

# КОРРЕКЦИЯ АМИНОСЕЛЕТОНОМ ИММУННОГО СТАТУСА БЕЛЫХ КРЫС, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА, ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ Т-2 ТОКСИНА

С. В. Шабунин<sup>1</sup>, А. Г. Шахов<sup>2</sup>, Г. А. Востроилова<sup>3</sup>, Л. Ю. Сашнина<sup>4</sup>, Ю. А. Канторович<sup>5</sup>, Е. В. Михайлов<sup>6</sup>, И. С. Толкачев<sup>7</sup>, Е. В. Тюрина<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Директор, доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, ГНУ «ВНИВИПФиТ» Россельхозакадемии, г. Воронеж, e-mail: vnivipat@mail.ru

<sup>2</sup> Главный научный сотрудник, доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, ГНУ «ВНИВИПФиТ» Россельхозакадемии, г. Воронеж, e-mail: Shakhov@mail.ru

<sup>3</sup> Заведующий отделом, доктор биологических наук, ГНУ «ВНИВИПФиТ» Россельхозакадемии, г. Воронеж, e-mail: gvostroilova@mail.ru

<sup>4</sup> Заведующий лабораторией, доктор ветеринарных наук, ГНУ «ВНИВИПФиТ» Россельхозакадемии, г. Воронеж, e-mail: L.Yu.Sashnina@mail.ru

<sup>5</sup> Младший научный сотрудник, ГНУ «ВНИВИПФиТ» Россельхозакадемии, г. Воронеж, e-mail: kantorovich.yuliya@mail.ru

<sup>6</sup> Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ГНУ «ВНИВИПФиТ» Россельхозакадемии, г. Воронеж, e-mail: voronezh81@rambler.ru

<sup>7</sup> Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ГНУ «ВНИВИПФиТ» Россельхозакадемии, г. Воронеж, e-mail: vnivipat@mail.ru

<sup>8</sup> Младший научный сотрудник, ГНУ «ВНИВИПФиТ» Россельхозакадемии, г. Воронеж, e-mail: icrsa@mail.ru

## РЕЗЮМЕ

Проведенными исследованиями установлено негативное влияние хронической интоксикации Т-2 токсином на иммунный статус белых крыс при вакцинации их против сальмонеллеза. Об этом свидетельствуют угнетение эритропоэза и развитие анемии. Для иммунизированных и подвергнутых хроническому воздействию Т-2 токсина животных характерно снижение содержания эритроцитов на 13,0% и гемоглобина – на 9,6% ввиду снижения гемолитического действия ксенобиотика и угнетения функции кроветворения. Введение в схему иммунизации аминокселетона способствует повышению адаптивного иммунитета и естественной резистентности организма в данных условиях. У вакцинированных крыс по сравнению с контролем на 30-е сут после вакцинации наблюдалось увеличение количества эритроцитов на 14,1%, гемоглобина – на 11,7%, количества лейкоцитов – на 6,5%, абсолютного числа сегментоядерных нейтрофилов – на 23,0%, незрелых форм – палочкоядерных нейтрофилов – на 11,1%. Это связано с усилением генерации в костном мозге и последующей миграцией нейтрофильных лейкоцитов в систему циркуляции крови для осуществления фагоцитарной функции. Установленные морфологические изменения крови у вакцинированных и подвергнутых интоксикации животных свидетельствуют о гематологических нарушениях при Т-2 токсикозе, выражающихся в угнетении эритропоэза и лейкопении. На продолжительности жизни и сохранности животных при экспериментальном заражении *Salmonella cholerae suis* негативно сказалось снижение под влиянием хронического Т-2 токсикоза специфического гуморального иммунитета и естественной резистентности.

Ключевые слова: вакцинация, Т-2 токсикоз, аминокселетон, белые крысы, иммунный статус.

## ВВЕДЕНИЕ

Специфическая профилактика инфекционных болезней в промышленном животноводстве занимает одно из ведущих мест в системе ветеринарно-санитарных мероприятий [2, 3, 9].

Однако в ряде хозяйств вакцинопрофилактика широко распространенных кишечных инфекций, особенно молодняка сельскохозяйственных животных, малоэффективна из-за иммунодефицитного состояния, вызванного нарушением условий содержания, кормления и различными антропогенными факторами [10, 13].

Существенно влияют на развитие иммунодефицитных состояний у животных микотоксикозы, вызываемые токсическими метаболитами, выделяемыми грибами [7].

Одним из наиболее часто встречающихся ксенобиотиков грибкового происхождения является Т-2 токсин – трихотеценовый микотоксин типа А, продуцируемый

грибами рода *Fusarium*, обладающий выраженной иммуносупрессией, вследствие которой снижается эффективность вакцинаций и устойчивость животных к инфекционным болезням [12, 14].

Для нормализации функций иммунной системы разработаны и успешно применяются различные иммуномодуляторы [1, 11].

Во ВНИВИПФиТ с использованием криогенных технологий получен новый тканевый препарат из селезенки КРС, который в своем составе содержит ряд биологически активных сбалансированных соединений природного происхождения.

Цель исследований – изучить влияние хронической интоксикации Т-2 токсином на иммунный статус белых крыс, вакцинированных против сальмонеллеза, и оценить иммуномодулирующую эффективность аминокселетона.

# AMINOSELETON-BASED CORRECTION OF IMMUNE STATUS IN WHITE RATS VACCINATED FROM SALMONELLOSIS AND CHRONICALLY EXPOSED TO T-2 TOXIN

S. V. Shabunin<sup>1</sup>, A. G. Shakhov<sup>2</sup>, G. A. Vostroilova<sup>3</sup>, L. Yu. Sashnina<sup>4</sup>, Yu. A. Kantorovich<sup>5</sup>, Ye. V. Mikhailov<sup>6</sup>, I. S. Tolkachev<sup>7</sup>, Ye. V. Tyurina<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Director, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences,

GNU VNIVIPFIT of the Russian Agricultural Academy, Voronezh, e-mail: vnivipat@mail.ru

<sup>2</sup> Chief Researcher, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences,

GNU VNIVIPFIT of the Russian Agricultural Academy, Voronezh, e-mail: Shakhov@mail.ru

<sup>3</sup> Head of the Department, Doctor of Science (Biology), GNU VNIVIPFIT of the Russian Agricultural Academy, Voronezh, e-mail: gvostroilova@mail.ru

<sup>4</sup> Head of the Laboratory, Doctor of Science (Veterinary Medicine), GNU VNIVIPFIT of the Russian Agricultural Academy, Voronezh, e-mail: L.Yu.Sashnina@mail.ru

<sup>5</sup> Junior Researcher, GNU VNIVIPFIT of the Russian Agricultural Academy, Voronezh, e-mail: kantorovich.yuliya@mail.ru

<sup>6</sup> Head of the Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), GNU VNIVIPFIT of the Russian Agricultural Academy, Voronezh, e-mail: voronezh81@rambler.ru

<sup>7</sup> Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), GNU VNIVIPFIT of the Russian Agricultural Academy, Voronezh, e-mail: vnivipat@mail.ru

<sup>8</sup> Junior Researcher, GNU VNIVIPFIT of the Russian Agricultural Academy, Voronezh, e-mail: icrsa@mail.ru

## SUMMARY

The carried out research revealed negative impact of chronic T-2 toxin intoxication on immune status of white rats vaccinated against Salmonellosis. This is illustrated by erythropoiesis inhibition and anemia development. The immunized animals and animals chronically exposed to T-2 toxin typically demonstrate a decrease in the number of erythrocytes by 13% and in the level of hemoglobin by 9.6% due to reduced hemolytic action of xenobiotics and hematopoiesis depression. The use of aminoseleton in the vaccination scheme enhances adaptive immunity and natural resistance of the organism under these conditions. On day 30 post vaccination the vaccinated rats demonstrated an increase (in comparison to the control animals) in the number of erythrocytes – by 14.1%; hemoglobin – by 11.7%, number of leukocytes – by 6.5%, absolute number of segmentonuclear neutrophils – by 23%, immature neutrophils – by 11.1%. It is related to active formation of neutrophils in the marrow and their further migration to the blood circulation system for phagocytosis. The detected morphological changes in blood of the vaccinated and exposed animals suggest hematological disorder associated with T-2 toxicosis demonstrated as erythropoiesis inhibition and leucopenia. Decrease in specific humoral immunity and natural resistance caused by chronic T-2 toxicosis following experimental infection with *Salmonella cholerae suis* had a negative effect on the animal lifetime and safety.

**Key words:** vaccination, T-2 toxicosis, aminoseleton, white rats, immune status.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на здоровых половозрелых белых крысах линии Wistar массой 210–240 г, которых содержали в виварии ГНУ «ВНИВИПФит» Россельхозакадемии в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 и правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986). Содержание, кормление, уход и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Принципами надлежащей лабораторной практики».

Животных разделили на четыре группы. Животные I группы (n = 48) – контрольные (интактные). Белых крыс II группы (n = 48) иммунизировали двукратно, с интервалом 10 сут, инактивированной вакциной против сальмонеллеза свиней в дозе 10,0 млрд м. к. (про-

изводство ФКП «Армавирская биофабрика»). Животных III и IV групп (n = 48) вакцинировали по аналогичной схеме и подвергали воздействию T-2 токсина ежедневно в течение 30 сут с кормом в дозе 0,027 мг/кг (1/100 LD<sub>50</sub>), но белым крысам IV группы дополнительно двукратно внутримышечно вводили аминокселетон в дозе 0,5 мл/кг массы тела: первый раз – одновременно с биопрепаратом и повторно – спустя 48 ч. Через 30, 60 и 90 сут у животных контрольной и опытных групп отбирали кровь из сердца для проведения морфологических и иммунологических исследований.

Морфологический анализ крови проводили на гематологическом анализаторе ABX Micros 60 согласно утвержденным «Методическим рекомендациям» [4] и в соответствии с инструкциями к приборам. Комплементарную и лизоцимную активность сыворотки крови, фагоцитарную активность нейтрофилов, фагоци-

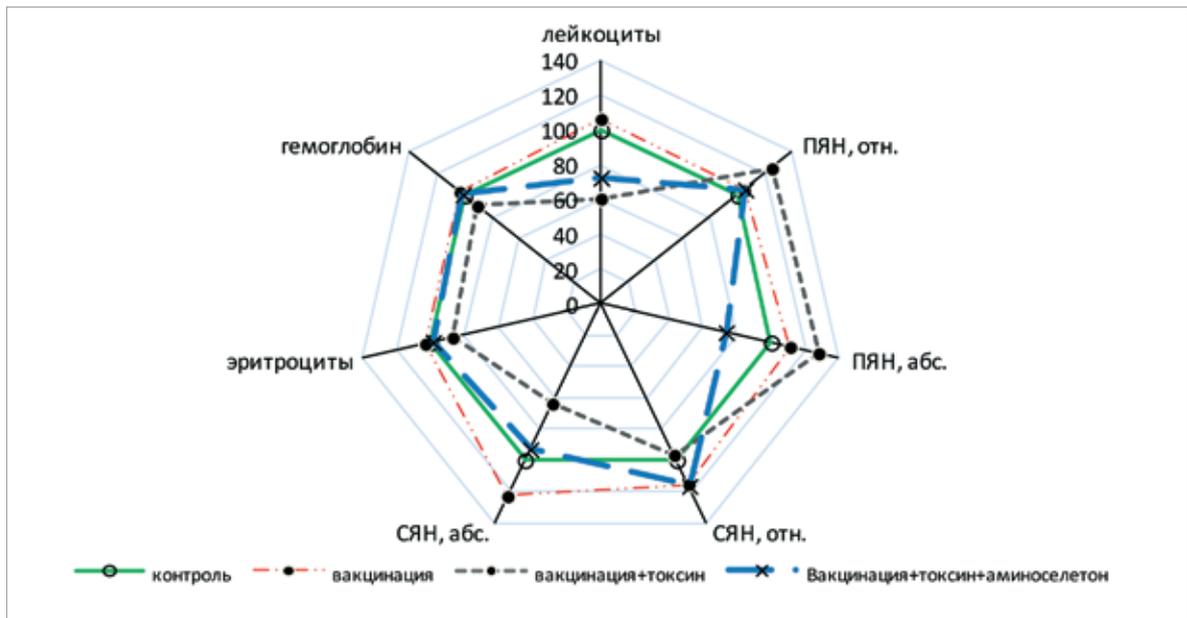


Рис. 1. Морфологические показатели крови белых крыс на 30-е сут после вакцинации

тарное число, фагоцитарный индекс, циркулирующие иммунные комплексы, содержание Т- и В-лимфоцитов определяли в соответствии с «Методическими рекомендациями» [5], противосальмонеллезные антитела – в реакции агглютинации, количество общих иммуноглобулинов – методом преципитации сульфатом цинка. Концентрацию иммуноглобулинов М и G, цитокинов IL-2, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$  исследовали в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа, согласно утвержденным методикам к соответствующим диагностическим наборам. Для проведения морфологических исследований образцы паренхиматозных органов фиксировали в 10–12% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в возрастающей концентрации этилового спирта, уплотняли парафином. Срезы с парафиновых блоков толщиной 5–7 мкм окрашивали классическими методами гистологии и просматривали в светооптическом микроскопе [6]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica v6.1, оценку достоверности – по критерию Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У вакцинированных животных II группы содержание эритроцитов и гемоглобина во все сроки исследований было стабильным и практически не отличалось от контрольных показателей. У иммунизированных и подвергнутых хроническому воздействию Т-2 токсина животных регистрировали снижение содержания эритроцитов на 13,0% и гемоглобина – на 9,6% на 30-е сут (рис. 1), что свидетельствовало об угнетении эритропоэза и развитии анемии.

Введение в схему вакцинации аminosелотона на фоне хронического Т-2 токсикоза вызывало у крыс, по сравнению с животными III группы, увеличение количества эритроцитов на 14,1%, гемоглобина – на 11,7% на 30-е сут, что обусловлено снижением гемолитического действия ксенобиотика и угнетения функции кроветворения. На 60-е сут динамика была аналогичной, на 90-е сут эти показатели соответство-

вали уровню таковых у вакцинированных (II группа) и интактных животных.

Вакцинация животных II группы на 30-е сут сопровождалась увеличением по сравнению с контролем количества лейкоцитов на 6,5%, абсолютного числа сегментоядерных нейтрофилов на 23,0%, а также незрелых форм – палочкоядерных нейтрофилов – на 11,1%, что связано с усилением генерации в костном мозге и последующей миграцией нейтрофильных лейкоцитов в систему циркуляции крови для осуществления фагоцитарной функции.

У иммунизированных животных III группы под влиянием Т-2 токсина регистрировали достоверное снижение количества лейкоцитов во все сроки исследований на 39,4; 35,0 и 22,6%. Наблюдавшаяся нейтрофильная лейкопения произошла в основном за счет достоверного снижения абсолютного содержания сегментоядерных нейтрофилов на 42,6; 58,9 и 29,1%, при этом относительное количество палочкоядерных нейтрофилов достоверно увеличилось на 25,1% на 30-е сут исследования с последующим снижением на 64,9 и 48,5% на 60-е и 90-е сут. Установленные морфологические изменения крови у вакцинированных и подвергнутых интоксикации животных согласуются с данными Parent-Massin D. [15], свидетельствующими о гематологических нарушениях при Т-2 токсикозе, проявляющихся угнетением эритропоэза и лейкопенией.

Под влиянием аminosелотона у крыс отмечали более высокое, чем у животных III группы, содержание лейкоцитов – на 19,9%, нейтрофилов – на 18,0%, сегментоядерных нейтрофилов – на 45,6% (30-е сут) (рис. 1) и соответственно на 20,0; 25,3 и 41,4 (60-е сут), 10,1; 3,7 и 13,0% (90-е сут), что говорит о снижении повреждающего действия Т-2 токсина на миелоциты костного мозга, являющиеся предшественниками нейтрофилов.

У вакцинированных животных II группы во все сроки исследований относительное и абсолютное количество лимфоцитов в крови не претерпело существенных изменений (табл. 1), а у иммунизированных и подвергнутых хронической интоксикации Т-2 токсином белых крыс абсолютный их показатель был достоверно ниже

**Таблица 1**  
Лимфоцитарный профиль белых крыс

| Сроки, сут | Группы | Показатели  |              |               |                |               |               |
|------------|--------|-------------|--------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
|            |        | лимфоциты   |              | Т-лимфоциты   |                | В-лимфоциты   |               |
|            |        | %           | абс.         | %             | абс.           | %             | абс.          |
| 30         | I      | 68,3 ± 0,88 | 3,62 ± 0,25  | 20,9 ± 0,69   | 0,77 ± 0,01    | 19,9 ± 0,90   | 0,75 ± 0,03   |
|            | II     | 65,1 ± 1,19 | 3,63 ± 0,25  | 22,8 ± 2,80   | 0,85 ± 0,01*   | 24,2 ± 2,56   | 0,80 ± 0,01   |
|            | III    | 70,3 ± 1,83 | 2,23 ± 0,13* | 9,33 ± 0,92*  | 0,28 ± 0,002*  | 15,0 ± 1,51*  | 0,33 ± 0,002* |
|            | IV     | 63,8 ± 2,16 | 2,42 ± 0,13* | 16,0 ± 2,01*▲ | 0,37 ± 0,003*▲ | 16,5 ± 2,33   | 0,35 ± 0,01*  |
| 60         | I      | 68,3 ± 0,88 | 3,62 ± 0,25  | 20,9 ± 0,69   | 0,77 ± 0,01    | 19,9 ± 0,90   | 0,75 ± 0,03   |
|            | II     | 72,2 ± 2,11 | 3,77 ± 0,14  | 24,7 ± 3,66   | 0,92 ± 0,01*   | 26,2 ± 2,21*  | 0,99 ± 0,02*  |
|            | III    | 78,0 ± 2,08 | 2,62 ± 0,22* | 15,3 ± 2,17*  | 0,65 ± 0,01*   | 10,4 ± 1,06*  | 0,27 ± 0,007* |
|            | IV     | 75,6 ± 0,96 | 3,09 ± 0,07  | 24,4 ± 4,79   | 0,81 ± 0,03*   | 16,0 ± 1,97*  | 0,49 ± 0,01*▲ |
| 90         | I      | 68,3 ± 0,88 | 3,62 ± 0,25  | 20,9 ± 0,69   | 0,77 ± 0,01    | 19,9 ± 0,90   | 0,75 ± 0,03   |
|            | II     | 72,0 ± 2,17 | 3,77 ± 0,12  | 31,2 ± 2,56*  | 1,17 ± 0,01*   | 24,5 ± 2,26   | 0,92 ± 0,01*  |
|            | III    | 69,9 ± 1,19 | 2,84 ± 0,18* | 18,4 ± 0,86*  | 0,70 ± 0,01*   | 20,2 ± 1,50*  | 0,57 ± 0,01*  |
|            | IV     | 70,5 ± 1,17 | 3,16 ± 0,19  | 29,8 ± 3,28*▲ | 0,88 ± 0,01*▲  | 32,0 ± 3,29*▲ | 1,01 ± 0,01*▲ |

\* P < 0,01–0,00005 по сравнению с I группой;  
▲ P < 0,001–0,00005 по сравнению с III группой.

на 38,4; 27,6 и 21,5% при сохранении их относительно-го содержания на 30-е и 90-е сут, что свидетельствует о выраженном негативном влиянии ксенобиотика на клетки, отвечающие за все специфические иммунные реакции.

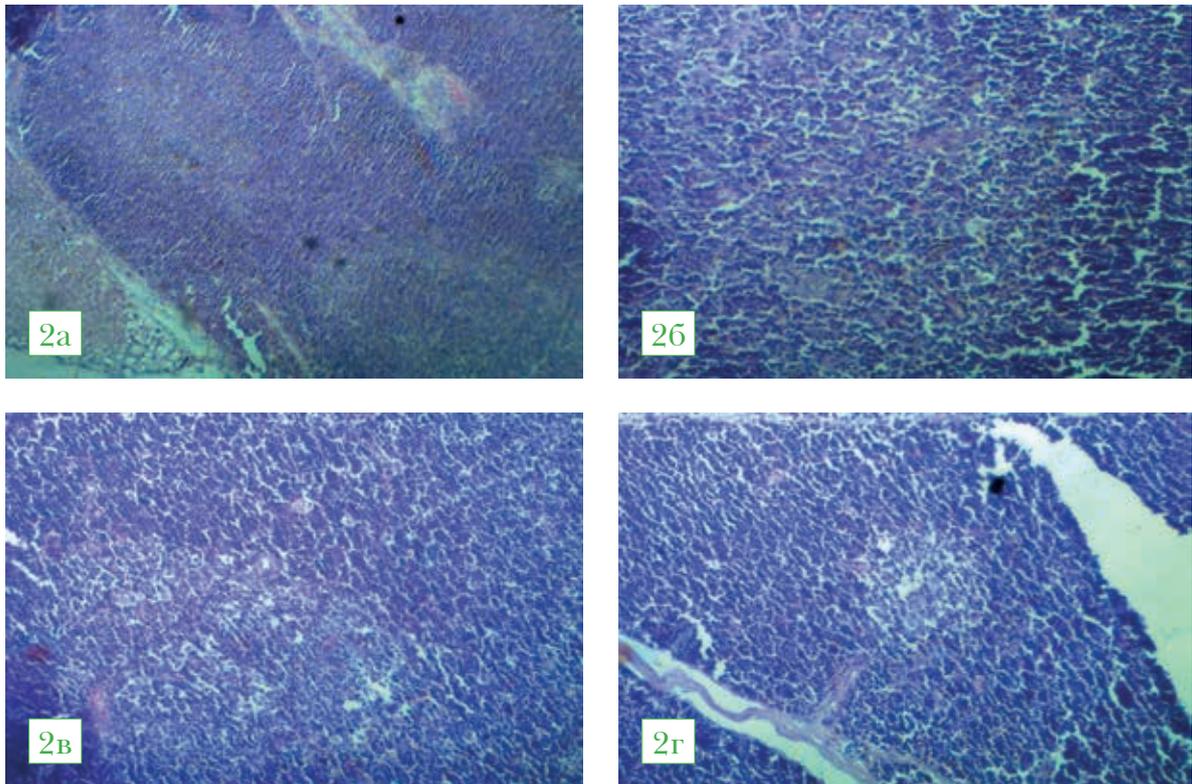
Вакцинация животных II группы сопровождалась повышением относительного количества Т-лимфоцитов на 9,1; 18,2 и 49,3% и абсолютного их содержания на 10,4; 19,5 и 51,9% во все сроки исследований (табл. 1), коррелирующим с существенным увеличением уровня цитокина IL-2 в крови на 89,4; 75,6 и 24,0% (табл. 2).

У крыс III группы под влиянием токсиканта отмечали развитие Т-дефицита, о чем свидетельствовало снижение во все сроки исследований относительного количества Т-клеток на 59,1; 13,0 и 30,1% и абсолютного их содержания на 67,1 и 29,1% на 30-е и 60-е сут по сравнению с аналогичными показателями у животных II группы (табл. 1). Угнетение Т-2 токсинем Е-рецепторов Т-клеток коррелировало с более низким (на 51,3; 42,1 и 28,3%) содержанием в крови IL-2 (табл. 2), который продуцируется Т-лимфоцитами в ответ на антигенную стимуляцию и необходим для пролиферации Т-клеток и дифференцировки активированных Т-лимфоцитов в эффекторные Th-лимфоциты или цитотоксические Т-клетки и других процессов, регулирующих иммунный ответ. Полученные результаты согласуются с данными

**Таблица 2**  
Цитокиновый профиль белых крыс

| Показатели   | Группы | Сроки исследования, сут |               |              |
|--------------|--------|-------------------------|---------------|--------------|
|              |        | 30                      | 60            | 90           |
| IL-2, пг/мл  | I      |                         | 217,0 ± 26,5  |              |
|              | II     | 411,0 ± 14,0*           | 381,0 ± 47,2* | 269,0 ± 18,4 |
|              | III    | 195,0 ± 18,6            | 206,0 ± 18,5  | 201,0 ± 17,5 |
|              | IV     | 299,0 ± 18,6*▲          | 227,0 ± 14,9  | 238,0 ± 25,1 |
| IL-4, пг/мл  | I      |                         | 33,6 ± 3,40   |              |
|              | II     | 53,1 ± 4,82*            | 40,6 ± 2,01   | 37,5 ± 4,20  |
|              | III    | 24,8 ± 0,90*            | 33,0 ± 0,13   | 32,1 ± 1,04  |
|              | IV     | 36,2 ± 4,80*            | 35,4 ± 1,04*  | 33,6 ± 3,03  |
| IL-10, пг/мл | I      |                         | 29,8 ± 0,60   |              |
|              | II     | 31,6 ± 1,62             | 29,1 ± 0,96   | 28,1 ± 3,09  |
|              | III    | 24,8 ± 1,66*            | 20,7 ± 0,88*  | 23,5 ± 1,12* |
|              | IV     | 27,9 ± 1,47             | 32,5 ± 1,64*  | 31,1 ± 1,67* |
| IFN-γ, пг/мл | I      |                         | 109,5 ± 8,28  |              |
|              | II     | 137,3 ± 0,61*           | 131,4 ± 9,93  | 99,1 ± 5,90  |
|              | III    | 77,0 ± 6,62*            | 70,6 ± 5,56*  | 95,8 ± 8,91  |
|              | IV     | 81,6 ± 5,90*            | 89,8 ± 5,78*  | 98,9 ± 5,62  |

\* P < 0,02–0,0005 по сравнению с I группой;  
▲ P < 0,001–0,00005 по сравнению с III группой.



*Рис. 2. Структурная организация тимуса у опытных крыс: а – у интактных животных, б – II группы, в – III группы, г – IV группы. Окр. гем.-эозин. Ув. ок. 7, об. 10 (а, в, г), 40 (б)*

отечественных и зарубежных исследователей [12, 14, 16], свидетельствующими об иммуносупрессивном действии микотоксинов, и в частности Т-2 токсина.

Введение в схему иммунизации крыс аминокселтона уменьшило угнетающее действие Т-2 токсина на Т-лимфоциты, об этом свидетельствует более высокое их относительное содержание (71,5; 59,5 и 62,0%) и абсолютное количество (32,1; 24,6 и 25,7%) во все сроки исследований (табл. 1), что коррелировало с увеличением уровня цитокина IL-2 в сыворотке крови на 53,3; 10,2 и 18,4% по сравнению с таковым у животных III группы (табл. 2).

Вакцинация крыс II группы сопровождалась увеличением относительного и абсолютного содержания В-клеток соответственно на 21,6; 31,7; 23,1% и на 6,7; 32,0; 22,7% во все сроки исследований (табл. 1).

Активация В-лимфоцитов и их дифференцировка в антителообразующие плазматические клетки, являющиеся основой гуморального иммунного ответа, коррелировала с увеличением содержания IL-4, стимулирующего гуморальный иммунный ответ, во все сроки исследований на 58,0; 20,8 и 11,6% (табл. 1), общих иммуноглобулинов – на 42,3 и 19,5% (30-е и 60-е сут), IgM – на 13,0% (60-е сут), IgG – на 10,1; 9,1 и 8,1% (30, 60 и 90-е сут), относительно высокими титрами противосальмонеллезных антител 1:192 ± 21,3; 1:136 ± 12,2 и 1:100 ± 13,7 и повышением уровня циркулирующих иммунных комплексов, свидетельствующим об активной гуморальной функции иммунной системы (табл. 3). У крыс этой группы также отмечали умеренное повышение IL-10, стимулирующего пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов, на 6,0% (на 30-е сут) и IFN-γ, повышающего активность Т- и В-лимфоцитов, на 25,4 и 20,0% (30-е и 60-е сут). (табл. 2).

Хроническая интоксикация Т-2 токсином оказала негативное влияние на формирование иммунного ответа. Об этом свидетельствовало снижение по сравнению с показателями у животных II группы во все сроки исследований относительного содержания В-лимфоцитов на 38,0; 60,3 и 17,6% и абсолютного их количества – на 63,7; 77,5 и 42,3% (табл. 1), цитокинов IL-4 – на 42,0; 18,7 и 19,2%, IL-10 – на 9,2; 5,8 и 13,2% и IFN-γ – на 43,9; 46,3 и 3,3% (табл. 2), уровня общих иммуноглобулинов – на 57,3 и 34,8%, IgM – на 8,6 и 15,4% и IgG – на 18,4 и 10,9% (30-е и 60-е сут), титров противосальмонеллезных антител 1:96 ± 14,8; 1:80 ± 14,6 и 1:36 ± 5,81 (табл. 3).

Уменьшение содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови на 54,9 и 41,7% (30-е и 60-е сут) также свидетельствует о снижении антителообразования у крыс III группы, что вполне согласуется с дефицитом В-лимфоцитов, которые ответственны за выработку антител (табл. 1, 3).

Применение аминокселтона существенно снизило негативное влияние ксенобиотика на формирование иммунного ответа на введение вакцины у крыс. У них, по сравнению с животными III группы, были выше относительное и абсолютное количество В-лимфоцитов (табл. 1) на 10,0; 53,8; 58,4% и 6,1; 81,5; 77,2% (30, 60 и 90-е сут), уровень цитокинов IL-4 – на 46,0%, IL-2 – на 49,5, IL-10 – на 13,2% (30-е сут), IFN-γ – на 14,4% (60-е сут) (табл. 2), общих иммуноглобулинов – на 49,7 и 33,5% (30-е и 60-е сут), IgM – на 10,9 и 10,6% и IgG – на 19,2 и 12,3%, ЦИК – на 64,6 и 35,2% (30-е и 60-е сут) и титры противосальмонеллезных антител 1:152 ± 22,2; 1:120 ± 13,3 и 1:76 ± 15,1 (табл. 3).

Вакцинация крыс II группы против сальмонеллеза сопровождалась повышением неспецифической гумо-

ральной и клеточной защиты. У животных по сравнению с контролем регистрировали достоверное повышение комплементарной активности сыворотки крови на 39,7; 54,9 и 39,3% во все сроки исследований, а лизоцимной активности – на 66,2 и 33,3% (30-е и 60-е сут) и тенденцию к ее увеличению на 7,2% на 90-е сут соответственно (табл. 3).

Под действием антигенов вакцины у них по сравнению с контролем происходило незначительное повышение фагоцитарной активности лейкоцитов (ФАЛ) во все сроки исследований, а поглотительная их функция достоверно увеличилась на 18,2% (ФЧ) на 60-е сут и 27,9 и 40,6% (ФИ) на 30-е и 60-е сут соответственно (табл. 3).

Хроническая интоксикация крыс Т-2 токсином оказала негативное влияние не только на формирование иммунного ответа на введение вакцины, но и на показатели естественной резистентности (табл. 3). У них, по сравнению с животными II группы, были ниже комплементарная и лизоцимная активность сыворотки крови во все сроки исследований на 55,2; 29,1; 22,6% и 66,0; 30,1; 11,0%, фагоцитарная активность лейкоцитов на 5,1 и 1,2% (60-е и 90-е сут), поглотительная их функция на 19,1; 23,2 и 4,0% (ФЧ) и на 20,1; 30,7 и 15,4% (ФИ).

Введение аминокислот в схему иммунизации сопровождалось повышением показателей естественной резистентности у крыс (табл. 3). У них по сравнению с животными III группы были выше комплементарная и лизоцимная активность сыворотки крови на 22,4; 5,1; 16,2% и 56,7; 19,9; 8,0% во все сроки исследований, ФЧ и ФИ на 17,1; 14,1% и 21,8; 12,4% (30-е и 60-е сут).

Негативное влияние хронической интоксикации Т-2 токсином на формирование иммунного ответа

на введение вакцины и иммуномодулирующий эффект аминокислот подтверждаются результатами морфологических исследований центрального (тимус) и периферического (селезенка) органов иммунной системы.

Исследованиями было установлено, что у интактных крыс структурная организация тимуса и селезенки находилась в пределах нормы. Кортикальное вещество состоит из крупной популяции клеток – предшественников Т-лимфоцитов, а мозговое вещество содержит ретикулярные клетки, многочисленные дифференцированные Т-лимфоциты и тимусные тельца (рис. 2а). В селезенке выявляется пульпа, которая делится на два компонента – белую и красную пульпу. В белой пульпе селезенки выделяется лимфоидная ткань, которая образована лимфатическими узелками (В-зависимые зоны) и лимфатическими периартериальными влагаллищами (Т-зависимые зоны). В красной пульпе обнаруживаются венозные синусы и пульпарные тяжи (рис. 3а).

У вакцинированных крыс II группы в тимусе проявлялись активация пула Т-лимфоцитов, повышение плотности тимоцитов как в корковом, так и мозговом веществе, происходило появление трех и более тимических телец, границы слоев умеренно «разряжены» (рис. 2б). В селезенке также происходили пролиферативные процессы со стороны герминативных центров размножения с образованием крупных «лимфоидных муфт» и уменьшением доли красной пульпы (рис. 3б).

В структурной организации органов вакцинированных и подвергнутых хроническому воздействию Т-2 токсина животных (III группа) в тимусе наблюдали преобладание коркового слоя над мозговым и незначительное разрежение клеточного пула в мозговом слое железы. Мозговой слой более «разряжен» вследствие выхода зрелых Т-лимфоцитов, и в нем выявлены

Рис. 3. Структурная организация селезенки у опытных крыс: а – у интактных животных, б – II группы, в – III группы, г – IV группы. Окр. гем.-эозин. Ув. ок. 7, об. 10

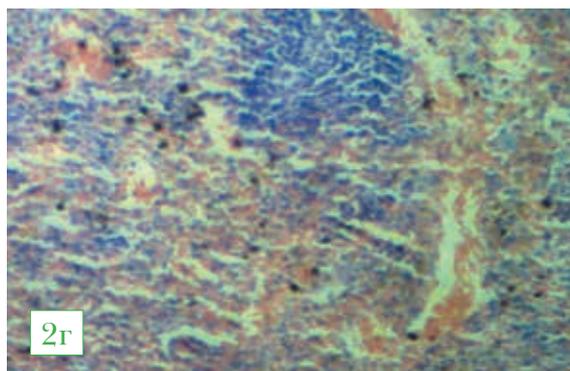
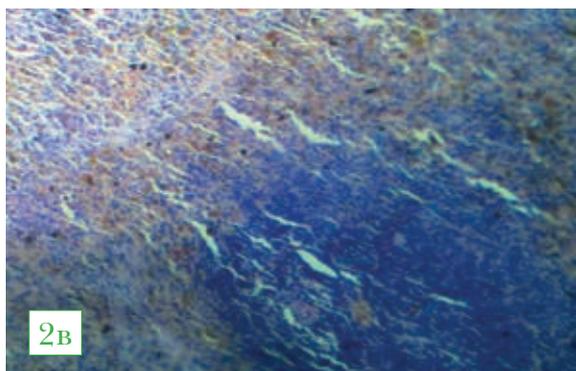
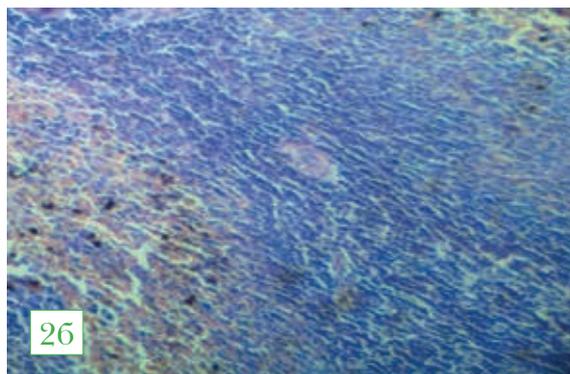
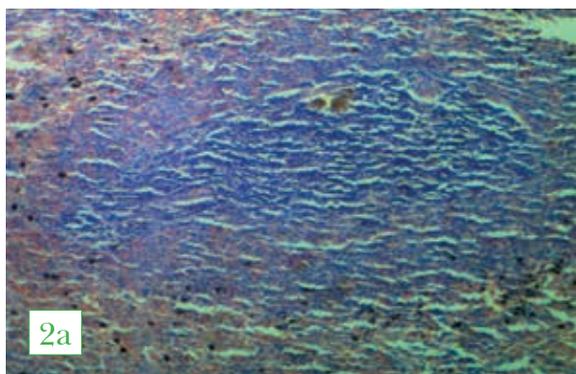


Таблица 3  
Показатели неспецифической резистентности белых крыс

| Показатели                 | Группы | Сроки исследования, сут      |                            |                          |
|----------------------------|--------|------------------------------|----------------------------|--------------------------|
|                            |        | 30                           | 60                         | 90                       |
| КАСК, % гем.               | I      | 5,14 ± 0,20                  |                            |                          |
|                            | II     | 7,18 ± 0,21*                 | 7,96 ± 0,91*               | 7,16 ± 0,70*             |
|                            | III    | 3,22 ± 0,06*                 | 5,51 ± 0,27                | 5,54 ± 0,28              |
|                            | IV     | 3,94 ± 0,22* <sup>▲</sup>    | 5,79 ± 0,10*               | 6,44 ± 0,27**            |
| ЛАСК, мкг/мл               | I      | 2,37 ± 0,23                  |                            |                          |
|                            | II     | 3,94 ± 0,46*                 | 3,16 ± 0,26*               | 2,54 ± 0,11              |
|                            | III    | 1,34 ± 0,06*                 | 2,01 ± 0,05                | 2,26 ± 0,13              |
|                            | IV     | 2,10 ± 0,14 <sup>▲</sup>     | 2,41 ± 0,02 <sup>▲</sup>   | 2,44 ± 0,04              |
| ФАЛ, %                     | I      | 84,5 ± 0,90                  |                            |                          |
|                            | II     | 85,7 ± 1,48                  | 86,8 ± 0,80                | 84,8 ± 1,07              |
|                            | III    | 81,7 ± 0,81*                 | 78,6 ± 0,39*               | 81,0 ± 0,85*             |
|                            | IV     | 85,7 ± 1,09 <sup>▲</sup>     | 83,6 ± 0,98 <sup>▲</sup>   | 83,8 ± 0,80 <sup>▲</sup> |
| ФЧ                         | I      | 4,77 ± 0,21                  |                            |                          |
|                            | II     | 5,19 ± 0,24                  | 5,64 ± 0,25*               | 4,45 ± 0,09              |
|                            | III    | 4,20 ± 0,09*                 | 4,33 ± 0,11                | 4,27 ± 0,15              |
|                            | IV     | 4,92 ± 0,14 <sup>▲</sup>     | 4,94 ± 0,22 <sup>▲</sup>   | 4,47 ± 0,07              |
| ФИ                         | I      | 5,69 ± 0,29                  |                            |                          |
|                            | II     | 6,03 ± 0,20                  | 6,51 ± 0,21*               | 5,55 ± 0,12              |
|                            | III    | 4,73 ± 0,25*                 | 5,25 ± 0,17                | 5,90 ± 0,16              |
|                            | IV     | 5,76 ± 0,20 <sup>▲</sup>     | 5,90 ± 0,20 <sup>▲</sup>   | 5,43 ± 0,11              |
| ЦИК, г/л                   | I      | 0,119 ± 0,016                |                            |                          |
|                            | II     | 0,213 ± 0,013*               | 0,156 ± 0,09               | 0,128 ± 0,011            |
|                            | III    | 0,096 ± 0,005                | 0,091 ± 0,006              | 0,113 ± 0,010            |
|                            | IV     | 0,158 ± 0,006** <sup>▲</sup> | 0,123 ± 0,007 <sup>▲</sup> | 0,122 ± 0,008            |
| Общие иммуноглобулины, г/л | I      | 12,3 ± 0,43                  |                            |                          |
|                            | II     | 17,5 ± 1,56*                 | 14,7 ± 0,39*               | 11,9 ± 0,97              |
|                            | III    | 7,48 ± 0,66*                 | 9,59 ± 0,51*               | 10,8 ± 0,18*             |
|                            | IV     | 11,2 ± 0,25 <sup>▲</sup>     | 12,8 ± 0,08 <sup>▲</sup>   | 12,1 ± 0,58 <sup>▲</sup> |
| IgM, мг/мл                 | I      | 0,69 ± 0,02                  |                            |                          |
|                            | II     | 0,70 ± 0,02                  | 0,78 ± 0,03*               | 0,64 ± 0,01              |
|                            | III    | 0,64 ± 0,01                  | 0,66 ± 0,02                | 0,69 ± 0,08              |
|                            | IV     | 0,71 ± 0,02 <sup>▲</sup>     | 0,73 ± 0,01 <sup>▲</sup>   | 0,67 ± 0,03              |
| IgG, мг/мл                 | I      | 9,99 ± 0,34                  |                            |                          |
|                            | II     | 11,0 ± 0,27*                 | 10,9 ± 0,17*               | 10,8 ± 0,18              |
|                            | III    | 8,98 ± 0,24*                 | 9,71 ± 0,24                | 9,78 ± 0,40              |
|                            | IV     | 10,7 ± 0,38 <sup>▲</sup>     | 10,9 ± 0,07** <sup>▲</sup> | 10,7 ± 0,36              |
| Титры антител              | I      | Отр.                         |                            |                          |
|                            | II     | 1:192 ± 21,3                 | 1:136 ± 12,2               | 1:100 ± 13,7             |
|                            | III    | 1:96 ± 14,8                  | 1:80 ± 14,6                | 1:36 ± 5,81              |
|                            | IV     | 1:152 ± 22,2                 | 1:120 ± 13,3               | 1:76 ± 15,1              |

\* P < 0,01–0,00006 по сравнению с I группой;

▲ P < 0,01–0,00006 по сравнению с III группой.

единичные тельца Гассаля (рис. 2в). В селезенке регистрировали небольшие очаги кровоизлияний в паренхиме, белая пульпа представлена мощными «муфтами» с четкими границами герминативного центра, периартериальной и мантийной зонами (рис. 3в). Отмеченные морфологические изменения согласуются с данными Ф. С. Алараджи и соавт. [8], свидетельствующими о деструктивном влиянии T-2 токсина на органы иммунной системы.

Введение животным аминокселетона (IV группа) снижало негативное влияние токсиканта на структурную

организацию органов. Тимус у них был представлен крупными развитыми дольками без видимых инволюционных процессов, где корковый слой преобладает над мозговым. Лимфоидный и эпителиальный компоненты в коре и мозговом веществе четко выражены. В мозговом слое выявлены тельца Гассаля (рис. 2г). В красной пульпе селезенки отмечены кровоизлияния, белая пульпа представлена незначительно, без четких границ между ними. Центры герминативного размножения представлены скудно, периартериальная и мантийная зоны сглажены (рис. 3г).

Снижение специфического гуморального иммунитета и естественной резистентности животных под

влиянием хронического T-2 токсикоза негативно сказались на продолжительности их жизни и сохранности при экспериментальном заражении *Salmonella cholerae suis* в дозе 1,0 млрд м. к. Так, если летальность среди вакцинированных против сальмонеллеза крыс составила 25% (в контроле – 100%), а среднеэффективная продолжительность жизни – 28,6 сут<sup>1</sup> (выше контрольного показателя в 6,2 раза), то у иммунизированных и подвергнутых хронической интоксикации животных смертность увеличилась в 1,7 раза, а среднеэффективная продолжительность жизни снизилась на 50%.

Применение аминокселетона сопровождалось снижением летальности в 1,3 раза и увеличением среднеэффективной продолжительности жизни на 52,4% по сравнению с аналогичными показателями у крыс III группы.

Полученные результаты экспериментальных исследований по изучению влияния T-2 токсина на формирование иммунного ответа на введение животным вакцины против сальмонеллеза согласуются с данными отечественных и зарубежных исследователей [14, 15, 16], свидетельствующими об иммуносупрессивных свойствах микотоксинов, и в частности T-2 токсина, снижающих напряженность поствакцинального иммунитета против вирусных инфекций животных и птиц.

В соответствии с полученными результатами и данными литературы приоритетной задачей при микотоксикозном фоне является минимизация негативного влияния микотоксинов на организм путем применения эффективных адсорбентов, а также средств, повышающих иммунный статус животных, что явилось основанием для разработки иммуномодулирующего препарата – аминокселетона.

## ВЫВОДЫ

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы.

1. Хроническая интоксикация T-2 токсином у вакцинированных животных проявляется угнетением эритропоэза, нейтрофильной лейкопенией, снижением абсолютного содержания лимфоцитов.
2. T-2 токсин вызывает у животных нарушение иммунного ответа на введение вакцины, проявляющееся снижением количества T- и B-лимфоцитов, цитокинов IL-2, IL-4, IL-10 и IFN- $\gamma$ , общих иммуноглобулинов, IgM и IgG, антителообразования.
3. Под влиянием T-2 токсина снижается клеточная (фагоцитоз) и гуморальная (комплементарная и лизоцимная активность сыворотки крови) неспецифическая защита организма.
4. Введение в схему вакцинации аминокселетона способствует повышению адаптивного иммунитета и естественной резистентности организма в условиях хронической интоксикации животных T-2 токсином и, как следствие, устойчивости к сальмонеллезной инфекции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адъюванты / А. Я. Самуйленко, С. А. Гринь, В. И. Еремец [и др.] / под ред. А. Я. Самуйленко. – М.: ВНИТИБП, 2016. – 171 с.
2. Байбиков Т. З. Актуальные вирусные болезни свиней // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных: матер. Междунар. науч. конф. «Инфекц. патология ж-ных», посвящ. 50-летию ФГУ «ВНИИЗЖ». – 2008. – Т. 6. – С. 94–113.

3. Инфекционные болезни поросят и их иммунопрофилактика в современных условиях / А. М. Рахманов, Н. А. Яременко // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: матер. Междунар. науч.-практ. конф. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2002. – С. 31–33.

4. Методические рекомендации по диагностике, терапии и профилактике нарушений обмена веществ у продуктивных животных / М. И. Рецкий, А. Г. Шахов, В. И. Шушлебин [и др.]. – Воронеж, 2005. – 94 с.

5. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Федоров, А. Н. Панин [и др.] // Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. III. Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных. – М.: РАСХН, 2007.

6. Методы морфологических исследований: методическое пособие / С. М. Сулейманов, А. В. Гребенчиков, Е. В. Михайлов [и др.]; ГНУ ВНИВИПФиТ. – 2-е изд., перераб. и доп. – Воронеж: ФГУ «Воронежский ЦНТИ», 2007. – 87 с.

7. Микотоксикозы (биологические и ветеринарные аспекты): монография / А. В. Иванов, В. И. Фисинин, М. Я. Трёмасов, К. Х. Папуниди. – М.: Колос, 2010. – 392 с.

8. Морфологические изменения иммунитета в органах и мышцах цыплят, вакцинированных против ИББ, с использованием полифама при экспериментальном хроническом микотоксикозе / Ф. С. Алараджи, И. Н. Громов, Е. И. Большакова, С. А. Большаков // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины». – 2016. – Т. 52, № 1. – С. 14–18.

9. Русалеев В. С. Бактериальные инфекции животных // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных: матер. Междунар. науч. конф. «Инфекц. патология ж-ных», посвящ. 50-летию ФГУ «ВНИИЗЖ». – 2008. – Т. 6. – С. 113–120.

10. Семенюта А. Т. Влияние температурного раздражителя внешней среды на иммунологическую реактивность у животных // Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных: матер. Междунар. науч.-практ. конф. – М.: ИзографЪ, 2006. – С. 499–501.

11. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2005. – № 5. – С. 4–7.

12. Фисинин В. И. Микотоксины и антиоксиданты: непримиримая борьба (T-2 токсин – механизмы токсичности и защита) / В. И. Фисинин, П. Сурай // Птица и птицепродукты. – 2012. – № 4. – С. 36–39.

13. Шахов А. Г. Достижения и основные направления исследований по изучению болезней молодняка сельскохозяйственных животных // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: матер. Междунар. науч.-практ. конф. – Воронеж: Истоки, 2008. – С. 3–12.

14. Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals / I. P. Oswald, D. E. Marin, S. Bouhet [et al.] // Food Addit. Contam. – 2005. – Vol. 22 (4). – P. 354–360.

15. Parent-Massin D. Haematotoxicity of trichothecenes // Toxicology Letters. – 2004. – Vol. 153 (1). – P. 75–81.

16. Surai P. F., Mezes M. Mycotoxins and immunity: theoretical consideration and practical applications // Praxis veterinaria. – 2005. – Vol. 53 (1–2). – P. 71–88.