

УДК 619:612.017.12:591.144.4:591.8:615.1:636.37

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТУ ZG-2011 НА ІМУННУ СИСТЕМУ ОВЕЦЬ
ЗА МОРФОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ ОРГАНІВ ІМУННОГО ЗАХИСТУ**

Гриневич О.Й.

Державне агентство з питань науки, інновацій та інформатизації України, м. Київ

**Красніков Г. А., Горбатенко С. К., Шутченко П. О., Медвідь К. О., Шаповалова О. В.,
Зданєвич П. П., Корнєйков О. М.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

У статті викладено результати дослідження впливу препарату ZG-2011 на організм інтактних овець, а також після інокуляції лімфоцитів гематологічно хворої на лейкоз тварини (ВРХ) у дозі 3 тис. кл. за морфологічними показниками органів імунного захисту (лімфатичні вузли, селезінка).

Встановлено, що введення препарату ZG-2011 стимулює проліферацію лімфоїдних клітин у наслідок чого відбувається збільшення розмірів морфофункціональних структур лімфатичних вузлів і селезінки, що вказує на виражену імуномодулюючу дію. Імуностимулюючі властивості препарату ZG-2011 свідчать про перспективу його застосування з метою корекції імунодефіцитних станів тварин.

Ключові слова: імунітет, гістоморфологія органів імунного захисту.

Вторинні набуті імунодефіцити мають широке розповсюдження в порівнянні з первинними вродженими. Вони можуть бути результатом впливу факторів оточуючого середовища та ендогенних чинників: збудників інфекційних захворювань, фармакологічних речовин, ендогенних гормонів та ін. [7, 8, 10]. Проте найчастіше їх причиною є інфекційні захворювання вірусної етіології. Відомі численні повідомлення, які підтверджують концепцію пригнічення імунітету онкогенними вірусами [8, 12]. Було відмічено, що уражується як гуморальна, так і клітинна ланка імунітету. Тому на даний час надзвичайно актуальним питанням є дослідження механізмів розвитку імунодефіцитних станів і пошук ефективних імуномодулюючих препаратів [2, 5, 6, 9].

Науковцями Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» та Державної наукової установи «Державний центр інноваційних біотехнологій» раніше було доведено імуномодулюючий вплив препарату ZG-2011 за результатами біохімічних і гематологічних досліджень. Було встановлено, що препарат ZG-2011 стимулює індукцію синтезу імуноглобулінів (IgM, IgG, IgA), IF-γ, IL-1-β, ЦІК та підвищує активність лізоциму [1].

Метою роботи було вивчення впливу препарату ZG-2011 на організм овець за морфологічними показниками органів імунного захисту.

Матеріали та методи. З метою виконання запланованих досліджень було сформовано 4 дослідні групи (по 4 особини в кожній) за принципом аналогів з овець романівської породи віком 10–12 місяців з середньою живою масою 30–35 кг.

Перша група – інтактний контроль. Тваринам цієї групи підшкірно вводили фізіологічний розчин у верхній третині шиї в об'ємі 2,0 см³ трикратно з інтервалами 30 діб. Вівцям другої групи інокулювали лімфоцити гематологічно хворої на лейкоз тварини (ВРХ) у дозі 3 тис. кл., через 30 діб вводили препарат ZG-2011 у дозі 4,0 см³ підшкірно, через 30 діб повторно за аналогічною схемою та дозою. Тваринам третьої дослідної групи одноразово інокулювали лімфоцити гематологічно хворої на лейкоз тварини у дозі 3 тис. кл. Вівцям четвертої групи двократно з інтервалом 30 діб вводили препарат ZG-2011 у дозі 4,0 см³ підшкірно.

Відбір проб органів (селезінки та лімфатичних вузлів) здійснювали на 240 добу після початку дослідю. Зразки фіксували у 10 % забуференому формаліні. Всі гістологічні методики виконували за прописами, викладеними у посібниках з патогістологічної та мікроскопічної техніки [4,5]. Виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм на ротаційному мікротомі МПС-2 з подальшим фарбуванням гематоксилін-еозином.

Дослідження гістологічних препаратів здійснювали з використанням мікроскопу Axioskop 40/40FL (Carl Zeiss, Німеччина) з наступним відеомікроскопічним фотографуванням. Кількісну морфометричну оцінку здійснювали за допомогою програми ВідеоТест-Морфологія 5.1 (ВідеоТест, Росія) [11].

Стимулюючу дію препарату ZG-2011 на морфофункціональний стан органів імунного захисту (лімфатичні вузли та селезінка) оцінювали за морфометричними показниками основних функціональних структур. У селезінці визначали розміри периартеріальних лімфоїдних муфт, гермінативних центрів (ГЦ), звертали увагу на щільність виповнення лімфоїдними клітинами білої пульпи, кількість та розміри лімфатичних вузликів (ЛВ). У лімфатичних вузлах визначали розмір лімфатичних вузликів, гермінативних центрів, щільність виповнення мозкових тяжів, кортикальної та паракортикальної зон лімфоїдними клітинами.

Результати досліджень. Аналіз отриманих результатів гістоморфологічних досліджень свідчить, що після введення лімфоцитів гематологічно хворої на лейкоз тварини відбувались зміни у органах

імунного захисту, характерні для імуносупресивного стану. У лімфатичних вузлах спостерігали зменшення розмірів лімфатичних вузликів до $375,997 \pm 41,378$ мкм (у контролі $479,3 \pm 38,280$ мкм), а діаметру гермінативної зони до $206,377 \pm 32,903$ мкм ($286,0 \pm 27,268$ мкм) у порівнянні з відповідними морфометричними показниками органів інтактних тварин контрольної групи. Також встановлено, що мозкові тяжі були виповнені лімфоїдними клітинами менш щільно, ніж у групі контролю та після дворазового застосування препарату ZG-2011.

Відмічено, що після введення лімфоцитів гематологічно хворі на лейкоз тварини відбувалися морфологічні зміни і в селезінці: зменшувалась загальна площа білої пульпи, периартеріальні лімфоїдні муфти були виповнені лімфоїдними клітинами не досить щільно. Таким чином, можна зробити висновок, що відбувалися морфологічні зміни органів імунного захисту характерні для імуносупресивного стану.

Результати гістоморфологічного дослідження органів тварин другої групи свідчили про імуностимулюючий вплив препарату ZG-2011 після його дворазового застосування. Даний висновок можна зробити на підставі того, що морфометричні показники основних функціональних структур лімфатичних вузлів і селезінки були вищими у порівнянні з відповідними значеннями третьої дослідної групи. Кортикальна зона лімфатичних вузлів була широкою з численними лімфатичними вузликами, мозкові тяжі були щільно виповнені лімфоїдними клітинами, містили значну кількість макрофагів.

Встановлено, що в селезінці периартеріальні лімфоїдні муфти були широкими і в поперечному січенні досягали розмірів $600,34 \pm 118,632$ мкм, а діаметр світлих центрів становив $285,163 \pm 59,432$ мкм (у групі №3 $362,767 \pm 32,429$ мкм та $241,52 \pm 34,224$ мкм відповідно).

Аналіз отриманих результатів досліджень свідчить, що застосування препарату ZG-2011 тваринам третьої групи викликало суттєві зміни в органах імунного захисту овець. Було встановлено, що кортикальна зона лімфатичних вузлів була широкою, щільно виповненою дифузною лімфоїдною тканиною та містила численні лімфатичні вузлики, розмір яких зростав до $548,167 \pm 60,028$ мкм, а діаметр гермінативних центрів досягав $305,82 \pm 23,595$ мкм, тобто відбувалось зростання зазначених показників на 14 % та 7 % відповідно у порівнянні з контролем. Результати гістологічних досліджень засвідчили, що мозкові тяжі лімфатичних вузлів були більш щільно виповнені клітинами у порівнянні з першою контрольною групою, а це також вказує на активізацію морфофункціонального стану органа.

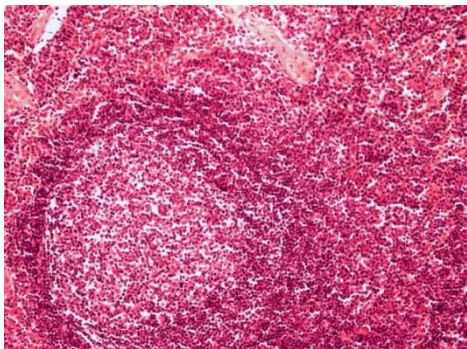


Рис. 1. Лімфатичний вузол. Гермінативний центр. Група № 4. Фарбування Г+Е, $\times 100$

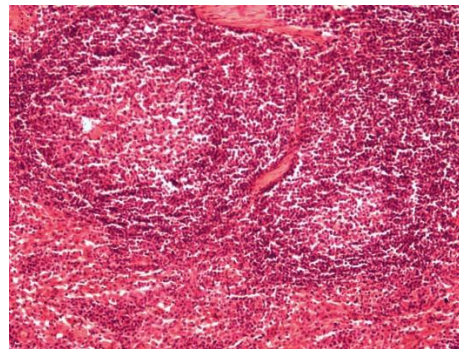


Рис. 2. Лімфатичний вузол. Гермінативні центри зменшені в розмірі. Група № 3. Фарбування Г+Е, $\times 100$

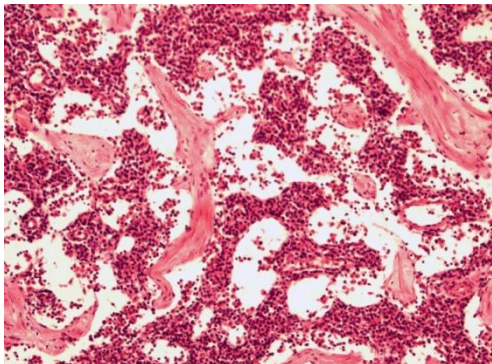


Рис. 3. Лімфатичний вузол. Мозкові тяжі щільно виповнені лімфоїдними клітинами. Група № 4. Фарбування Г+Е, $\times 100$

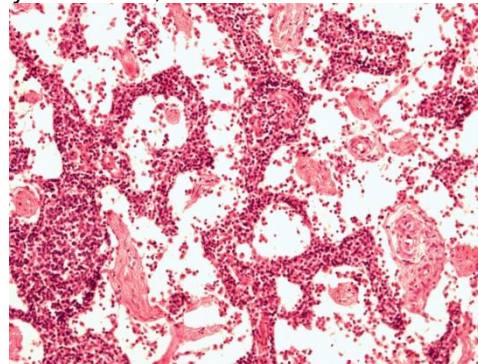


Рис. 4. Лімфатичний вузол. Мозкові тяжі не широкі, не щільно виповнені лімфоїдними клітинами. Група № 3. Фарбування Г+Е, $\times 100$

У результаті гістологічного дослідження селезінки тварин, яким дворазово вводили препарат ZG-2011 встановлено збільшення розмірів периартеріальних лімфоїдних муфт, які в поперечному січенні досягали максимального значення $776,470 \pm 99,261$ мкм ($403,89 \pm 39,626$ мкм у контролі).

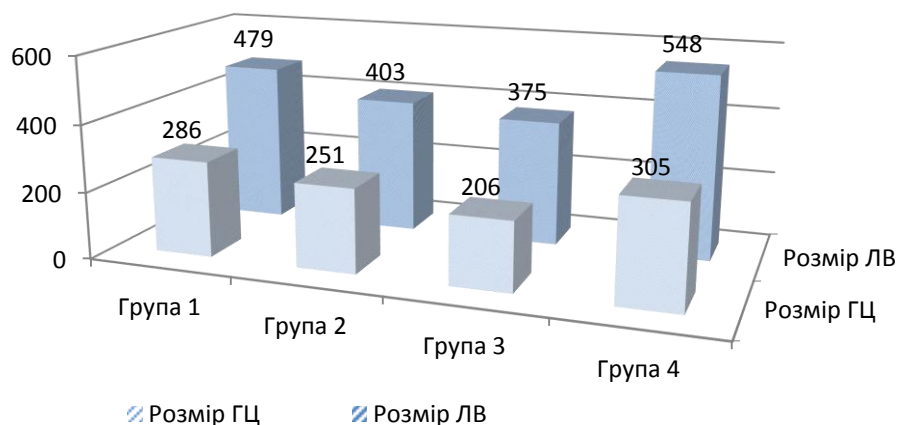


Рис. 5. Розміри лімфатичних вузликів і гермінативних центрів лімфатичних вузлів після застосування препарату ZG-2011, мкм

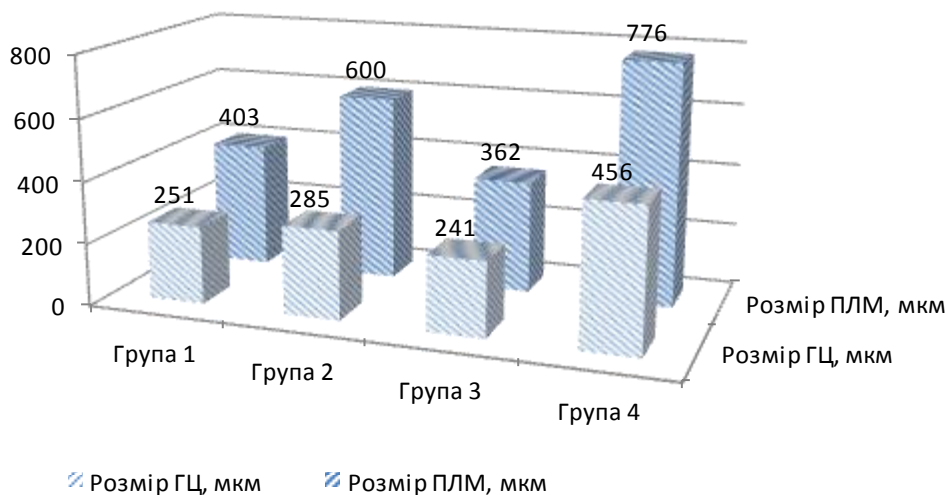


Рис. 6. Розміри периаеріальних лімфоїдних муфт і гермінативних (світлих) центрів селезінки після застосування препарату ZG-2011

У селезінці чітко контурувала широка маргінальна зона. Загально відомо, що ця зона є ділянкою кооперативної взаємодії різних типів клітин в імунній відповіді.

Тобто, після дворазового застосування препарату ZG-2011 відбувалась активізація основних морфофункціональних структур як лімфатичних вузлів, так і селезінки, що свідчить про виражену імуностимулюючу дію.

Слід зазначити, що найнижчі морфометричні значення функціональних структур лімфатичних вузлів та селезінки спостерігали у овець після введення лімфоцитів гематологічно хворої на лейкоз тварини, що вказує на супресію імунних процесів.

Після дворазового застосування препарату ZG-2011 на фоні попередньої інюкуляції лімфоцитів гематологічно хворої на лейкоз тварини відбувалась активізація імунного стану тварин, на що вказувало збільшення розмірів лімфатичних вузликів і периаеріальних лімфоїдних муфт селезінки. Проте морфометричні показники залишалися нижчими від відповідних значень у групі № 4, а також контрольної групи.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. Введення препарату ZG-2011 стимулює проліферацію лімфоїдних клітин, у результаті чого відбувається збільшення розмірів морфофункціональних структур лімфатичних вузлів і селезінки, що вказує на його виражену імунomodulatory дію.

2. Імуностимулюючі властивості препарату ZG-2011 свідчать про перспективу його застосування з метою корекції імунodefіцитних станів тварин.

Список літератури

1. Гриневич, О. Й. Вплив препарату ZG-2011 на імунну систему в експерименті на вівцях [Текст] / О. Й. Гриневич, І. Г. Маркович, С. К. Горбатенко // *Вет. медицина : міжвід. темат. наук. зб.* — 2013. — Вип. 97. — С. 260–263.
2. Дырдуева, Н. Б. Оценка иммунокорригирующего действия фракции тимуса, иммобилизованной на цеолите, при вторичном иммунодефицитом состоянии [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Н. Б. Дырдуева. — Улан-Удэ, 2000. — 23 с.

3. Меркулов, Г. А. Курс патологоанатомической техники [Текст] / Г. А. Меркулов. — Л. : Медицина, 1969. — 422 с.
4. Микроскопическая техника [Текст] : рук. / Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. — М. : Медицина, 1996. — 544 с.
5. Лазарева, Д. Н. Стимуляторы иммунитета [Текст] / Д. Н. Лазарева, Е. К. Алёхин. — М. : Медицина, 1985. — 210 с.
6. Фёдоров, Ю. Н. Иммунокоррекция: принципы и механизмы действия иммуномодулирующих препаратов [Текст] / Ю. Н. Фёдоров // Ветеринария. — 2005. — № 2. — С. 3–6.
7. Хаитов, Р. М. Вторичные иммунодефициты: клиника, диагностика, лечение [Текст] / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. — 1999. — № 1. — С. 14–17.
8. Хаитов, Р. М. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения [Текст] / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. — 2000. — № 5. — С. 4–7.
9. Петров, Р. В. Контроль и регуляция иммунного ответа [Текст] / Р. В. Петров, Р. М. Хаитов. — Л. : Наука, 1981. — 156 с.
10. Петров, А. М. К характеристике иммунодефицитов у животных и человека [Текст] / А. М. Петров, М. М. Серых // Проблемы животноводства и пути их решения. — Самара, 1998. — С. 9–11.
11. Руководство пользователя программы ВидеоТест-Морфология 5.1 [Текст]. — СПб., 2009. — 336 с.
12. In vitro effects of methanol extracts of Korean medicinal fruits (persimmon, raspberry, tomato) on chicken lymphocytes, macrophages, and tumor cells [Text] / S. H. Lee [et al.] // J. Poultry Sci. — 2009. — Vol. 46. — P. 149–154.

STUDYING INFLUENCE OF ZG-2011 ON IMMUNE SYSTEM OF SHEEP ON MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF IMMUNE ORGANS

Grynevych O.I.

State Agency on Science, Innovations and Information of Ukraine, Kyiv

Krasnikov G.A., Gorbatenko S.K., Shutchenko P.O., Medvid K.O., Shapovalova O.V.,
Zdanevych P.P., Korneykov O.M.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary", Kharkov

Currently extremely important issue is the study mechanisms of immunodeficiency formation and the search for effective immunomodulatory drugs.

The aim of the study was to investigate the influence of drug ZG-2011 on sheep organism by morphological indices of immune organs.

Materials and methods. We investigated the morphologic changes of lymph nodes and spleen by histomorphological methods.

Results. As a result of histomorphological studies it was found immunostimulatory effect of ZG-2011. There was increasing the size of the lymph nodes, lymphoid perarterial follicles, and germinal centers. In the lymph nodes cortical zone and cerebral bands were tight fulfilled with lymphoid cells. The lowest morphometric values of functional structures of the lymph nodes and spleen were observed in the group of animals after administration of lymphocytes of animals hematological sick with leucosis, that indicates on suppression of immune processes. After entering of lymphocytes of animals hematological sick with leucosis, and following the double use of ZG-2011 took place activation of the immune status of the animals, but morphometric parameters were lower than the corresponding values in group 4, as well as control group.

Conclusions. 1. Administration of ZG-2011 stimulates the proliferation of lymphoid cells resulting in an increase in the size of the morphological structures of the lymph nodes and spleen, indicating on marked immunomodulatory effect.

2. Immunostimulatory properties of ZG-2011 indicate the prospect of its application for correction of immunodeficiency states at animals.

Keywords: immunity, histomorphology of immune protection organs.

УДК 619:631.147:544

ВІДБІР МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ ПРОБІОТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Гужвинська С.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: probiotic@vet.kharkov.ua

Проведено дослідження біологічних властивостей молочнокислих бактерій і відібрано високоактивні штами мікроорганізмів L. plantarum 7, L. casei № 27, B. adolescentis № 17, B. adolescentis 17-316, L. plantarum 7-317 для конструювання пробіотичних препаратів.

Ключові слова: пробіотик, лактобактерії, біфідобактерії.

Пробіотичні препарати використовуються для профілактики та лікування шлунково-кишкових інфекцій різної етіології, для стимулювання імунітету, при розладах травлення аліментарної етіології, що виникають внаслідок різкої зміни складу раціону, порушення режимів годівлі, технологічних стресів, а також при зміні складу кишкової мікрофлори після лікування антибіотиками. В основі цих процесів закладені механізми дії пробіотиків на кишкову мікрофлору і в цілому на організм [1, 2].

Механізм дії пробіотиків на основі молочнокислих бактерій є багатосторонній. Це і антагоністична активність, що включає продукування різного роду біологічно активних речовин, у тому числі