, 10 и 15 сутки эксперимента

\*\* — данные на 15 сутки эксперимента

#### 4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

- 1 Полученные данные рекомендуем использовать в учебном процессе по следующим дисциплинам: патологическая анатомия, эпизоотология, вирусология на биологических и ветеринарных факультетах высших и средних профессиональных учебных заведений, а также при написании учебников, монографий
- 2 Результаты эксперимента позволяют рекомендовать использование иммуномодуляторов для коррекции аутоиммунных процессов в организме норок, больных вирусным плазмодитозом
- 3 Данные клинических исследований по применению полиоксидония, тимогена и левамизола могут быть использованы в разработке новых перспективных и оптимизации существующих схем лечения норок при алеутской болезни

#### 5. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1 Лапина, Т. И. Патологоанатомические изменения некоторых внутренних органов норок при алеутской болезни, осложненной алиментарной дистрофией печени / Т. И. Лапина, Д. Г. Пономаренко // Повышение эффективности лечения и профилактики акушерско-гинекологических заболеваний и биотехники размножения животных: сб. науч. тр. — Киров, 2005 — С. 82–83
- 2 Лапина, Т. И. Некоторые показатели напряженности иммунитета у норок при алеутской болезни / Т. И. Лапина, Д. Г. Пономаренко,

- А П Шамало, Е А Аралина // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных сб науч тр – Ставрополь, 2005 – С 5–7
- 3 Пономаренко, Д Г Динамика некоторых классов иммуноглобулинов крови норок при алеутской болезни / Д Г Пономаренко // Управление функциональными системами организма матер Международ науч - практ интернет-конф , посв 75-летию каф физиологии и 60-летию каф хирургии СтГАУ – Ставрополь, 2005 – С 197–199
  - 4 Лапина, Т И Некоторые показатели крови норок, больных алеутской болезнью / Т И Лапина, Д Г Пономаренко // Материалы Международ науч - практ конф , посв 75-летию образования зооинженерного факультета ФГОУ ВПО «Казанская ГАВМ им Н Э Баумана» – Казань, 2005 – С 157–159
  - 5 Лапина, Т И Влияние иммуностимулятора полиоксидония на иммунную систему животных при вторичных иммунодефицитах рекомендации / Т И Лапина, Н А Антонова, Д Г Пономаренко – Черкесск, 2005 – 15 с
  - 6 Пономаренко, Д Г Некоторые гематологические показатели норок в условиях Ставропольского края / Д Г Пономаренко // Естествознание и гуманизм сб науч работ – Томск, 2005 – Т 2 – № 5 – С 78
  - 7 Пономаренко, Д Г Влияние полиоксидония на концентрацию  $\beta$ -липопротеидов в крови норок, больных алеутской болезнью / Д Г Пономаренко // Естествознание и гуманизм сб науч работ – Томск, 2006 – Т 3 – № 1 – С 91–92
  - 8 Лапина, Т И Влияние тимогена и полиоксидония на некоторые показатели гуморального иммунитета норок при алеутской болезни / Т И Лапина, Д Г Пономаренко // Естествознание и гуманизм сб науч работ – Томск, 2006 – Т 3 – № 2 – С 49–50
  - 9 Лапина, Т И Динамика некоторых классов иммуноглобулинов крови больных алеутской болезнью норок после иммунокоррекции полиоксидонием / Т И Лапина, Д Г Пономаренко // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных матер международ науч - практ конф , посв 100-летию со дня рожд проф А А Авророва – Воронеж «Научная книга», 2006 – С 456–459
  - 10 Пономаренко, Д Г Влияние иммуномодуляторов на уровень антител класса А, М, G, Е и концентрацию сialовых кислот в крови норок, при алеутской болезни / Д Г Пономаренко // Труды КубГАУ – № 5 – С
  - 11 Пономаренко, Д Г Динамика некоторых внутриклеточных энзимов нейтрофильных гранулоцитов в крови норок при алеутской болезни и после иммунотерапии / Д Г Пономаренко, Т И Лапина // Вестник Тюменской ГСХА – Тюмень, 2007 – Вып №1 (2) – С 107–110
  - 12 Пономаренко, Д Г Цитоморфометрические показатели лимфатических узлов норок, больных вирусным плазмозитозом / Д Г Пономаренко // Естествознание и гуманизм сб науч работ – Томск, 2007 – Т 4 – №1 – С 65–66

Подписано в печать 24.04.2007. Формат 60×94<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная.  
Гарнитура «Таймс». Усл. печ. л. 1,4. Тираж 150 экз. Заказ № 286.  
Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса СтГАУ «АГРУС»,  
г. Ставрополь, ул. Мира 302.