

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Дальневосточный государственный аграрный университет»

Т. В. ФЕДОРЕНКО, Н. М. МАНДРО

**РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ИЗ
КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА
СИБИРСКОЙ КОСУЛИ В СХЕМЕ
ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ЖИВОТНЫХ**

Монография

Благовещенск
Дальневосточный ГАУ
2021

УДК 619:615.37 + 616-8

ББК 48

Ф33

Рецензенты:

Наталья Степановна Кухаренко, доктор ветеринарных наук,
профессор кафедры патологии, морфологии и физиологии
Марина Евгеньевна Остякова, доктор биологических наук, доцент,
профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы,
эпизоотологии и микробиологии

Рекомендовано к печати научно-техническим советом
Дальневосточного ГАУ

Федоренко, Татьяна Валериевна.

Ф33

Разработка и применение препарата из клеток костного
мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики живот-
ных / Т. В. Федоренко, Н. М. Мандро; Дальневост. гос. аграр.
ун-т. – Благовещенск: Дальневосточный ГАУ, 2021. – 150 с.

ISBN 978-5-9642-0486-2

В монографии опубликованы результаты исследования в ходе кото-
рого авторами изучен цитологический состав костного мозга сибир-
ской косули в сравнении с сельскохозяйственными животными, раз-
работан способ выделения белков из клеток костного мозга сельско-
хозяйственных и диких животных, разработана технология изготов-
ления биологически активного препарата белковой природы из кле-
ток костного мозга, определены доза и способ его введения, доказана
перспектива использования клеток костного мозга в разработке им-
мунокорректоров. Применение белкового препарата из клеток кост-
ного мозга сибирской косули показало положительные изменения
показателей клеточного и гуморального иммунитета животных,
уменьшило показатели интенсивности эпизоотического процесса и
повысило эффективность специфической иммунопрофилактики
против инфекционных болезней собак.

Монография адресована специалистам в области ветеринарии, мо-
жет быть полезна специалистам биологического профиля.

УДК 619:615.37 + 616-8

ББК 48

ISBN 978-5-9642-0486-2

© Федоренко Т. В., Мандро Н. М., 2021

© ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
1 Общая характеристика иммунной системы млекопитающих ...	8
1.1 Регуляция иммунного ответа	8
1.2 Иммунодефициты животных	19
1.3 Современные аспекты иммунокоррекции организма.	24
1.4 Костный мозг как источник получения препаратов для иммунокоррекции организма животных.....	36
2 Сравнительная характеристика костного мозга сельскохозяйственных и диких животных.....	45
2.1 Цитологический состав костного мозга сельскохозяйственных и диких животных	45
2.2 Иммунобиологический состав костного мозга сельскохозяйственных и диких животных разного возраста	55
3 Технология получения препарата из клеток костного мозга сибирской косули (ПКМК).....	65
4 Влияние препарата из клеток костного мозга сибирской косули на показатели крови белых мышей.....	68
5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики	76
5.1 Показатели интенсивности эпизоотического процесса инфекционных болезней собак в г. Благовещенск Амурской области	76
5.2 Влияние ПКМК на показатели клеточного иммунитета собак.....	87
5.3 Влияние ПКМК на показатели гуморального иммунитета собак.....	94
5.4 Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов при применении ПКМК у собак	101
5.5 Эффективность специфической вакцинопрофилактики с использованием ПКМК.....	106
Заключение	111
Список литературы	130
Список сокращений.....	149

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система является индикатором физиологического состояния организма, она чутко реагирует на изменения условий окружающей среды (Мищенко В. А. с соавт., 2006). Нарушение технологии кормления и содержания, неудовлетворительная экологическая ситуация, воздействие других стрессоров на животных сопровождаются угнетением иммунной системы, снижением естественной резистентности организма и эффективности специфической профилактики различных болезней (Шахов А. Г. и др., 2006). В связи с этим оправдан значительный интерес ученых к разработке и изучению различных средств, способных положительно влиять на функционирование иммунной системы (Топурия Г. М. с соавт., 2011). Одним из вариантов решения столь сложной проблемы является введение в схемы профилактических и противоэпизоотических обработок препаратов, обладающих выраженным иммуностимулирующим эффектом, активизирующих защитные силы организма (Хмылов А. Г. с соавт., 2006).

Заболеваемость собак инфекционными болезнями, такими как чума плотоядных и парвовирусный энтерит, вызываемых вирусами, регистрируется повсеместно. В последнее время всё чаще регистрируется инфекционный ларинготрахеобронхит (вольерный кашель), который может быть вызван множеством патогенных агентов, а также заболеванию могут быть подвержены щенки и собаки с пониженной сопротивляемостью организма, иммунодефицитами и неэффективностью вакцинопрофилактики. При возникновении инфекционных болезней вследствие заболевания и падежа собак причиняется большой экономический и моральный ущерб. Ежегодно

вакцинируют миллионы животных при этом эффективность профилактических противоэпизоотических мероприятий оценивается по результатам обеспечения эпизоотического благополучия в хозяйствах и на территориях, где они осуществляются (Шахов А. Г., 2006).

В настоящее время учеными разрабатываются и изучаются различные средства и методы, положительно влияющие на иммунную систему организма животных (Колычев Н. М., 2003; Аминова А. А., 2006; Волков М. Ю., 2006; Магер С. Н., 2014). Они нашли успешное применение в схеме профилактических и противоэпизоотических мероприятий (Крапивина Е. В., 2001; Топурия Г. М. 2003; Федоров Ю. Н., 2013), с целью повышения общей резистентности и иммунного ответа на различные антигены (Фисенко С. П. и др., 2006; Хмылов А. Г., с соавт., 2006). Изучены наиболее перспективные иммуномодуляторы эндогенного происхождения многих сельскохозяйственных, домашних и некоторых диких животных (Петров Р. В., 2000; Зарицкая В. В., 2006; Савченкова И. П., 2011).

Обширный список иммуномодуляторов делает весьма непростым их научно обоснованный выбор при профилактике и лечении заболеваний. Основным ориентиром при этом должно быть состояние иммунной системы. Но такая диагностика в большинстве случаев не проводится. Врач не может заподозрить недостаточность функционирования иммунной системы при возникновении падежа от инфекций, вызванных условно-патогенной микрофлорой; частых заболеваниях с респираторной и кишечной симптоматикой; пролонгированных и усложненных реакциях на вакцинацию; повышенном потреблении корма и сниженной продуктивности, измене-

нии характера и увеличении продолжительности медикаментозной терапии (Петров Р. В., 2000; Федоров Ю. Н., 2013).

Определить показание к применению того или иного иммуностропного препарата трудно из-за того, что ни один из них не оказывает избирательного действия на клетки, участвующие в иммунном ответе. Как правило, иммуностропные препараты одновременно стимулируют или ингибируют лимфоциты и их субпопуляции. Отсюда непредсказуемость конечного эффекта и большой риск нежелательных последствий. Установлено, что В-лимфоциты делятся на В-эффекторы и В-регуляторы. Функция регуляторов заключается в выделении медиаторов, угнетающих продукцию ДНК в Т- и В-лимфоцитах только в пределах костного мозга, а также усиление В-эффекторов. Эти медиаторы, имеющие белковую природу, поверхностные иммуноглобулины В-лимфоцитов, эндогенные белковые структуры стволовых клеток могут быть в основе иммуномодулирующего препарата (Плешакова В. И., 2009; Топурия Г. М., 2011).

Уникальные свойства эндогенных медиаторов давно уже привлекали к себе пристальное внимание в плане разработки средств коррекции тех или иных изменений в работе системы иммунитета. Наибольшие успехи в этом направлении стали возможны после открытия регуляторных пептидов центральных органов иммунитета: тимуса и костного мозга. В 60-70 гг. прошлого столетия в различных лабораториях мира из центральных органов иммунитета было получено около десятка различных пептидов. Использовались при этом различные технологии выделения: экстрагирование, автолиз и последующая экстракция, ультрафильтрация, препаративный электрофорез и др. Были получены такие препараты тимуса, как тимоген, т-активин, тималин, обладающие иммуномодулирующими и биорегулирующими

свойствами. Однако способы разработки, методы изучения и применения костномозговых иммуномодуляторов в сочетании с вакцинами изучены недостаточно, и многие вопросы, касающиеся лечения и профилактики иммунодефицитных состояний, остаются нерешенными. Высокая востребованность в препаратах иммунокоррекции дают основание считать актуальным исследование по разработке и изучению иммунокорректирующих препаратов костномозгового происхождения.

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

1.1 Регуляция иммунного ответа

В настоящее время иммунная система рассматривается как система контроля, обеспечивающая индивидуальность и целостность организма (Йегер Л., 1990). Иммунная система животных сформировалась в процессе эволюции позвоночных и служит для обеспечения защиты организма от чужеродных агентов как экзогенной, так и эндогенной природы (Рыбченко И. Н., 2011).

С первых шагов становления иммунологии внимание исследователей всегда привлекали сущность иммунной перестройки организма, эффекторные и регуляторные механизмы иммунного ответа (Воронин Е. С. и др., 2002). Иммунная система является индикатором физиологического состояния организма, она чутко реагирует на изменения условий окружающей среды. Нарушение ее функции рассматривают как один из патогенетических механизмов патологического процесса (Мищенко В. А. с соавт., 2006).

Главная задача иммунной системы – разрушение всех чужеродных антигенов независимо от их патогенности (Гилязова Г. И. и др., 2012). В иммунной системе развитых организмов существует множество способов обнаружения и удаления чужеродных агентов. Этот процесс называется иммунным ответом (Коротяев А. И., 2008).

В свете современных данных ответная физиологическая реакция иммунной системы на влияние «живых тел и веществ, несущих признаки генетической чужеродности (антиген)» осуществляется в форме механизмов

неспецифической резистентности (врожденный иммунитет) и адаптивного иммунитета (иммунный ответ на антигены) (Макаров В. В., 1999; Прозоркина Н. В., Рубашкина Л. А., 2013). К неспецифическим (естественным) факторам резистентности относят конституциональные факторы и фагоцитирующие клетки, обусловленные врожденными биологическими особенностями и передающиеся по наследству (Магер С. Н., Дементьева Е. С., 2014). Неспецифическая (естественная) резистентность включает взаимодействие клеток (ЕК-клетки, макрофаги) и гуморальных факторов (система комплемента, IgG). Далее развивается ранний индуцибельный ответ, во время которого взаимодействуют клетки (активированные макрофаги, ЕК-клетки, нейтрофилы) и гуморальные факторы (цитокины, белки острой фазы), разрушаются инфекционные агенты, и продукты их разрушения активируют иммунную систему. Факторы неспецифической резистентности и ранний индуцибельный ответ осуществляют защиту организма в первые 96 часов после инфицирования. В это время начинает развиваться приобретенный или адаптивный иммунный ответ, представляющий собой специфический иммунный ответ и более мощный этап защиты организма (Хаитов Р. М. с соавт., 2001).

Установлено, что иммунный ответ характеризуется накоплением в организме не только белков, специфически реагирующих с антигенами, но и иммунокомпетентных клеток – иммунных лимфоцитов (Воронин Е. С. и др., 2002). Лимфоциты являются ключевыми клетками иммунной системы, обеспечивающими реакции иммунитета (Земсков А. М., Земсков В. М., 1994).

Связывание чужеродного антигена с лимфоцитом вызывает иммунный ответ, направленный против этого

антигена. При этом некоторые из лимфоцитов дифференцируются в клетки памяти, и при вторичном воздействии того же иммуногена иммунный ответ развивается быстрее и сильнее (Mayer G., 2007; Рыбченко И. Н., 2011).

Интенсивность иммунного ответа при поступлении в организм антигена в значительной мере определяется генотипом конкретного организма, количеством и свойством антигенов – их антигенность и иммуногенность, а также состоянием регуляторных систем организма. Возможна как внутрисистемная регуляция иммунного ответа (за счет автономной деятельности иммунной системы), так и вовлечение других систем регуляции (нервной и эндокринной) (Санин А. В., 1988; Колычев Н. М. с соавт., 2014).

Автономная система иммунорегуляции у млекопитающих формируется в период внутриутробного развития. В саморегуляторной функции иммунной системы участвуют факторы естественной резистентности (нейтрофилы, моноциты, макрофаги, естественные киллеры, интерфероны, комплемент), которые, как правило, работают на ранних этапах защиты, а также клеточные и гуморальные факторы специфической иммунной системы (Т- и В-лимфоциты, антитела и др.). Специфические механизмы защиты могут включаться на более поздних этапах защитных реакций, как бы «запаздывая». В ряде случаев, когда чужеродные экзогенные антигены или патологические аутоантигены (например, опухолевые) полностью устраняются фагоцитами, естественными киллерами, специфический иммунный ответ вообще не развивается (Радчук Н. А. и др., 1991; Прозоркина Н. В., Рубашкина Л. А., 2013).

Иммунная система является одной из немногих в организме, которые осуществляют свою главную функцию через «работу» отдельных клеток. Для иммунитета

этими «рабочими» элементами являются иммунокомпетентные клетки (Пинегин Б. В., 2000). Количество основных видов клеток насчитывает несколько штук. Зато производных от них клеток более десятка. Все это приводит к большому разнообразию форм, в зависимости от преимущественного места локализации и выполняемых ими функций. Но все они происходят из одной стволовой клетки красного костного мозга. Причем кроме них из этой клетки происходят клетки крови и ее форменные элементы. Тем не менее различия начинают проявляться буквально с первых делений стволовой клетки (Андерсон Ш. К., 2007).

В первую очередь это касается наличия включений цитоплазмы. И, как результат, на первых этапах выделяются две группы клеток. Первые содержат эти включения, а вторые нет. Кроме того, ко вторым относятся клетки-предшественники эритроцитов и тромбоцитов. Этот главный признак различия послужил для разделения всех клеток иммунной системы на гранулоциты и агранулоциты. Соответственно клетки содержащие включения и клетки, не содержащие их (Азаев М. Ш. и др., 2015). К гранулоцитам относят три основных вида, – это нейтрофилы, базофилы и эозинофилы. Соответственно в эту группу входят и производные данных клеток. Агранулоцитами считаются моноциты и лимфоциты (Земсков М. В., 1977).

Нейтрофилы ведут свое происхождение из миелоидной клетки, получившейся при делении полипотентной стволовой клетки-предшественника. От миелоидной клетки также происходят все гранулоциты, эритроциты и тромбоциты. Это обстоятельство обуславливает особенности строения мембраны – обладание большей подвижностью, чем у лимфоцитов. Благодаря этому нейтрофилы, выйдя из красного костного мозга в кровь, могут

легко проникать через стенку сосуда в ткань (Abbas G., 2009; Лозовой В. А. в соавт., 1981; Уиллард М. Д. и др., 2004; Крюковская Г. М. и др., 2012).

Нейтрофил на стадии его формирования представляет собой клетку с ядром в форме колбаски. В его цитоплазме находится большое количество мелких гранул, содержащих различные ферменты и химические соединения. Первые необходимы для переваривания поглощенных чужеродных агентов. Вторые – для «сигнализации» другим клеткам иммунной системы и усиления воспаления. После выхода из красного костного мозга, ядро приобретает сегментарную конфигурацию (Janeway Ch.A., 1994). Кроме того, на мембране находится большое количество рецепторов, необходимых для «связи» с другими клетками. При обычных состояниях нейтрофилы выходят в кровь очень небольшим количеством. Специфические сигналы, включая интерлейкин-1 или компоненты белков системы комплемента, мобилизуют выход нейтрофилов из костного мозга в не активированном состоянии. Это происходит в очень большом количестве. Затем при встрече с антигеном клетки становятся активированными. При этом мембрана приобретает способность к большой подвижности (значит, способной осуществлять фагоцитоз), а гранулы цитоплазмы с «сигнальными» веществами перемещаются ближе к внутренней поверхности мембраны (Levinson J., 2008). Они становятся готовы в любую минуту выпустить эти вещества. Такой процесс может происходить как в крови, так и в тканях, куда способны проникнуть эти клетки за счет своей способности влиять на проницаемость сосудистой стенки (Драник Г. Н., 2003).

Эозинофилы схожи по строению с нейтрофилами. Они также содержат многочисленные включения цитоплазмы, способны к движению в сторону раздражения (в

данном случае к месту выделения специальных сигнальных молекул). Однако между ними существуют и значительные различия. Во-первых, эозинофилы отличаются большей продолжительностью жизни и способностью к рециркуляции, то есть несколько раз бывать в одном и том же месте организма. При большинстве инфекций эти клетки не проявляют своих основных функций. Однако при паразитарных заболеваниях играют центральную роль в защите организма. Кроме того, повышение содержания данных клеток в крови наблюдается при гиперчувствительности организма. Так же для эозинофилов характерно содержание некоторых химических веществ, способствующих замедлению воспалительной реакции (Риган В. Дж., 2000).

Базофилы являются наименьшей по численности группой гранулоцитов – всего около 0–2 % от их общего числа. Эти клетки отличаются набором химически активных веществ своих цитоплазматических гранул. По большей части эти вещества способствуют поддержанию условий для воспаления. В частности, они способствуют увеличению проницаемости сосудистой стенки капилляров, а значит, косвенно приводят к развитию отека ткани. (Сапин М. Р., 1996; Прозоркина Н. В., 2013).

Моноциты не содержат специальных цитоплазматических включений, но имеют хорошо развитую сеть лизосом – пищеварительных вакуолей. В каждой такой лизосоме содержится несколько видов ферментов. Это необходимо для тщательного переваривания. Причем эти ферменты способны расщеплять все виды биологического субстрата (Полетаев А. Б., 2007). Моноциты, выйдя из красного костного мозга, циркулируют в крови несколько часов – от 5–10 часов до суток. При этом продолжительность их жизни не более 4–6 дней. Моноциты очень быстро покидают кровеносное русло и мигрируют

в различные ткани. Здесь происходит их превращение в макрофаги. Причем для каждого вида тканей существует свой вид макрофага (Петров Р. В., 1981). Например, в печени моноциты превращаются в Купферовские клетки печени, которые осуществляют захват чужеродных частиц из печеночных протоков воротной вены. В легких моноциты превращаются в альвеолярные макрофаги. Здесь, кроме фагоцитирования частиц, они входят в состав аэрогематического барьера. Попадая в соединительную ткань, моноциты становятся свободными гистиоцитами (Кульберг А. Я., 1985), таким образом, выполняя не только иммунную функцию, но и, участвуя в синтезе основного вещества соединительной ткани. В лимфоузлах моноциты превращаются и становятся макрофагами лимфатических узлов. Если иммунокомпетентные клетки оседают на стенки полостей тела, они становятся макрофагами этих полостей. В брюшной полости это перитонеальный макрофаг, между листками плевры – плевральный. В случае попадания моноцитов в кости, они становятся основными клетками, которые осуществляют резорбцию костной ткани – остеокласты. Часть моноцитов остается в красном костном мозге, где они становятся макрофагами. Причем, они могут быть как свободными, так и фиксированными. Здесь их основная задача заключается в фагоцитировании ненужных клеток. В том, что моноциты могут превращаться в такое разнообразие макрофагов, играют большую роль ростковые факторы, выделяемые клетками тканей (Назаренко Г. И., 2000; Райт А. с соавт., 2000; Медведева М. А., 2009).

Основная роль макрофагов заключается в поглощении чужеродных агентов и презентации его антигенов. Данный механизм одинаков для всех видов макрофагов. Вначале происходит фагоцитоз чужеродного тела с формированием полости или фагосомы. После чего к ней

приближаются лизосомы и сливаются с этой фагосомой, что приводит к одной пищеварительной вакуоли, в которой происходит расщепление чужеродного агента. При этом антиген не подвергается никакому разрушению, а в полной целостности доставляется на внешнюю сторону мембраны макрофага. Все это необходимо для лимфоцитов, которые, подойдя к макрофагу «записывают» и «запоминают» структуру антигена (Кисленко В. Н., 2012; Казаринов Н. П., 2014).

Лимфоциты являются главными клетками приобретенного иммунитета. Группы клеток (В- и Т-лимфоциты) начинают образовываться в красном костном мозге. Затем Т-лимфоциты покидают его и переходят в вилочковую железу, где происходит окончательное развитие данных клеток. В отличие от них В-лимфоциты остаются и «дозревают». Только полностью сформированные клетки покидают красный костный мозг. В-лимфоциты выполняют роль «фабрики» антител (Госманов Р. Г. с соавт., 2013). Для этого они способны запоминать структуру антигена, и на основании его строения происходит образование комплиментарных белковых соединений, способных к обезвреживанию, как самого антигена, так и его носителей. В-лимфоциты способны к длительному существованию в течение нескольких лет и десятилетий. Один активированный лимфоцит (правильно его называть плазматической клеткой) способен производить только антитела одного конкретного вида. При созревании Т-лимфоцитов образуется три вида клеток, которые и выполняют иммунные функции (Азаев М. Ш. с соавт., 2015).

Т-хелперы являются своеобразными арбитрами воспалительной реакции и частично всего иммунного ответа. Они при помощи специальных веществ, производимых их синтетическими органеллами, способны

влиять на работу клеток иммунной системы. Все это приводит к усилению иммунного ответа. Т-супрессоры оказывают противоположное действие. Эти клетки способствуют торможению иммунных реакций. Т-киллеры являются главными клетками, которые участвуют в непосредственном уничтожении чужеродных агентов (Скопичев, 2009; Сепиашвили Р. И., 2011).

Специфические механизмы резистентности при инфекционном процессе имеют также большое значение, поскольку у микроорганизмов, как правило, имеется множество разнообразных антигенных детерминант, которые индуцируют поликлональный иммунный ответ. Биологическая особенность возбудителя, а также входные ворота определяют преимущественный характер иммунного ответа – клеточный или гуморальный. В частности, попадание микроорганизмов, размножающихся внеклеточно, как правило, вызывают гуморальный иммунный ответ (Хайтов Р. М., 2000).

В ответ на антигенную стимуляцию организм животных способен вырабатывать антитела, которые являются специфичными на каждый из бесчисленных антигенов. Антитела, или иммуноглобулины, – это группа структурно родственных белков с характерными физико-химическими и биологическими клетками, которые секретируются в кровь или тканевые жидкости. Основная часть иммуноглобулинов относится к гамма-глобулиновой фракции сыворотки (Даричева Н. Н., 2011).

К иммуноглобулинам относят белки животного происхождения, которые обладают функцией антител, и белки, сходные по химической структуре и антигенной специфичности. Функцией антител наделены γ -глобулины (Земсков М. В., 1977). Иммуноглобулины – это гликопротеины, секретируемые плазматическими клетками.

Выработка антител происходит, как правило, после антигенной стимуляции (Деева А. В., 2006). Иммуноглобулины (Ig) относятся к факторам специфического гуморального иммунитета: инактивируют токсины; в комплексе с комплементом препятствуют проникновению вирусов и лизируют бактерии; активизируют фагоцитоз; участвуют в аллергических реакциях; участвуют в деструкции гельминтов (Прозоркина Н. В., 2013).

Известно, что антитела связаны с глобулиновой фракцией сывороточных белков, в альбуминах их нет. Нормальные глобулины по электрофоретической подвижности делят на три фракции γ , β , α , но именно с иммунными γ -глобулинами связаны антитела (Скопичев В. Г., 2009). Альфа-, бета- и гамма-глобулины, в свою очередь, в порядке убывающей электрофоретической подвижности подразделяются на две и более фракции α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , γ_1 , γ_2 . Иммуноглобулины различаются по структуре, антигенному составу и по выполняемым функциям. Классификация иммуноглобулинов разработана в 1964 году Международной комиссией, созданной Отделом иммунологии ВОЗ в Праге (Земсков М. В., 1977). По этим свойствам они распределены на пять классов: IgG, IgM, IgA, IgE, IgD. Молекулы иммуноглобулинов всех пяти классов имеют универсальное строение.

Иммуноглобулины класса G являются наиболее важными в развитии иммунитета, так как на его долю приходится 80 % всех сывороточных иммуноглобулинов (Lunn D. P., 1993). Обладают максимальной способностью проникать в ткани, поэтому наиболее эффективно связывают и удаляют антигены (Магер С. Н., 2014; Gorman N. T., 1995).

Иммуноглобулины класса М – самая крупная молекула из всех пяти классов иммуноглобулинов, они первыми появляются при развитии плода и последними исчезают в старости (Кульберг А. Я., 1985).

Роль и значение сывороточного иммуноглобулина А до сих пор изучены недостаточно. Он не участвует в активации комплемента, в лизисе бактерий и клеток (например, эритроцитов). В то же время обосновано предположение, что сывороточный иммуноглобулин А является основным источником для синтеза секреторного иммуноглобулина А. Последний же образуется лимфоидными клетками слизистых оболочек пищеварительной и дыхательной систем и, таким образом, участвует в системе местного иммунитета, препятствуя инвазии патогенов (вирусов, бактерий и др.) в организм. Это так называемая первая линия защиты организма от инфицирования (Райт А., 2000).

Иммуноглобулин D находится на поверхности В-лимфоцита (вместе с мономерным IgM) в виде mIg, контролируя его активацию и супрессию. Установлено также, что иммуноглобулин D активирует комплемент по альтернативному типу и обладает антивирусной активностью (Osebold J. W., 1982; Полетаев А. Б., 2007).

С иммуноглобулином Е связано представление об аллергических реакциях немедленного типа. Основным методом распознавания специфической сенсибилизации к самым разным аллергенам является исследование общего или суммарного иммуноглобулина Е сыворотки крови, а также титров иммуноглобулин-Е-антител в отношении конкретных аллергенов быта, пищевых веществ, пыльцы растений и т. д. Иммуноглобулин Е активирует также макрофаги и эозинофилы, что может усиливать фагоцитоз или активность нейтрофилов (Коротяев Л. И., 2008; Парфенова В. В., 2000).

Биологические и иммунологические различия между классами иммуноглобулинов имеют большое практическое значение, так как они обуславливают характер реакции, следующей за образованием комплекса «антиген–антитело» (Степаненко М. В., 2000).

Таким образом, все иммунокомпетентные клетки имеют очень четкие механизмы взаимной регуляции. Во многом это происходит благодаря общности происхождения. Конечной целью иммунной системы является уничтожение чужеродного агента, которым может оказаться болезнетворный микроорганизм, инородное тело, ядовитое вещество или переродившаяся клетка самого организма. При этом иммунный ответ регулируется разнообразными механизмами, которые обеспечивают восстановление исходного состояния иммунной системы, после того как реакция на данный антиген перестает быть необходимой.

В основе иммунного ответа с участием специфической системы иммунитета при поступлении в организм чужеродного антигена лежит образование специфических антител или эффекторных клеток определенной специфичности, направленных на распознавание и элиминацию данного антигена.

1.2 Иммунодефициты животных

В XXI веке основными задачами иммунологии стали: изучение молекулярных механизмов иммунитета – как врожденного, так и приобретенного; разработка новых вакцин и методов лечения аллергии, иммунодефицитов, онкологических заболеваний (Хаитов Р. М. с соавт., 2002; электронный ресурс – Википедия).

Нарушение технологии кормления и содержания, неудовлетворительная экологическая ситуация, воздействие других стрессоров на животных сопровождается угнетением иммунной системы, снижением естественной резистентности организма и эффективности профилактики инфекционных болезней (Шахов А. Г., 2006).

Достижением клинической иммунологии за последние годы является доказанный факт, что в основе возникновения и тяжести течения многих заболеваний лежат иммунные расстройства (Федоров Ю. Н., 2013).

Установлено, что неблагоприятные факторы прежде всего воздействуют на иммунную систему, в результате чего происходит инволюция тимуса и лимфоидной ткани, снижение активности иммунокомпетентных клеток и возникает иммунодефицит, приводящий к различным функциональным нарушениям. В иммунной системе организма наиболее уязвимо ее клеточное звено: макрофаги и Т-лимфоциты. Исследования показали (Петрянкин Ф. П., 1995), что при иммунодефицитах обязательно регистрируют уменьшение количества и изменение активности Т-лимфоцитов, что, в свою очередь, повышает риск развития вирусных и бактериальных инфекций, аутоаллергических заболеваний.

Иммунодефицитные состояния характеризуются тем, что иммунная система не способна реагировать полноценным иммунным ответом на различные антигены. Иммунодефициты – это не просто отсутствие или снижение иммунного ответа, а не способность организма осуществлять то или иное звено иммунного реагирования (Thompson J. P., 1994; Плященко С. И., 1991; Тараканов Б. В. с соавт., 2000).

Термин «иммунодефицит» обозначает нарушения нормального иммунологического статуса организма, ко-

торые обусловлены дефектом одного или нескольких механизмов иммунного ответа (Топурия Л. Ю., 2007). Иммунодефицит препятствует сохранению антигенного постоянства и целостности организма, так как при этом нарушаются функции распознавания и контроля со стороны иммунной системы. Вид и степень проявления иммунодефицита зависит от того, какое звено иммунной системы нарушено, и на какой ступени онтогенетического развития оно произошло (Карпенко Л. Ю., 1997; Елисеев Ю. Ю., 2007).

Нарушения защитных систем организма на генетической основе (врожденные, генетически детерминированные) классифицируют как первичные иммунодефициты; приобретенные нарушения – как вторичные иммунодефициты. Иммунодефицитные состояния обуславливаются качественными изменениями защитных факторов или их компонентов (Федоров Ю. Н., 2013). У сельскохозяйственных животных, особенно у молодняка, наиболее часто встречаются возрастные и приобретенные иммунодефициты (Gorman N. T., 1995; Топурия Л. Ю., 2006).

Первичные иммунодефицитные состояния могут быть обусловлены такими факторами как: дефектом или дефицитом кроветворной стволовой клетки, дефектом, дефицитом Т-системы иммунитета или В-системы иммунитета, либо комбинированным их поражением; дефектом системы комплемента (Lopukhin et al. J. M., 1983; Markovae et al. T. P., 1998). При недостаточности гуморального иммунитета преобладают бактериальные инфекции, а при недостаточности клеточного – вирусные и грибковые (Osebold J. W., 1982; Lunn D. P., 1993; Манджиев О. Х., 2008).

При воздействии неблагоприятных факторов на В-лимфоциты, происходит нарушение гуморального звена

иммунитета, отвечающего за выработку антител (иммуноглобулинов) различных классов и обезвреживание антигена за счет антител (Хаитов Р. М., 1995). Недостаточность гуморального иммунитета связана с нарушением со стороны В-клеток и проявляется в склонности к гнойно-воспалительным заболеваниям. Некоторые организмы не способны вообще продуцировать гамма-глобулины и вырабатывают преимущественно неполные антитела (Колычев Н. М. с соавт., 2003).

Вторичные иммунодефициты возникают у животных в постнатальном периоде под влиянием многочисленных иммунодепрессантов и имеют наиболее широкое распространение (Жаров А. В., 2003). Иммунодепрессивные заболевания характеризуются чаще всего нарушением генеза и функций иммуноцитов и неспецифических факторов защиты (Юсупов Р. Х., 2007; Рябов Д. А., 2007). Для них характерны изменения (понижение) естественной резистентности и иммунобиологической реактивности, в первую очередь, генеза и функций лимфоцитов и фагоцитов, других клеточных и гуморальных факторов защиты. При этом нарушения возникают как в клеточных, так и в гуморальных звеньях иммунной системы, а также в системе естественной неспецифической резистентности, то есть они носят комбинированный характер (Жаров А. В., 2003).

Иммунодефицитные состояния необходимо учитывать при селекции, разработке лечебно-профилактических мероприятий в хозяйстве. Дефекты иммунной системы выявляют, используя объективные и чувствительные методы оценки состояния иммунной системы (Санин А. В., 1988; Гончаров А. Г., 1997; Воробьев А. А., 2002).

Появление в арсенале ветеринарных специалистов иммунотропных препаратов оказывает принципиально

новые возможности коррекции у животных иммунодефицитных состояний различного генеза, повышает эффективность традиционной терапии и профилактики болезней (Цыпин А. Б., 1995).

Главной мишенью применения иммуномодулирующих препаратов являются вторичные иммунодефициты различного генеза, которые характеризуются частыми, рецидивирующими, трудно поддающимися лечению инфекционно-воспалительными процессами. Их применение обосновано, если даже иммунодиагностические исследования не выявят отклонений в иммунном статусе, поскольку в основе любого хронического инфекционно-воспалительного процесса лежат изменения в функциональном состоянии иммунной системы (Фисенко С. П., 2006). Клиницисты считают, что в тех случаях, когда показано применение антибиотиков, противогрибковых, противовирусных средств или других химиотерапевтических препаратов, необходимо назначать и иммуномодуляторы (Хлопицкий В. П., 2009).

В связи с этим, в настоящее время в ветеринарии и животноводстве актуальна проблема возникновения, развития и коррекции иммунодефицитных состояний у животных и птицы. В проблеме иммунокоррекции у животных имеется много нерешенных вопросов, главный из которых состоит в диагностике иммунодефицитных состояний и обоснованности применения тех или иных препаратов с иммуностропной активностью. И, этим оправдан значительный интерес ученых к разработке и изучению различных средств, способных положительно влиять на функционирование иммунной системы.

1.3 Современные аспекты иммунокоррекции организма

В 1925 г. Г. Рамон установил, что некоторые вещества способны усиливать процессы иммуногенеза. Эти вещества были названы адъювантами (adjuvant – полезный, помогающий). К адъювантам относят антигенные и неантигенные субстанции, оказывающие неспецифическое стимулирующее влияние на иммунные реакции. Существует категория веществ, именуемых иммуномодуляторами: биологически активные вещества, микробные субстанции и ряд синтетических полимеров. Термины «адъюванты» и «иммуномодуляторы» используются как синонимы (Аминова А. Л., 2006).

Иммуномодуляторы – это лекарственные средства, обладающие иммунотропной активностью, способные корректировать до «нормы» как повышенные, так и подавленные функции иммунной системы (Федоров Ю. Н., 2005).

В последние годы значительно возрос интерес исследователей и практических специалистов к проблеме иммуномодуляции, что связано прежде всего с усилением экологического неблагополучия и возрастающей нагрузкой на организм животных неблагоприятных антропогенных факторов, существенным ростом иммунодефицитных состояний и пониманием того, что развитие большинства патологических процессов обусловлено нарушением функций иммунной системы (Крапивина Е. В., 2001). Иммунная система является индикатором физиологического состояния организма, она чутко реагирует на изменения условий окружающей среды. Нарушение ее функции рассматривают как один из патогенетических механизмов патологического процесса (Мищенко В. А., 2006).

Появление новых физических (радиация), химических (гормоны, антибиотики, пестициды, диоксины) и биологических (прионы) факторов, в том числе антропогенного характера, оказывающих влияние как на патогенность микроорганизмов (стимулируя или ослабляя её), так и на резистентность человека и животных (стимулируя или ослабляя естественную резистентность и специфический иммунитет), нередко приводит к модификации иммунной системы, вызывая иммунодефицитные, аутоиммунные и аллергические состояния (Коромыслов Г. Ф. и др., 1985; Красочко П. А. и др., 2001; Танеева Г. М. с соавт., 2008; Плешакова В. И. и др., 2009).

С иммунобиологических позиций состояние животных в современных условиях характеризуется снижением иммунологической реактивности организма. По данным (Шкуратова И. А., 2008), более 80 % животных имеют различные отклонения в деятельности иммунной системы, что повышает риск заболеваемости острыми болезнями, обусловленными оппортунистическими (условно-патогенными) микроорганизмами.

Развитию иммунодефицитных состояний и других нарушений иммунной системы способствуют содержание большого количества животных на ограниченных площадях, несвоевременная организация и проведение ветеринарно-санитарных, профилактических и противоэпизоотических мероприятий, недостаток или отсутствие инсоляции, активного моциона, полноценного питания. Кроме того, в процессе профилактики и лечения различных заболеваний животных нередко наблюдают достаточно низкую эффективность химиотерапевтических препаратов и других традиционных методов, что чаще всего связывают с низкой иммунологической реактивностью организма животных (Волков М. Ю., 2006; Рябов Д. А., 2007).

В связи с этим возникает необходимость в более широком использовании уже имеющихся и в разработке новых различных приемов и средств, способных стимулировать защитные силы организма животных. Особого внимания для повышения резистентности сельскохозяйственных животных заслуживает использование генетических и фенотипических факторов, а также неспецифических и специфических иммуномодуляторов (Кетлинский С. А., 1992).

Использование генотипических и фенотипических природных факторов не всегда дает полноценную защиту животных и человека от воздействия на их иммунную систему физических, химических и биологических факторов. Массовое использование в течении многих десятилетий антибиотиков и других антиинфекционных препаратов способствовало сохранению организмов с ослабленной иммунной системой и накоплению в популяциях животных значительной доли иммунодефицитных генотипов (Лазарева Д. Н., 1985). К тому же эволюция микроорганизмов происходит настолько быстро, что в медицине, в том числе ветеринарной, создание препаратов против новых штаммов и типов возбудителей инфекционных болезней нередко отстает от темпов эволюции микроорганизмов. В связи с этим возникает необходимость непрерывного поиска новых путей эффективных средств защиты от реальных инфекционных заболеваний, в том числе посредством воздействия на иммунную систему (Савченкова И. П., 2011).

Все средства, воздействующие на иммунную систему, могут быть отнесены к иммуномодуляторам, так или иначе изменяющих активность иммунных процессов организма животных (Соколов В. Д., 1992).

Одни иммуномодуляторы воздействуют на иммунную систему в сторону ее усиления (иммуностимуляторы), другие – в сторону ослабления (иммуносупрессоры); первые используются при лечении иммунодефицитных состояний, вторые – при аутоиммунной патологии и трансплантации аллогенных тканей. Эффект иммуномодуляторов зависит от их свойств и дозы, а также от исходного состояния иммунной системы (Деева А. В., 2008).

Кроме того, интерес к иммуномодуляторам со стороны практикующих ветеринарных врачей обусловлен возрастающей неэффективностью традиционных методов терапии заболеваний, ростом устойчивости патогенов к традиционным лекарственным средствам (Федоров Ю. Н., 2006).

Разновидностью иммуномодуляции является иммунокоррекция – доведение до нормы исходно-измененной активности иммунной системы или ее компонентов. Оптимальным является использование иммунокорректоров, не влияющих на нормально функционирующие компоненты иммунной системы и изменяющие их активность лишь в случае нарушений (Воронин Е. С., 1989; Волков М. Ю., 2006).

Для иммуномодулирующей профилактики и терапии возможно использование как неспецифических, так и специфических иммуномодуляторов (Степаненко Р. Н., 1991; Смоленцев С. Ю., 2011).

В связи с тем, что иммунологические нарушения клеточного механизма и возникновение ряда патологических процессов, которые нормализуются под влиянием неспецифических иммунокорректоров, в последние годы для устранения иммунологических расстройств все более широкое применение находят препараты общего действия (Злобина Ж. М., 1999).

Список иммуномодуляторов велик и с каждым годом продолжает увеличиваться. По источнику происхождения иммуномодуляторы делят на экзогенные, эндогенные и синтетические. Существующие классификации немного расширены с учетом современных препаратов (Шагияхметов Ю. С. и соавт., 2009):

- иммуномодуляторы эндогенного происхождения (пептиды тимуса, костного мозга, селезенки, гормоны и медиаторы нейроэндокринной системы, цитокины), обеспечивающие физиологические параметры гомеостаза организма животных (Санин А. В., 1988; Кетлинский С. А., 1992);

- иммуномодуляторы экзогенного природного происхождения (Воробьев А. А., 2002; Ермолаев В. А. и соавт., 2009);

- иммуномодуляторы экзогенные синтетические (Полетаев А. Б., 2007; Деева А. В., 2008).

В качестве мишеней неспецифических иммуномодуляторов могут быть стволовые клетки, В- и Т-лимфоциты, клетки иммунологической памяти, вспомогательные клетки, иммуноглобулины различных классов. Некоторые препараты – тимусные производные, В-активин, липополисахариды, риботан, интерфероны – могут влиять на все основные звенья иммунологической реактивности (специфические и неспецифические факторы) (Шкуратова И. А., 2008).

В литературных источниках (Лазарева Д. Н., 1985; Машковский М. Д., 1993; Даричева Н. Н., 2011; Ерёмин С. П., 2013) имеется информация об использовании для повышения резистентности млекопитающих нетрадиционных подходов с использованием фитопрепаратов, адъювантов интерферона, поливак-Н, и тканевых биостимуляторов. Что касается последних, казалось бы, эра тканевых стимуляторов ушла в прошлое, но в последнее

время появляются статьи, направленные на изучение производных клеток костного мозга. Ведь родоначальником иммунной системы организма млекопитающих является его стволовая клетка, участвующая как в клеточном, так и в гуморальном иммунитете (Калюжин О. В., 1999).

Понятие «стволовые клетки» впервые появилось в России еще в начале прошлого века. Тогда великий российский гистолог А. А. Максимов, изучая процесс кроветворения, пришел к выводу об их существовании. Стволовые клетки могут давать начало любым клеткам организма – и кожным, и нервным, и клеткам крови. Сначала полагали, что во взрослом организме таких клеток нет, и существуют они лишь в самом раннем периоде эмбрионального развития. Однако в 1970-е годы А. Я. Фриденштейн с соавторами обнаружили стволовые клетки в мезенхиме (строме) «взрослого» костного мозга; в дальнейшем их стали называть стромальными клетками. Тогда же появились работы, доказывающие наличие стволовых клеток практически во всех органах взрослых животных и человека. В связи с этим принято разделять стволовые клетки на эмбриональные стволовые клетки (выделяют из эмбрионов на стадии бластоциты – очень ранней стадии развития) и региональные стволовые клетки (выделяют из органов взрослых особей или из органов эмбрионов более поздних стадий), которые сохраняют свойства эмбриональных клеток, о чем свидетельствуют обнаруженные в них эмбриональные белковые маркеры (Гончаров А. Г., 1997; Корочкин Л. И., 2005).

Использование стволовых клеток, выделенных как из ранних предимплантационных эмбрионов, так и из тканей и органов взрослой особи, является актуальным (Савченкова И. П., 2009). Легкость их выделения и доступность биологического материала (подкожный жир, костный мозг, кожа, плацента) делают их перспективным

материалом для ветеринарии. Стволовые клетки являются современной клеточной моделью для проведения фундаментальных исследований в биологии, медицине и ветеринарии (Савченкова И. П., 2011).

Восстановление иммунореактивности возможно при введении в организм недостающих ему медиаторов, полученных из материалов от здоровых животных (Морозов В. Г. с соавт., 1981; Хавинсон В. Х. и др., 1991). На основе биологически активных веществ, вырабатываемых в организме животных, с 70-х годов XX столетия началось создание эндогенных биостимуляторов, обладающих иммунокорректирующим действием. К ним в настоящее время могут быть отнесены как натуральные, так и рекомбинантные препараты цитокинов и медиаторов, а также их синтетические аналоги (Топурия Г. М., 2011). Такие препараты по сравнению с чужеродными для организма химическими соединениями являются продуктами естественных метаболических процессов, не нарушают нормальную жизнедеятельность клеток (Шевкопляс В. Н., 2001).

В то же время эндогенные биостимуляторы включаются в реакции, соединяясь со специфическими рецепторами, экспрессия которых зависит от процессов, протекающих в иммунной системе, что обеспечивает оптимальную естественную коррекцию возникающих нарушений. Эти препараты эффективны в очень малых дозах, относительно безопасны для организма, так как они не накапливаются в организме, а утилизируются в результате естественных обменных процессов, нетоксичны и не вызывают побочных эффектов (Машковский М. Д., 1993). К эндогенным биостимуляторам, полученным на основе биологически активных веществ природного про-

исхождения, относятся прежде всего В-активин и препараты тимуса (Мирошниченко И. В. и др., 1997; Мозжерин В. И., 2000).

Для коррекции иммунного ответа организма в нашей стране и за рубежом используют иммуностимуляторы. Целесообразность их применения в животноводстве подтверждается активизацией некоторых процессов в организме (Королев В. М., 1963; Соколов В. Д., 1992). Иммуномодуляторы могут применяться как при комплексной терапии, так и в виде монотерапии, особенно в зонах экологического неблагополучия. Развивающиеся тенденции в создании новых эффективных иммуномодуляторов на основе современных технологий (генная инженерия и биотехнология), позволяют надеяться на решение проблемы иммунокоррекции (Anderson I. C., 1977; Зотова В. В. и др., 1982; Бессарабов Б. Ф., 1994; Крапивина Е. В., 2001).

При выборе эффективных средств иммунокоррекции оценивается способность препаратов селективно влиять на определенные звенья иммунной системы (Эдиев А. У., 2012). Одним из способов активизации защитно-приспособительных функций организма животных к условиям содержания, снижения стрессовой нагрузки на организм и более полной реализации биологического потенциала резистентности и продуктивности животных является применение биологических стимуляторов с широким спектром действия (Папуниди К. Х., 2010).

Первые миелопептиды (МП) обнаружены в экспериментах со смешанными культурами. В них клетки, продуцирующие антитела (АПК) – лимфоидные клетки мышей, иммунизированных эритроцитами овцы, – культивировали вместе с клетками костного мозга неиммунных мышей. Так удалось доказать, что клетки костного

мозга образуют гуморальные факторы, влияющие на уровень продукции антител в популяции зрелых АПК (Петров Р. В., 1998).

Родоначальником препаратов костномозгового происхождения является Миелопид, в состав которого входит комплекс биорегуляторных пептидных медиаторов – миелопептидов (МП) с молекулярной массой 500–3 000 D, продуцируемых клетками костного мозга свиньи (Злобина Ж. М., 1999). В настоящее время установлено, что Миелопид включает 6 МП, каждый из которых обладает определенным биологическим эффектом. Первоначально предполагалось, что препараты из костного мозга будут преимущественно воздействовать на развитие гуморального иммунитета. В дальнейшем было установлено, что различные МП влияют на разные звенья иммунной системы. Аминокислотный состав МП полностью расшифрован, что послужило предпосылкой для разработки новых синтетических препаратов костномозгового происхождения (Маркова Т. П., 1995; Кирилина Е. А., 1998; Федоров Ю. Н., 2005).

Введение Миелопида обеспечивает возрастание числа Т- и В-клеток, а также фагоцитов в периферической крови, восстанавливает антителообразование у животных, подвергнутых облучению, воздействию цитостатиков и антибиотиков (Петрова И. В., 1989; Волков М. Ю., 2006).

На основе МП-3 был создан Серамил, обладающий высокой антибактериальной активностью, нетоксичен, не проявляет мутагенности, не обладает аллергизирующими и местно-раздражающими свойствами, не проявляет эмбриотоксических и тератогенных свойств (Петров Р. В., 2000).

На основе МП-2 создан Бивален с противоопухолевым эффектом и на основе миелопептида-5; Биваласп,

также с противоопухолевым эффектом (Mikhailova A. A., 1990; Степаненко Р. Н., 2000).

В-активин, разработанный сотрудниками Института иммунологии РАМН и МГАВМиБ, представляет собой препарат из ребер молодых свиней, полученный на основе миелопептидов, синтезируемых клетками костного мозга и обладающих иммуностимулирующей активностью. В-активин восстанавливает и усиливает антителообразование при различных дефицитах этого процесса, восстанавливает активность Т-лимфоцитов, в том числе пролиферативную, стимулирует организм, усиливает дифференцировку клеток в костном мозге, тем самым повышая способность организма противостоять различным агентам, ускоряя их инактивацию (Нестерова И. В., 2002).

Иммуномодулирующий препарат Витулин проявляет противовоспалительное и гепатотропное свойства и обладает антибактериальным действием в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, патогенных грибов, простейших. При парентеральном введении он продуцирует эндогенный гамма-интерферон (Тулева Н. П., 2006).

Лигфол, Селедант и Лигавирин способствуют стабилизации показателей Т- и В-клеточного иммунитета и оказывают стимулирующее влияние на продукцию специфических агглютининов. Данные препараты проявили адаптогенное действие при родовом стрессе, позитивное влияние на напряженность поствакцинального иммунитета у животных (Шахов А. Г., 2006; Суржикова Е. С., 2011).

Антавин стимулирует прирост живой массы животных, активизирует эритропоэз, способствует увеличению содержания В-лимфоцитов, фагоцитарной активности

нейтрофилов и их переваривающей способности, повышению концентрации глобулиновой фракции (Шевкопляс В. Н., 2001).

Для ускорения регенерации незаживающих ран (язв) применяют различные фармакологические средства, в том числе биостимуляторы, действующие на клеточном, тканевом, системном уровнях и на организм в целом. Биостимулятор из мозговой ткани мозга (БСМ) – продукт комплексного воздействия охлаждения, облучения ультрафиолетовыми лучами и лиофилизации на нативные ткани головного мозга крупного и мелкого рогатого скота. Исследования показали (Мединцев А. Е., 2009), что применение препарата БСМ оказывает стимулирующее действие на гематологические, биохимические показатели крови и сокращает срок выздоровления животных.

В результате многолетних исследований показано, что препараты тимуса (тимоген, тимозин, тактивин, тималин), не обладая какой-то определенной специфичностью, способны восстанавливать нарушения в системе иммунитета и оказывают одинаковое иммуномодулирующее действие, независимо от методики их выделения (Goldstein et al., 1966; Bach J. F. et al., 1971; Mutchnick M. G. et al., 1991; Морозов В. Г., 1981; Арион В. Я. в соавт., 1981; Смирнов В. С. и др., 2004).

Олетим – препарат из тимуса северного оленя, содержащий комплекс полипептидов с молекулярной массой от 1,0 до 10,0 кДа, включая получаемый из тимуса млекопитающих тимозин. Установлено, что препарат оказывает иммуномодулирующее действие на Т-систему иммунитета и опосредованно на В-систему, индуцирует пролиферацию и дифференцировку предшественников Т- и В-лимфоцитов в зрелые иммунокомпетентные клетки, нормализует взаимодействие Т- и В-лимфоцитов,

активирует фагоцитарную функцию нейтрофилов, стимулирует мегакариоцитарный росток (Топурия Л. Ю., 2006; Смоленцев С. Ю., 2011; Даричева Н. Н., 2011; Набиев Ф. Г., 2011).

Препарат из костного мозга лисиц (ПКМЛ) существенно влияет на физиологические функции, изменяя морфологический состав крови лабораторных животных, повышая количество лейкоцитов за счет достоверного увеличения моноцитов и лимфоцитов, повышая уровень общего белка и глобулиновых фракций и увеличивая фагоцитарную активность нейтрофилов (Зарицкая В. В. с соавт., 2008).

Таким образом, иммуномодуляторы обладают иммуностропной активностью, в терапевтических и профилактических дозах восстанавливают функции иммунной системы – обеспечивают эффективную иммунную защиту. Эти препараты действуют преимущественно на измененные параметры, понижая повышенные и повышая пониженные показатели иммунной системы. Несмотря на значительное количество лечебно-профилактических препаратов, многие вопросы, касающиеся лечения и профилактики иммунодефицитных состояний, остаются нерешенными. Анализируя имеющуюся информацию по затронутой проблеме, сегодня можно констатировать, что исследование проблемы иммунокоррекции с помощью препаратов костномозгового происхождения, являющихся модуляторами физиологического происхождения, весьма актуально.

1.4 Костный мозг как источник получения препаратов для иммунокоррекции организма животных

Специфическая система иммунитета имеет свои центральные и периферические органы, в которых образуются, дифференцируются и созревают лимфоциты (Gresco D. S., 1994; Радчук Н. А. и др., 1991). Клетки иммунной системы, на которые возложены ключевые функции по осуществлению приобретённого иммунитета, относятся к лимфоцитам, которые являются подтипом лейкоцитов. Большая часть лимфоцитов отвечает за специфический приобретённый иммунитет, так как могут распознавать возбудителей инфекции внутри или вне клеток, в тканях или в крови (Воронин Е. С. и др., 2002). Лимфоциты по лимфатическим и кровеносным сосудам, межклеточным щелям проникают в самые отдаленные участки тела, распознают и уничтожают чужеродные в генетическом отношении вещества, в том числе микробной природы, нередко погибая при этом (Никитин Е. Б., 2004).

Иммунные (лимфоидные) органы подразделяются на две группы:

1) первичные (центральные) – в них происходит «обучение» лимфоцитов; для Т-клеток этот процесс идет в тимусе, а для В-клеток – в бурсе (сумка Фабрициуса) у птиц и в костном мозге у млекопитающих;

2) вторичные (периферические) – в них лимфоциты «работают», то есть обезвреживают антигены; к этим органам относятся селезенка, лимфатические узлы, лимфоидная ткань, ассоциированная с кожей, большой сальник и периферические лимфатические фолликулы, которые можно обнаружить практически в любом органе и ткани (Пол У., 1988).

Не являясь непосредственно лимфоидным органом, красный костный мозг принадлежит к органной иммунной системе (Магер С. Н., 2014). Костный мозг – основной орган гемопоэза, в нем находится самоподдерживающаяся популяция стволовых клеток, из которых в дальнейшем образуются Т- и В-лимфоциты. У млекопитающих в костном мозге созревают В-линии лимфоцитов, несущие поверхностные иммуноглобулины (Колычев Н. М., 2003). Костномозговые клетки являются иммуномодуляторами (Парфенова В. В., 2001).

Костный мозг локализован во внутренней полости трубчатых костей и представляет собой тканевое объединение ретикулярной стромы, плотно упакованных гемопоэтических и лимфоидных клеток, а также разветвленной сети капилляров (Азаев М. Ш. и др., 2015). Костный мозг является одновременно органом кроветворения и органом иммунной системы. Кроветворение поддерживается в течении всей жизни в костном мозге плоских костей – грудине, ребрах, крыльях подвздошной кости, костях черепа и в позвонках. Строма костного мозга поддерживает пролиферацию и дифференцировку эритроидного (лейкоциты) и мегакариоцитарного (тромбоциты) ростков кроветворения (Радчук Н. А. и др., 1991).

В костном мозге происходит дифференцировка всех лейкоцитов крови. После выхода из костного мозга в периферические ткани все лейкоциты, кроме лимфоцитов, в норме никогда не пролиферируют; они могут быть лишь активированы к выполнению своих функций, предназначенных в процессе дифференцировки (Магер С. Н. и др., 2014).

Основу органа составляет ретикулярная ткань, в ячейках которой находятся клеточные элементы как миелоидной ткани, так и лимфоидной (Райт А., 1991). Рети-

кулярная строма костного мозга включает в себя следующие клетки: фибробласты, остеобласты, эндотелиальные клетки (образующие внутреннюю оболочку кровеносных сосудов) и клетки жировой ткани (Репин В. С. и др., 2002).

Предшественниками всех клеток – форменных элементов крови являются гемопоэтические стволовые клетки костного мозга, которые могут дифференцироваться двумя путями: в предшественников миелоидных клеток (миелопоэз) и в предшественников лимфоидных клеток (лимфопоэз) (Потёмкина Е. Е. и др., 2003; Савченкова И. П., 2011).

Дифференцировка лимфоцитов, называемая иммунопоэзом, происходит последовательно в центральных, или первичных, лимфоидных органах (тимусе, костном мозге, фабрициевой сумке) и периферических, или вторичных лимфоидных органах (лимфатических узлах, селезенке, миндалинах и др.). В центральных органах иммунной системы осуществляется первичная, антигеннезависимая (в отсутствие антигена) дифференцировка так называемых нулевых лимфоцитов с превращением их в Т-лимфоциты (в тимусе) и В-лимфоциты (в костном мозге млекопитающих). Завершающая, антигензависимая (в присутствии антигена) дифференцировка лимфоцитов происходит в периферических органах иммунитета, где Т-лимфоциты приобретают способность осуществлять иммунный ответ клеточного типа, а В-лимфоциты – гуморальный ответ путем выработки антител (Хаитов Р. М., 2001).

Согласно общепризнанной теории клональной селекции, каждый лимфоцит в процессе своего развития в центральных органах иммунитета приобретает способность реагировать лишь с определенным антигеном, еще

ни разу с ним не встречавшись. Предполагается, что иммунная система состоит из миллионов различных клонов (семейств) Т- и В-лимфоцитов (клон – это потомство одной клетки) (Магер С. Н., 2014). Все клетки одного клона имеют на поверхности одинаковые белки-рецепторы, позволяющие им связывать ту или иную «антигенную детерминанту» (определенную группу атомов в молекуле антигена). Каждый клон «знает» единственный антиген, а все клоны лимфоцитов в совокупности «знают» все возможные в природе антигены. Чужеродный антиген, избирательно связываясь лишь с клетками, имеющими комплиментарные ему специфические рецепторы, стимулирует в периферических органах иммунной системы размножение этих клеток и созревание их потомков, вызывая тем самым иммунный ответ именно на этот антиген (Lewis P. M., 1989; Радчук Н. А. и др., 1991; Кисленко В. Н., 2012).

Важнейшей функцией Т-лимфоцитов является возможность не только разрушать и удалять инфицированные клетки, но и обеспечить содействие целостности организма, ограничивая разрушительные процессы (Коротяев А. И., 2008). Т-лимфоциты выполняют ведущую роль в реакциях клеточного иммунитета. Доказано, что на их поверхности имеются иммуноглобулиновые рецепторы, участвующие в антигенном распознавании (Александров И. Д., 2001).

Иммунные клетки в лимфоидных органах представлены в основном лимфоцитами, причем среди этих клеток преобладают малые лимфоциты, имеющие крупное, интенсивно окрашенное ядро и очень небольшой ободок цитоплазмы вокруг него. Большие лимфоциты в два раза больше малых, ядро слабо окрашено, цитоплазма относительно большая. Средние лимфоциты по

своим цитологическим характеристикам занимают промежуточное положение (Андерсон Ш. К., 2007). Необходимо подчеркнуть, что лимфоциты постоянно рециркулируют между иммунными органами, тканями, лимфатическими сосудами, кровью и вновь иммунными органами, причем считается, что в тимус и костный мозг они никогда обратно не возвращаются (Риган В. Дж., 2000).

Среди ретикулярных клеток наиболее часто встречаются фибробластоподобные, которые, видимо, и регулируют процесс дифференцировки В-лимфоцитов. К клеточным элементам костного мозга следует отнести и эндотелиальные клетки синусоидных гемокапилляров (Гаркави Л. Х., 1990).

Установлено наличие двух классов В-клеток: В-эффекторы и В-регуляторы. Эффекторными клетками В-лимфоцитов являются антителообразующие клетки (плазматические), синтезирующие антитела одной специфичности, то есть против одной антигенной детерминанты. В-регуляторы, в свою очередь, делятся на супрессоры и усилители. Функция регуляторов заключается в выделении медиаторов, угнетающих продукцию ДНК в Т- и В-лимфоцитах только в пределах костного мозга, а также усиление В-эффекторов (Колычев Н. М. с соавт., 2003).

В-клетки отвечают за гуморальное звено приобретённого иммунитета, то есть вырабатывают антитела (Воронин Е. С., 2002). В-клетки, мигрирующие из костного мозга вместе с кровью, заселяются в зависимые зоны периферических органов и структур иммунной системы (селезенку, лимфатические узлы, лимфоидные узелки стенок органов пищеварения и др.), где из них дифференцируются эффекторные клетки – В-лимфоциты памяти и антителообразующие плазмоциты. Следует указать, что в костном мозге происходит и образование

антител. Значительная часть В-2 лимфоцитов («классических» – «давно известных»), пройдя «курсы иммуногенеза» в периферических лимфоидных органах и превратившись в плазмциты, возвращаются в костный мозг, где в течении нескольких дней продуцируют большое количество антител (Хаитов Р. М. с соавт., 2000).

Предшественники второй субпопуляции В-лимфоцитов (В-1) в период эмбриогенеза поступают из костного мозга в брюшную и плевральную полости, где (автономно от костного мозга) поддерживают дифференцировку «полостных» В-1-лимфоцитов в течение всей жизни без регенерации за счет стволовой кроветворной клетки костного мозга (Litman G., 2005; Староселов М. А, 2008).

На территории костного мозга из общего предшественника всех лимфоцитов, помимо В-2-лимфоцитов проходят дифференцировку также естественные киллеры и дендритные клетки.

Четвертый потомок предшественника лимфоцитов запрограммирован к дифференцировке в Т-лимфоциты, для чего мигрирует из костного мозга в тимус и какая-то его часть – в слизистые оболочки, в основном желудочно-кишечного тракта (Воронин Е. С., 1990; Андерсон Ш. К., 2007).

В-клетка при распознавании антигена связывается своим иммуноглобулиновым антигенраспознающим рецептором с соответствующей антигенной детерминантой, которая, как правило, не совпадает с участком антигена, распознаваемым Т-клеткой.

Из вышеизложенного можно сделать вывод, что функция В-лимфоцитов заключается прежде всего в выработке антител – гуморального субстрата специфиче-

ского иммунитета, действие которых направлено, главным образом, против внеклеточно расположенных возбудителей (Markova Т. Р., 1997; Воронин Е. С., 1989).

Так как неблагоприятные факторы, в основном, воздействуют на иммунную систему, в результате чего происходят инволюция тимуса и лимфоидной ткани, снижение активности иммунокомпетентных клеток и возникает иммунодефицит, приводящий к различным функциональным нарушениям. В иммунной системе организма наиболее уязвимо ее клеточное звено: макрофаги и Т-лимфоциты. Исследования показали (Йегер Л., 1990), что при иммунодефицитах обязательно регистрируют уменьшение количества и изменение активности Т-лимфоцитов, что в свою очередь, повышает риск развития вирусных и бактериальных инфекций, аутоаллергических заболеваний (Драник Г. Н., 2003).

При воздействии неблагоприятных факторов на В-лимфоциты происходит нарушение гуморального звена иммунитета, отвечающего за выработку антител (иммуноглобулинов) различных классов и обезвреживание антигена за счет антител (Thompson J. Р., 1995; Никитин Е. Б., 2004).

Костный мозг – один из источников иммунокомпетентных клеток, производными которых являются белки, применяемые в качестве модуляторов для повышения резистентности организма животных (Корочкин Л. И., 2005). В настоящее время охарактеризован гуморальный фактор костного мозга и изучены его некоторые физико-химические свойства (Ройт А., 1991). Известно, что стимулятор антигенных популяций (САП) белковой природы, активность фракций которого зависит от количества, содержащегося в них белка (Земсков А. М., 1994). Кроме того, важной особенностью фактора костного

мозга является то, что эффект стимуляции антителообразования под влиянием надосадочной жидкости, полученной от культур клеток костного мозга, не зависит от генотипа доноров этих клеток (Пол У., 1988).

В литературных источниках (Ляшенко В. А., 1988; Зарицкая В. В., 2006; Кирилина Е. А., 1998) имеется информация о получении из костного мозга биологически активных препаратов. Так, Л. И. Юрченко (1972) из губчатого вещества костей получил тканевой препарат, который испытал на лошадях, жвачных и всеядных. Данный тканевой биостимулятор увеличивал количественные показатели макроэлементов (кальция, фосфора) в крови, повышал накопления гаммаглобулинов и увеличивал фагоцитарную активность нейтрофилов в два–восемь раз (URL: <http://www.ibmed.ru>).

Стимулирующий эффект производных клеток костного мозга на иммунную систему животных подтвержден и другими исследователями. И. А. Калашник (1974) получил тканевой препарат из костного мозга, применение которого позволило увеличивать выработку специфических антител при иммунизации животных в восемь раз (Маркова В. И., 1995). По данным Л. А. Захаровой (1974) и Р. В. Петрова с соавт. (1986), клетки костного мозга продуцируют гуморальные вещества, стимулирующие антителогенез (как инициативную, так и продуктивную фазу). Так же, А. А. Михайлова (1978) получила из клеток костного мозга стимулятор антителопродукции, который при испытании на грызунах показал стимулирующий эффект иммунной системы, являясь медиатором взаимодействия клеток на уровне зрелых антителопродуцентов. Исследования последних лет позволили установить, что большинство растворимых медиаторов имеют белковую природу (Парфенова В. В., 2000; Ре-

пин В. С., 2002). Исследования, проведенные Л. А. Захаровой (1980) показали, что костномозговые клетки являются не только производными модуляторов, но и оказывают анальгезирующий и эндорфиноподобный эффект на организм, а часть из них выполняет функцию тимоцитов, активизирует клеточный иммунный ответ (Зарицкая В. В., 2008; Корочкин Л. И., 2005).

В то же время, по данным Г. В. Идовой, М. А. Чейдо, Е. Л. Альпериной (1990), в костном мозге имеются клетки супрессоры, подавляющие антителообразование В-лимфоцитов, находящихся в костях. Они же при контакте с клетками селезенки, участвующими в гуморальном иммунитете, подавляют их активность. В подтверждение этого свидетельствует то, что полученные лизаты из костного мозга отрицательно воздействовали на накопление специфических антител как у овец, так и у морских свинок (Земсков А. М. 1982; Калюжин О. В., 1999).

Кроме этого, установлено, что биологическая активность экстрактов иммунных органов животных (тимуса, костного мозга и селезенки) сохраняется после убоя (Телишевская Л. Я., 1999; Федоров Ю. Н., 2005).

Таким образом, костный мозг и его клетки играют важную роль в функционировании иммунной системы. Функционирование В- и Т-лимфоцитов обеспечивает специфический гуморальный и клеточный иммунитет. Однако, определение роли стволовых клеток костного мозга, В-регуляторов и В-эффекторов, требует дальнейших исследований.

2 СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОСТНОГО МОЗГА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ДИКИХ ЖИВОТНЫХ

2.1 Цитологический состав костного мозга сельскохозяйственных и диких животных

В литературных источниках (Бессарабов Б. Ф., 1994; Кирилина Е. А., 1998; Воробьев А. А., 2002; Манджиев О. Х., 2008; Ерёмин С. П., 2013) можно найти информацию об использовании тканевых биостимуляторов, в которой описывается возможность использования костного мозга как продуцента стимуляторов гуморальной защиты иммунитета. В костном мозге находится основная часть стволовых кроветворных клеток, происходит развитие клеток лимфоидного и миелоидного рядов. Здесь же осуществляется универсальное кроветворение. На этом основании можно утверждать об актуальности использования костного мозга (Колычев Н. М., 2003; Госманов Р. Г., 2013; Магер С. Н., 2014; Азаев М. Ш., 2015).

Материалом для исследований послужили клетки костного мозга сельскохозяйственных и диких животных (крупный рогатый скот – 6 голов, мелкий рогатый скот – 6 голов, лось – 6 голов, сибирская косуля – 9 голов), взятые от здоровых животных разных возрастных категорий. Материал от животных распределили на группы по возрастному критерию. Возраст диких жвачных животных (сибирской косули, лося) определяли по методу оценки экстерьера животного и по состоянию зубов

(Сенчик А. В. в соавт., 2004; Машкин В. И., 2013). Возраст сельскохозяйственных животных определяли общепринятыми методами (Степанов Д. В., 2012).

Для изучения цитологического состава, окрашивание мазков костного мозга сельскохозяйственных и диких животных проводили методами Райт-Гимза, Gimsa-Kwik-Diff и модернизированным методом Паппенгейма. Каждый мазок исследовали по методу Н. А. Аринкина (Елисеев Ю. Ю., 2007).

Таблица 2.1 – Эффективность окраски клеток костного мозга различными методами у различных видов животных молодых особей, (n=3)

Методы окраски	Виды животных											
	КРС (10–12мес)				Коза (до 1 года)				Сибирская козуля (одно–двухлетние)			
	Миелоидная линия	Эритроидная линия	Моноцитарная линия	Лимфоцитарная линия	Миелоидная линия	Эритроидная линия	Моноцитарная линия	Лимфоцитарная линия	Миелоидная линия	Эритроидная линия	Моноцитарная линия	Лимфоцитарная линия
по Паппенгейму	+	0	+	+	Δ	+	+	+	+	+	Δ	+
по Лейшману	Δ	+	+	0	0	Δ	+	0	Δ	Δ	+	Δ
по Романовскому – Райту	Δ	0	+	Δ	Δ	+	0	0	0	+	+	Δ
по Gimsa-Kwik-Diff	Δ	+	+	+	+	Δ	+	Δ	Δ	+	0	Δ

Примечание: + клетки окрашиваются хорошо; Δ – клетки окрашиваются плохо; 0 – клетки не окрашиваются.

Наиболее полное представление о состоянии кроветворной системы дает цитологическое исследование костного мозга, которое играет большую роль в медицинской и ветеринарной практике. Из апробированных нами методов окраски костного мозга животных молодых особей получены следующие результаты (табл. 2.1). Достаточно хорошо окрашиваются клетки всех линий методом Паппенгейма, за исключением эритроцитарной линии у коров и моноцитарной линии у козули.

При окраске по Лейшману не достаточно хорошо окрашивался эритроидный ряд клеток у козы и козули, не окрашивался лимфоцитарный ряд у коров и коз и плохо окрашивался у козули. По методу Романовского-Райта не окрашивались клетки миелоидной линии у козули, и достаточно плохо у коров и коз. По ускоренному методу Giemsa-Kwik-Diff плохо окрашивались клетки эритроидного ряда у коз и клетки моноцитарного рядов у козули, клетки лимфоцитарного ряда хорошо окрашивались только у коров.

При окраске мазков костного мозга домашних и диких животных средневозрастных особей (2,5–3,5 года) получены следующие результаты (табл. 2.2). Также, как и у молодых особей хорошо окрашиваются клетки всех линий методом Паппенгейма, за исключением миелоидной линии у коз, и эритроидной линии у коров.

При окраске по Лейшману не достаточно хорошо окрашивался эритроидный ряд клеток у козы и козули, плохо окрашивался миелоидный ряд у всех животных. По методу Романовского-Райта не окрашивались клетки миелоидной линии у козули, и достаточно плохо у коров и коз. По ускоренному методу Giemsa-Kwik-Diff плохо окрашивались клетки моноцитарного рядов у козули и

2 Сравнительная характеристика костного мозга
сельскохозяйственных и диких животных

коз, клетки лимфоцитарного ряда хорошо окрашивались только у коров.

Таблица 2.2 – Эффективность окраски клеток костного мозга различными методами у различных видов животных средневозрастных особей, (n=3)



Методы окраски	Виды животных											
	КРС (2,5–3 года)				Коза (2,5–3 года)				Сибирская косуля (средневозрастные)			
	Миелоидная линия	Эритроидная линия	Моноцитарная линия	Лимфоцитарная линия	Миелоидная линия	Эритроидная линия	Моноцитарная линия	Лимфоцитарная линия	Миелоидная линия	Эритроидная линия	Моноцитарная линия	Лимфоцитарная линия
по Паппенгейму	+	Δ	+	+	Δ	+	+	+	Δ	+	+	+
по Лейшману	Δ	+	Δ	Δ	+	Δ	+	0	0	Δ	+	0
по Романовского – Райта	Δ	0	0	+	+	+	+	Δ	Δ	+	0	Δ
по Gimsa-Kwik-Diff	Δ	+	Δ	+	Δ	Δ	+	+	+	Δ	+	Δ

Примечание: + клетки окрашиваются хорошо; Δ – клетки окрашиваются плохо; 0 – клетки не окрашиваются.

Таким образом, более оптимальным методом окраски мазков костного мозга сельскохозяйственных и диких животных можно считать метод Паппенгейма, при

котором достаточно хорошо окрашиваются клетки всех линий, за исключением миелоидной, клетки которой окрашиваются слабо, что может быть связано с малым временем окрашивания мазков.

Эффективность окрашивания отдельных клеток у ко-сули по методу Паппенгейма (табл. 2.3), можно оценить следующим образом.

Таблица 2.3 – Особенность окрашивания клеток костного мозга у ко-сули (молодых особей) по методу Паппенгейма

Последовательность окрашивания					Состояние окрашенных клеток			
время окраски Мая-Грюнвальда	pH краски, ед.	время окрашивания с использованием			Миелоидная линия	Эритроидная линия	Моноцитарная линия	Лимфоцитарная линия
		дистиллированная вода	краска Романовского, в разведении 1:3	фосфатный буфер				
2 мин	7	2 мин	15 мин	1	+	+	Δ	+

Клетки эритроидного ряда имеют большое круглое ядро, занимающее большую часть клеток и окрашиваются в светлый красно-фиолетовый цвет, цитоплазма более светлая. Клетки предшественники гранулоцитов имеют вытянутое ядро и голубую цитоплазму. Клетки моноцитарного ряда имеют небольшое количество голубой цитоплазмы, ядро большое, бледно окрашенное. Клетки лимфоидного ряда с круглым или овальным ядром и незначительным количеством светло-голубой цитоплазмы.

Изучение клеточного состава костного мозга сельскохозяйственных и свободноживущих животных (табл. 2.4) по содержанию клеток гранулоцитарного ростка показало, что большее количество нейтрофильных элементов содержалось в костном мозге крупного рогатого скота – $47,8 \pm 0,69$ %, у коз меньше на 2,9 процентных пункта, а у сибирской косули – на 4,9 процентных пункта ($P < 0,01$).

Анализ клеточного состава позволил выявить некоторые особенности.

Таблица 2.4 – Клеточный состав костного мозга различных видов животных молодых особей, ($M \pm m$), $n=3$

Клеточные элементы		Виды животных		
		КРС	Козы	Сибирская косуля
Промиелоциты		$1,0 \pm 0,06$	$0,5 \pm 0,18^{**}$	$0,7 \pm 0,02^{**}$
Миелоциты		$3,6 \pm 0,04$	$1,3 \pm 0,15^{*}$	$2,0 \pm 0,16^{*}$
Метамиелоциты		$7,3 \pm 0,10$	$5,1 \pm 0,37^{**}$	$5,6 \pm 0,04^{*}$
Нейтрофилы	палочкоядерные	$15,7 \pm 0,47$	$9,2 \pm 0,32^{*}$	$9,2 \pm 0,28^{*}$
	сегментоядерные	$11,7 \pm 0,66$	$20,3 \pm 0,46^{*}$	$18,5 \pm 0,09^{*}$
	всего	$27,0 \pm 0,34$	$29,5 \pm 0,14^{**}$	$27,7 \pm 0,19^{***}$
Эозинофилы всех генераций		$8,7 \pm 0,22$	$7,9 \pm 0,33^{****}$	$7,0 \pm 0,49^{*****}$
Базофилы		$0,3 \pm 0,01$	$0,6 \pm 0,17^{***}$	$0,33 \pm 0,25^{***}$
Все нейтрофильные элементы		$47,8 \pm 0,69$	$44,9 \pm 0,35^{*****}$	$43,4 \pm 0,43^{**}$

Продолжение таблицы 2.4

Клеточные элементы		Виды животных		
		КРС	Козы	Сибирская косуля
Эритробласты		0,5±0,13	0,5±0,18***	0,8±0,09***
Нормоциты	базофильные	6,0±0,11	9,2±0,03*	7,8±1,18***
	оксифильные	29,4±0,52	37,2±0,38*	37,1±0,34*
Все эритроидные элементы		35,9±0,34	46,8±0,47*	45,7±0,98*
Лимфоциты		12,1±0,17	5,7±0,35*	7,3±0,38*
Плазматические клетки		0,8±0,11	0,4±0,01*	0,5±0,17****
Моноциты		2,1±0,08	0,5±0,17**	1,1±0,19**
Мегакариоциты		0,4±0,15	единичные	0,2±0,16***
Ретикулярные клетки		0,9±0,03	1,6±0,14**	1,7±0,34***

Примечание: *P <0,001; **P <0,01; ***P >0,05; ****P <0,05 – показатели различий результатов.

У сибирской косули обнаружилось большее содержание в костном мозге молодых форм клеток, чем у домашней козы, у которой отмечается больше зрелых клеток, но меньше чем у коров (показатели статистически достоверны). У сибирской косули промиелоцитов, миелоцитов и метамиелоцитов больше чем у коз на 0,2, 0,7 и 0,5 процентных пункта соответственно, но меньше чем у КРС на 0,3, 1,6 и 1,7 процентных пункта соответственно (разница показателей достоверна, P<0,001). Содержание базофилов в большем количестве наблюдается у домашней козы и составляет 0,6±0,17 %, у сибирской косули данный показатель меньше на 0,27 процентных пункта и

разница между сравниваемыми величинами недостоверна ($P>0,05$).

Наибольшее содержание клеток эритроцитарного ростка отмечается у коз ($46,8\pm0,47\%$) и у сибирской косули ($46,6\pm0,98\%$) (различия достоверны, $P<0,001$). Из всех представленных клеток эритроидного ряда наиболее ценными для иммунологии являются эритробласты, и при анализе данных наибольшее их количество наблюдается у сибирской косули и составляют $0,7\%$, у домашней козы и коров данный показатель меньше на $0,3$ процентных пункта, что не подтверждается статистически ($P>0,05$).

Изучение особенностей состава костного мозга по содержанию клеток моноцитарного ростка диких жвачных и сельскохозяйственных животных в сравнении показало, что моноцитов у сибирской косули меньше чем у коров на один процентный пункт, но больше на $0,6$ процентных пункта по сравнению с показателем домашней козы ($P<0,01$). Количество мегакариоцитов у всех животных наблюдаются в малом количестве, менее $0,4$ процентов.

Сравнительный анализ иммунокомпетентных клеток в составе костного мозга (рис. 2.1) позволил установить следующие результаты. Количество ретикулярных клеток сибирской косули больше чем у коров и коз на $0,8$ и $0,1$ процентных пункта соответственно.

Количество плазматических клеток преобладает у коров ($0,8\pm0,11\%$), это больше чем у сибирской косули и коз на $0,3$ и $0,4$ процентных пункта соответственно. Лимфоциты у сибирской косули в составе костного мозга составляют $7,3\pm0,38\%$, у коз лимфоцитов меньше на

21,92 %, а у коров больше на 60,33 % (разница показателей статистически достоверна, $P < 0,001$), что может быть связано с видовыми особенностями организма животных.

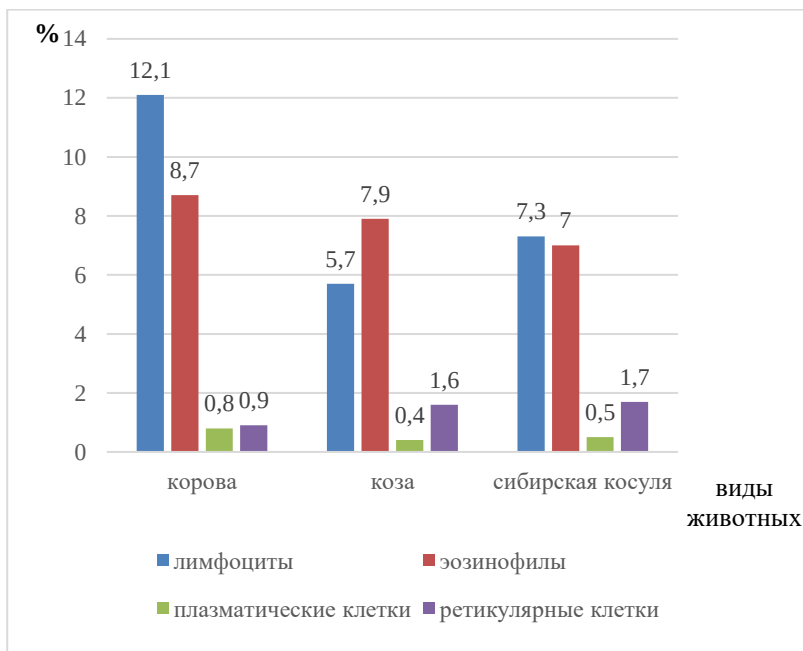


Рисунок 2.1 – Имунокомпетентные клетки в составе костного мозга различных видов животных, %

При исследовании костного мозга, кроме количества подсчитанных клеток, провели расчет индексов соотношения между молодыми и зрелыми формами клеток (табл. 2.5). Результаты расчетов показали, что индексы соотношения у КРС выше, то есть количество молодых форм клеток в процентном соотношении больше чем у коз и сибирской косули, что связано с индивидуальными

особенностями организма. У сибирской косули эти показатели ниже, но находятся в пределах физиологической нормы и показывают нормальную степень зрелости клеток костного мозга.

Таблица 2.5 – Индексы соотношения между молодыми и зрелыми формами клеток, ($M \pm m$), $n=3$

Индексы	Виды животных		
	КРС	Коза	Сибирская косуля
Костномозговой индекс созревания нейтрофилов	$0,44 \pm 0,02$	$0,23 \pm 0,01^*$	$0,29 \pm 0,03^{**}$
Индекс созревания эритробластов	$0,82 \pm 0,03$	$0,79 \pm 0,01^{***}$	$0,79 \pm 0,02^{***}$
Лейко-эритробластное отношение	$1,20 \pm 0,05$	$0,77 \pm 0,02^{**}$	$0,76 \pm 0,04^{**}$

Примечание: $*P < 0,001$; $**P < 0,01$; $***P > 0,05$ – показатели различий результатов.

Таким образом, комбинированные методы окраски позволяют более достоверно изучить клеточный состав костного мозга. Для получения иммуномодуляторов целесообразно брать клеточные популяции сибирской косули и КРС, содержащие наибольшее количество иммунокомпетентных клеток, таких как ретикулярные – $1,7 \pm 0,34$ и $0,9 \pm 0,03$ % соответственно; лимфоциты – $7,3 \pm 0,38$ и $12,1 \pm 0,17$ % соответственно; и плазматические – $0,5 \pm 0,17$ и $0,8 \pm 0,11$ % соответственно.

2.2 Иммунобиологический состав костного мозга сельскохозяйственных и диких животных разного возраста

Специфический иммунитет, представляющий собой заключительный и более мощный этап защиты организма, включает в себя развитие протективного иммунитета и иммунологической памяти. Протективный иммунитет формируется с развитием гуморального и клеточного иммунного ответа. Сущность гуморального ответа заключается в образовании популяций В-лимфоцитов, синтезирующих специфические антитела. Антитела – специфические белки (иммуноглобулины), важнейшие специфические факторы защиты организма против возбудителей инфекционных болезней и генетически чужеродных веществ (Гончаров А. Г., 1997; Хаитов Р. М., 2001; Воронин Е. С., 2002; Драник Г. Н., 2003). Поэтому, определение общего количества белка и его фракций, в том числе и иммуноглобулиновых, является важным показателем для установления активности препарата из клеток костного мозга.

Биохимический состав костного мозга трубчатых костей определяли на биохимическом анализаторе АКБа-01-«БИОМ®». При выделении белков из клеток костного мозга нашим способом были получены следующие результаты. Большое количество белка было выделено у лося, вес которого составил $219 \pm 0,53$ мг ($P < 0,001$). Вес общего белка из костного мозга сибирской косули составил $208 \pm 0,28$ мг, у КРС $213 \pm 2,19$ мг, у коз $206 \pm 0,34$ мг ($P < 0,01$), взятого из одинакового количества костного мозга – $9,56 \pm 1,26$ г ($P < 0,05$) от каждого вида животных. Такой результат был достигнут путем двойного осаждения белков сульфатом аммония и раствором

трихлоруксусной кислоты, вследствие чего происходит дополнительное осаждение белка и увеличивается вес общего белка, выделенного из костного мозга в сравнении с имеющейся информацией (Зарицкая В. В., 2008).

При определении общего белка получили следующие результаты (табл. 2.6). У сельскохозяйственных животных наибольшее содержание общего белка в костном мозге наблюдается у КРС и составило $62,0 \pm 0,11$ г/л, у диких животных наибольшее его количество наблюдается у лося – $64,4 \pm 0,48$ г/л ($P < 0,01$). У сибирской косули этот показатель ниже на 1,24 %, но выше чем у КРС и коз на 2,58 и 4,26 % соответственно.

Таблица 2.6 – Количество общего белка в составе костного мозга у различных видов животных, молодых особей г/л, ($M \pm m$), $n=3$

Виды животных	КРС	Коза	Лось	Сибирская косуля
Количество общего белка, г/л	$62,0 \pm 0,11$	$61,0 \pm 0,75^{**}$	$64,4 \pm 0,48^*$	$63,6 \pm 0,85^{**}$

Примечание: $*P < 0,01$; $**P > 0,05$ – показатели различий результатов.

Сравнивая показатели как сельскохозяйственных, так и диких животных можно отметить, что наибольшее количество общего белка в костном мозге наблюдается у свободноживущих животных (рис. 2.2).

Результаты исследования фракционного состава белка показали, что на долю иммуноглобулинов костного мозга приходится основная часть от общего количества белка, и уровень иммуноглобулинов у разных видов животных имеет широкий диапазон индивидуальных значений (табл. 2.7).

2 Сравнительная характеристика костного мозга
сельскохозяйственных и диких животных

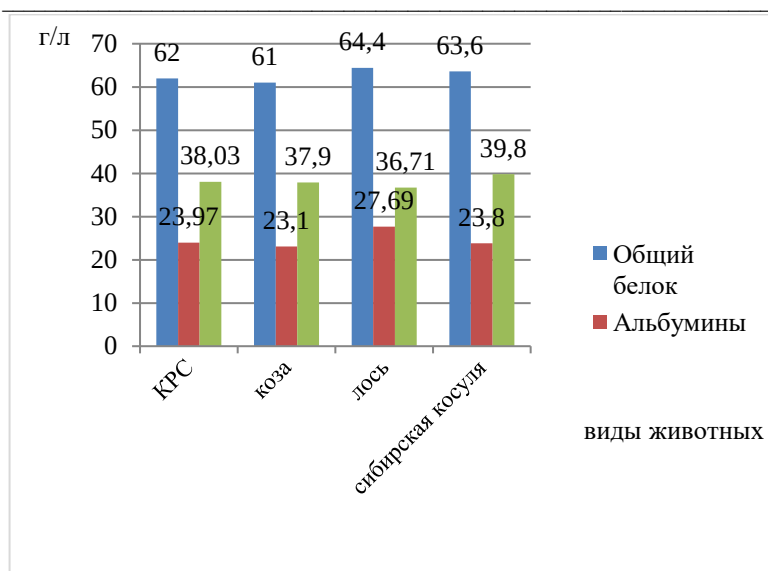


Рисунок 2.2 – Показатели общего белка и его фракций
у различных видов животных, (n=3), г/л

Таблица 2.7 – Фракции общего белка в составе костного мозга
у различных видов животных, молодых особей, (M±m), n=3

Фракции белка		Виды животных			
		КРС	Коза	Лось	Сибирская косуля
Альбу- мины, г/л		23,97±0,4	23,10±0,18	27,69±0,99*	23,80±0,28
Глобулины, г/л	α ₁	2,53±0,09	3,00±0,04**	3,95±0,04***	3,96±0,13***
	α ₂	2,90±0,06	3,30±0,06**	4,13±0,06***	3,94±0,04***
	β	6,23±0,15	6,60±0,09	6,06±0,12	5,89±0,17
	γ ₁	16,30±0,36	15,77±0,63	12,96±1,15*	16,75±0,39
	γ ₂	10,10±0,09	9,13±0,57	9,61±0,05**	9,52±0,11*

Продолжение таблицы 2.7

Фракции белка		Виды животных			
		КРС	Коза	Лось	Сибирская косуля
Глобулины, г/л	γ_{1+} γ_2	26,37 $\pm$ 0,26	24,9 $\pm$ 0,93	22,57 $\pm$ 1,18*	26,27 $\pm$ 0,47
Отноше- ние А/Г		0,63 $\pm$ 0,02	0,61 $\pm$ 0,01	0,76 $\pm$ 0,05	0,60 $\pm$ 0,01

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ – показатели различий результатов.

На долю глобулинов у различных видов животных приходится от 60 до 63 % от общего белка (рис. 2.3), при этом наибольший показатель наблюдается у сибирской косули и козы – 62,58 и 62,13 % соответственно, а наименьший – у лося (57 %).

На долю альбуминов приходится от 37 до 43 %, а именно наибольшее их содержание наблюдается у лося и коров, что составило 27,69 $\pm$ 0,99 (или 43 %) и 23,97 $\pm$ 0,4 г/л (или 38,66 %) соответственно ($P < 0,05$). У сибирской косули и козы их количество меньше на 14,05 % и 13,4 % от наибольшего показателя.

В содержании α_2 -глобулинов отмечено, что большее их количество наблюдается у лося и сибирской косули 4,13 $\pm$ 0,06 и 3,94 $\pm$ 0,04 г/л соответственно. У коз отмечается наибольшее содержание β -глобулиновых фракций – 6,6 $\pm$ 0,09 г/л, наименьшее их количество отмечено у сибирской косули – 5,89 $\pm$ 0,17 г/л (но разница показателей не подтверждается статистически ($P > 0,05$)).

2 Сравнительная характеристика костного мозга сельскохозяйственных и диких животных

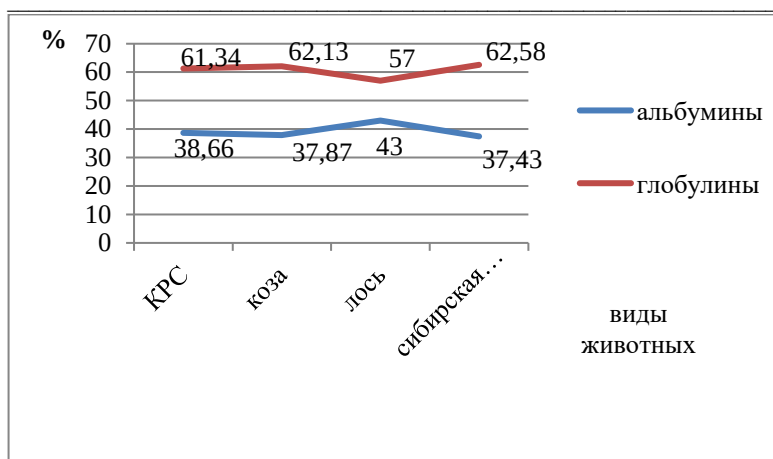


Рисунок 2.3 – Соотношение альбуминов и глобулинов у различных видов животных, молодых особей, ($n=3$), %

Белки, входящие в гамма-глобулиновую фракцию, согласно нашим исследованиям, у разных видов животных варьируются. Наибольшее их содержание отмечается у коров и сибирской косули, а именно $26,37 \pm 0,26$ и $26,27 \pm 0,47$ г/л соответственно. Наименьшее их содержание отмечается у домашней козы и лося – $24,9 \pm 0,93$ и $22,57 \pm 1,18$ г/л соответственно (различия статистически достоверны). Анализируя данные по содержанию α_1 -глобулинов, можно отметить следующее, наименьшее их количество отмечено у коров – $2,53 \pm 0,09$ г/л, наибольшее у сибирской косули и лося – $3,96 \pm 0,13$ и $3,9 \pm 0,04$ г/л соответственно (рис.2.4).

2 Сравнительная характеристика костного мозга
сельскохозяйственных и диких животных

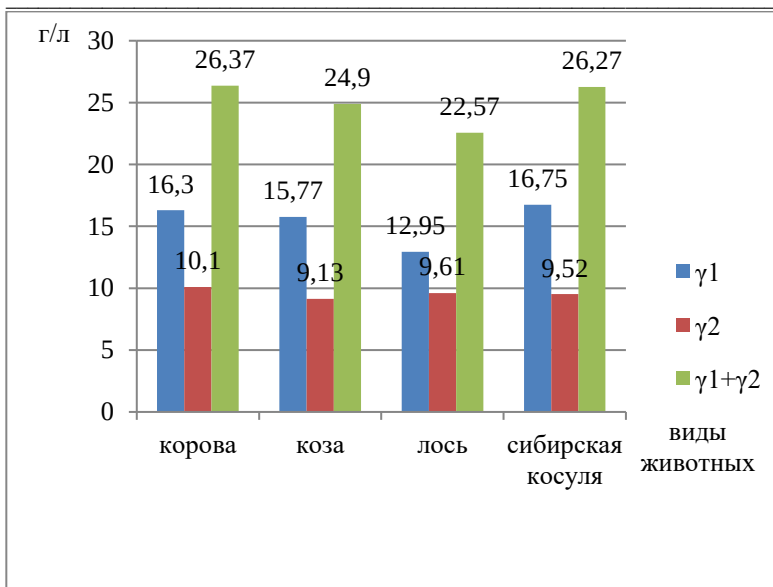


Рисунок 2.4 – Содержание белков гамма-глобулиновой фракции у различных видов животных, г/л

При изучении белковых фракций сибирской косули разного возраста мы отметили следующие видовые особенности (таблица 2.8). Содержание общего белка у молодых особей сибирской косули составило $63,6 \pm 0,85$ г/л, у средневозрастных – $61,5 \pm 0,5$ г/л и у старых особей – $60,1 \pm 0,88$ г/л. Также наблюдается различие соотношения фракций белка в протеинограмме. Наибольшей концентрация альбуминов наблюдается у косуль молодой возрастной группы – $23,8 \pm 0,28$ г/л, что выше на 0,3 пункта, чем у средневозрастных особей, и на 1,3 пункта, чем у старых особей. Наибольшее количество α_1 - и α_2 -глобулинов наблюдается также у молодых особей, и составило

3,96±0,13 г/л и 3,94±0,04 г/л соответственно. При этом с возрастом наблюдается их снижение.

Таблица 2.8 – Содержание общего белка и его фракций в составе костного мозга косули в зависимости от возраста ($M \pm m$, $n=3$)

Общий белок и его фракции		Молодые особи	Средневозрастные особи	Старые особи
Общий белок, г/л		63,6±0,85	61,5±0,50	60,1±0,88
Альбумины, г/л		23,8±0,28	23,5±0,22	22,5±0,67
Глобулины, г/л	α_1 -глобулины	3,96±0,13	3,87±0,09	3,6±0,2
	α_2 -глобулины	3,94±0,04	3,95±0,05	3,57±0,35
	β -глобулины	5,89±0,17	5,87±0,17	6,64±2,2
	γ_1 -глобулины	16,75±0,39	15,37±0,43	15,3±0,5
	γ_2 -глобулины	9,52±0,11	8,88±0,49	8,53±0,42
	($\gamma_1+\gamma_2$)-глобулины	26,27±0,47	24,25±0,87	23,83±0,34
	всего	39,73±0,78	37,93±0,71	37,63±1,81

Наибольшее содержание β -глобулинов, наблюдается у группы старых особей, что составило 6,64±2,2 г/л. У молодых особей наблюдается также наибольшая концентрация ($\gamma_1+\gamma_2$)-глобулинов, что составило 26,27±0,47 г/л (рис. 2.5), у средневозрастной группы содержание ($\gamma_1+\gamma_2$)-глобулинов составило 24,25±0,87 г/л, а у старых животных уже 23,83±0,34 г/л, что на 9,29 % меньше, чем у особей молодой группы.

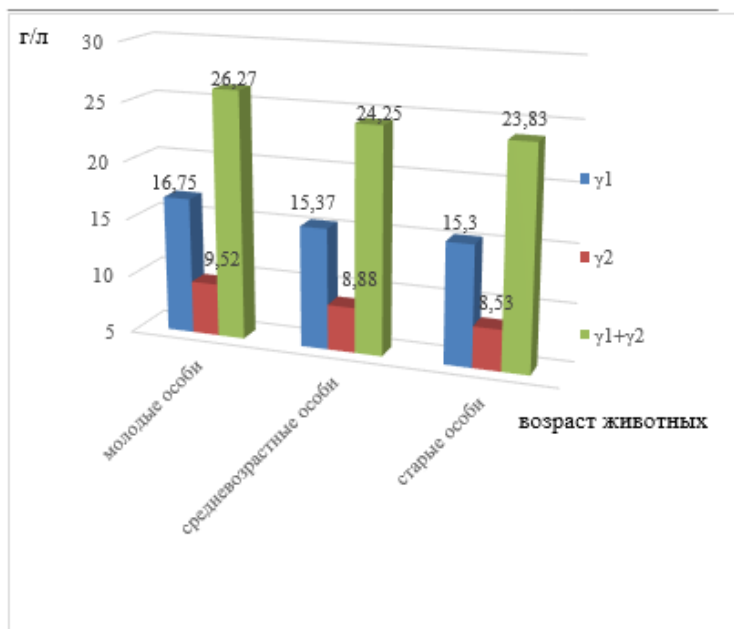


Рисунок 2.5 – Содержание гамма-глобулинов в составе костного мозга у сибирской косули разных возрастных групп, $n=9$, г/л

Анализ белковых фракций лося разного возраста позволил установить следующие видовые особенности (табл. 2.9). Наибольшее содержание общего белка установлено у молодых особей $64,4 \pm 0,48$ г/л, у средневозрастных – меньше на 1,24 %.

Концентрация альбуминов у лося молодой возрастной группы $27,69 \pm 0,99$ г/л, что меньше на 0,61 пункта, чем у средневозрастных особей.

Таблица 2.9 – Содержание общего белка и его фракций в составе костного мозга лоса в зависимости от возраста, ($M \pm m$), ($n=3$)

Общий белок и его фракции		Молодые особи	Средневозрастные особи
Общий белок, г/л		64,4 $\pm$ 0,48	63,6 $\pm$ 0,47
Альбумины, г/л		27,69 $\pm$ 0,99	28,3 $\pm$ 0,53
Глобулины г/л	α_1 -глобулины	3,95 $\pm$ 0,04	4,08 $\pm$ 0,09
	α_2 -глобулины	4,13 $\pm$ 0,06	4,16 $\pm$ 0,04
	β -глобулины	6,06 $\pm$ 0,12	6,08 $\pm$ 0,12
	γ_1 -глобулины	12,96 $\pm$ 1,15	11,61 $\pm$ 0,20
	γ_2 -глобулины	9,61 $\pm$ 0,05	9,64 $\pm$ 0,18
	($\gamma_1 + \gamma_2$)-глобулины	22,57 $\pm$ 1,18	21,25 $\pm$ 0,25
	всего	36,71 $\pm$ 1,23	35,57 $\pm$ 0,11

По содержанию глобулиновых фракций установлено, что наибольшее содержание β -глобулинов, наблюдается у особей средневозрастной группы, и составило 6,08 $\pm$ 0,2 г/л. Наибольшее количество α_1 - и α_2 -глобулинов наблюдается также у средневозрастных особей, и составило 4,08 $\pm$ 0,09 г/л и 4,16 $\pm$ 0,04 г/л. У молодых особей наблюдается наибольшая концентрация ($\gamma_1 + \gamma_2$)-глобулинов, составившая 22,57 $\pm$ 1,18 г/л. У средневозрастной группы содержание ($\gamma_1 + \gamma_2$)-глобулинов меньше на 1,32 процента. В целом, различия между возрастными группами не высоки.

Таким образом, для получения белкового препарата, который оказывал бы стимулирующее воздействие на иммунную систему, от сельскохозяйственных животных предпочтительней брать биоматериал от крупного рогатого скота, от диких животных – биоматериал сибирской косули молодых особей, содержащий наибольшее

количество гамма-глобулинов. Содержание общего белка и его фракций в костном мозге у различных видов животных в значительной мере зависят от видовых особенностей, условий содержания или среды обитания.

3 ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА ИЗ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА СИБИРСКОЙ КОСУЛИ (ПКМК)

Препарат из клеток костного мозга сибирской косули представляет собой продукт, полученный в результате извлечения клеток костного мозга, их суспендирования, фильтрации суспензии, центрифугирования filtrата, гомогенизации с помощью гомогенизатора типа Mini Mix 100VW, центрифугирования при 2000 об/мин в течении 5 минут, фильтрации через капроновые фильтры (рис. 3.1). Затем белки высаливали с помощью сульфата аммония при нагревании до 60 °С, отстаивали 12 часов при температуре 4 °С и центрифугировали при 2000 об/мин в течении 5 мин. К надосадочной жидкости добавляли 1 % раствор трихлоруксусной кислоты, затем также осадок от раствора отделяли центрифугированием.

В дальнейшем раствор белка подвергали диализу проточной водой в течении одного–двух суток и дистиллированной водой в течении одного часа, после, высушивали на часовом стекле. Фасовали в стерильные стеклянные ёмкости, закрывали и подвергали дробной стерилизации при температуре 40–42 °С трижды по 20 минут. К полученному сухому порошку добавляли стерильный физиологический раствор, из расчета 100 мг белка на 1,0 мл 0,9 % NaOH, встряхивали до растворения осадка. В дальнейшем препарат исследовали на стерильность и безвредность.

Безвредность препарата изучали на 81 беспородной белой мыши, самцы в одном возрасте (4–6 месяцев) и массой $17,9 \pm 0,4$ г, которых распределили на группы:



Рисунок 3.1 – Схема выделения белков из костного мозга сибирской косули

контрольные (27) и подопытные (54), с учетом вводимых доз препарата. Сохранность животных, гематологические и биохимические показатели (15 параметров) в подопытных и контрольных группах, после введения препарата, учитывались на 7, 14 и 21 дни. В подопытных группах препарат вводили подкожно в разных дозах 0,01 мл, 0,02 мл и 0,03 мл раствора препарата на одно животное. В контрольной группе мышам вводился стерильный физиологический раствор в тех же дозах. Кровь у мышей всех групп брали методом декапитации, которую предварительно выдержали в термостате при 40 °С в течении 5–7 минут. У собак проводили исследования венозной крови. В качестве стабилизатора использовали гепарин (в соотношении 50 ЕД/мл).

Стерильность препарата испытывали путем посева 0,2 мл каждого образца в две пробирки, содержащие по 10 мл тиогликолевой среды. Посевы выдерживали в термостате при 37 °С 5 суток. По истечении этого срока из одной пробирки с тиогликолевой средой делали высевы по 0,5 мл на скошенный агар с 0,5 % глюкозы; в пробирку с бульоном, содержащим 0,5 глюкозы; в пробирку со средой Сабуро, а также по 1 мл в две пробирки с тиогликолевой средой.

Посевы на среду Сабуро и одну из двух пробирок с тиогликолевой средой выдерживали пять суток при температуре 20–22 °С. Посевы на остальные среды, в том числе и во вторую пробирку первичного посева на тиогликоловую среду, выдерживали пять суток при 37 °С. Результаты посевов учитывали на 10 сутки после первичного посева образцов на тиогликоловую среду.

В результате проведения проверки на стерильность разных представителей специфических, в том числе сапрофитной флоры и плесеней, а также посторонних бактерий выявлено не было. Препарат сохраняли до использования в холодильнике при температуре минус 4 °С не более суток.

4 ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ИЗ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА СИБИРСКОЙ КОСУЛИ НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ

По данным Л. И. Юрченко (1972), В. Х. Хавинсона (1991), В. Н. Шевкопляс (2001), З. Х. Юсупова (2007), И. А. Шкуратовой (2008), иммуномодуляторы обладают иммуностропной активностью, в терапевтических и профилактических дозах восстанавливает функции иммунной системы – эффективную иммунную защиту. Эти препараты действуют преимущественно на измененные параметры, понижая повышенные и повышая пониженные показатели иммунной системы.

Препарат из клеток костного мозга сибирской косули после однократного подкожного введения в дозе 0,01 мл не вызывал у опытных мышей изменений в поведении и общем состоянии. В следующие 21 день наблюдения животные оставались живыми, адекватно реагировали на раздражители, охотно принимали корм и воду.

При введении препарата в дозе 0,02 мл в течении всего периода наблюдения животные также оставались живыми, общее состояние было удовлетворительным, отказа от корма и воды не наблюдалось.

После введения белым мышам препарата в дозе 0,03 мл у четверых животных, в течении двух–трех часов, наблюдали беспокойство, взъерошенность шерсти, у двух мышей наблюдали покраснение и припухлость в месте введения препарата, три мыши старались уединиться, осторожно передвигались по клетке. У остальных животных изменений в поведении и общем состоянии не наблюдали. Животные на протяжении всего опыта оставались живыми.

4 Влияние препарата из клеток костного мозга сибирской косули на показатели крови белых мышей

На 7, 14, 21 день опыта проведен анализ показателей клеточной защиты организма лабораторных животных. Анализируя таблицу 4.1 можно утверждать, что изменение морфологических показателей зависит от дозы вводимого белкового препарата.

Таблица 4.1 – Морфологические показатели крови у мышей под влиянием белкового препарата из клеток костного мозга сибирской косули в зависимости от дозы (n=81)

Группы животных		Эритроциты, $10^{12}/л$			Лейкоциты, $10^9/л$		
		7 день	14 день	21 день	7 день	14 день	21 день
Контроль	M $\pm$ m	8,7 $\pm$ 0,16	8,6 $\pm$ 0,19	8,6 $\pm$ 0,19	7,0 $\pm$ 0,13	7,2 $\pm$ 0,14	7,2 $\pm$ 0,36
	%	100	100	100	100	100	100
Опыт-1 0,01мл	M $\pm$ m	8,8 $\pm$ 0,1	8,8 $\pm$ 0,16	8,7 $\pm$ 0,11	7,4 $\pm$ 0,16*	7,4 $\pm$ 0,22	7,3 $\pm$ 0,11
	%	101,15	102,33	101,16	105,7	102,78	101,39
Опыт-2 0,02мл	M $\pm$ m	8,9 $\pm$ 0,16	8,9 $\pm$ 0,16	8,8 $\pm$ 0,11	9,3 $\pm$ 0,38**	9,8 $\pm$ 0,16**	9,8 $\pm$ 0,18**
	%	102,3	103,49	102,33	132,86	136,11	136,11
Опыт-3 0,03мл	M $\pm$ m	8,6 $\pm$ 0,08	8,6 $\pm$ 0,16	8,6 $\pm$ 0,21	8,8 $\pm$ 0,21**	8,6 $\pm$ 0,21**	8,6 $\pm$ 0,18**
	%	98,85	100	100	125,71	119,44	119,44

Примечание: *P<0,05; **P<0,001 – в сравнении с контролем.

Важно отметить, что при введении препарата из клеток костного мозга сибирской косули эритроциты и лейкоциты находятся в пределах физиологической нормы. В количественном составе эритроцитов существенных изменений по всем группам не выявлено, их количество увеличивается всего на 2–3 %, при этом различия статистически не достоверны. Лейкоциты первой опытной группы практически не отличаются от показателей контрольной группы, их увеличение составило

около 5 %, показатели третьей опытной группы изменились в сторону увеличения до 25 %, тогда как увеличение показателей второй опытной группы составило до 36 %, различия которых статистически достоверны.

Если количество лейкоцитов в крови мышей рассматривать в зависимости от дня введения ПКМК, то можно отметить, что максимальный эффект наблюдается на 14 день, а к 21 дню данная тенденция сохранялась.

Рассматривая показатели лейкограммы (табл. 4.2), отмечено, что при введении препарата из клеток костного мозга сибирской косули в дозе 0,01 мл на мышь, практически все показатели остались без изменений. Наблюдается только увеличение на 5,88 % количества эозинофилов к 14 дню исследования. Остальные показатели варьировали в сторону увеличения или уменьшения всего на 1–2 %, либо оставались на неизменном уровне. При введении ПКМК в дозе 0,02 мл на мышь, наблюдается увеличение иммунокомпетентных клеток на седьмой день и сохранение на весь период исследования. Так количество лимфоцитов на седьмой день увеличилось на 8,81 % и к 21 дню их количество осталось на том же уровне, что статистически достоверно. Также наблюдается увеличение количества моноцитов, которые достигли максимального уровня к 14 дню и составили 4,9, что на 13,95 % больше по сравнению с контрольной группой. Количество эозинофилов увеличилось к 14 дню на 8,82 % по сравнению с контролем, но на 21 день их количество достигло уровня контрольной группы.

Если рассматривать третью опытную группу, в которой доза препарата составила 0,03 мл на мышь, то можно отметить резкое увеличение количества эозинофилов уже на седьмой день (на 18,32 %), а на 14 день их количество увеличилось более чем на 30 %.

4 Влияние препарата из клеток костного мозга сибирской косули на показатели крови белых мышей

Таблица 4.2 – Лейкограмма крови подопытных животных, (М± m), (n=81)

Группы животных, дни		Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Моноциты	Эозинофилы	Лимфоциты
Контроль	7 день	4,6±0,42	31,3±1,44	4,7±0,45	3,8±0,45	55,6±0,65
	%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	14 день	4,5±1,0	31,4±1,29	4,3±0,45	3,4±0,65	56,8±2,93
	%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	21 день	4,4±0,65	31,1±1,08	4,3±0,67	3,5±0,61	56,7±1,15
	%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Опыт-1 (0,01мл)	7 день	4,2±0,57	31,2±1,92	4,6±0,42	3,7±0,45	56,3±1,4
	%	91,3	99,68	97,87	97,37	101,26
	14 день	4,1±0,65	31,4±1,19	4,3±0,67	3,6±0,42	56,6±1,19
	%	91,11	100,0	100,0	105,88	99,65
	21 день	4,4±0,65	31,6±1,29	4,4±0,65	3,8±0,27	56,5±1,7
	%	100,0	101,61	102,33	108,57	99,65
Опыт-2 0 (0,02мл)	7 день	4,8±0,57	26,1±1,19**	5,0±0,79*	3,6±0,42	60,5±0,61**
	%	104,35	83,39	106,38	94,74	108,81
	14 день	4,5±0,79	26,5±1,9*	4,9±0,42	3,7±0,57	60,4±0,96*
	%	100,0	84,4	113,95	108,82	106,34
	21 день	4,7±0,76	26,7±1,3**	4,9±0,42	3,4±0,65	60,3±1,56*
	%	106,82	85,85	113,95	97,14	106,35

4 Влияние препарата из клеток костного мозга сибирской косули на показатели крови белых мышей

Продолжение таблицы 4.2

Группы животных, дни		Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Моноциты	Эозинофилы	Лимфоциты
Опыт-3 (0,03мл)	7 день	5,2±0,45*	30,0±1,46	4,0±0,61	4,5±0,5*	56,3±1,4
	%	113,04	95,85	85,11	118,42	101,26
	14 день	4,5±0,5	29,9±0,55	3,6±0,42	4,5±0,35*	57,2±0,57
	%	100,0	95,22	83,72	132,35	100,7
	21 день	4,4±0,65	30,7±2,28	3,7±0,45	4,2±0,57*	57,0±1,58
	%	100,0	98,71	86,05	120,0	100,53

Примечание: *P<0,05; **P<0,01 – в сравнении с контролем.

Это может быть связано с увеличением дозы препарата и ответной клеточной реакцией организма на введение белкового препарата. В этой же группе на седьмой день отмечается увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов на 13,04 %, но к 14 дню их количество не отличается от показателя контрольной группы. Количество лимфоцитов увеличилось незначительно, до 1,5 % за весь исследуемый период.

Анализ таблицы 4.3 указывает на то, что у контрольной группы животных показатели общего белка и его фракций на протяжении всего эксперимента находились в пределах физиологической нормы. В опытной группе животных наблюдались следующие изменения биохимических показателей. При введении препарата из клеток костного мозга сибирской косули в дозе 0,02 мл на мышь содержание общего белка на седьмой день увеличилось на 25,45 %, данное увеличение сохраняется на весь

4 Влияние препарата из клеток костного мозга сибирской косули на показатели крови белых мышей

период исследования и данный показатель статистически достоверен.

Таблица 4.3 – Биохимические показатели крови белых мышей до и после введения препарата из костного мозга сибирской косули, ($M \pm m$), ($n=81$)

Группы животных; дни		Общий белок, г/л	Альбумины, г/л	Глобулины, г/л			
				α_1	α_2	β	$\gamma_1 + \gamma_2$
контроль	7 день	64,83± 2,99	25,95± 1,22	7,05± 0,6	8,98± 0,28	11,69± 0,54	11,16± 1,52
	14 день	66,4± 1,52	26,42± 0,36	7,14± 0,75	9,18± 0,16	11,89± 0,31	11,77± 0,89
	21 день	65,67± 2,58	26,16± 0,77	7,54± 0,49	8,62± 0,38	11,79± 0,49	11,56± 1,15
опыт	7 день	81,33± 1,72 P<0,001	35,08± 0,8 P<0,001	8,4± 0,19 P<0,01	9,93± 0,22 P<0,001	12,37± 0,34 P<0,05	15,57± 0,28 P<0,001
	%	125,45	135,18	119,15	110,58	105,82	139,52
	14 день	79,6± 1,56 P<0,001	34,31± 0,72 P<0,001	8,23± 0,2 P<0,05	9,53± 0,21 P>0,05	12,07± 0,2 P>0,05	15,5± 0,43 P<0,001
	%	119,88	129,86	115,27	103,81	101,51	131,69
	21 день	79,52± 1,14 P<0,001	34,43± 0,6 P<0,001	8,21± 0,15 P<0,01	9,46± 0,16 P<0,01	12,06± 0,2 P>0,05	15,53± 0,5 P<0,001
	%	121,09	131,61	108,89	109,74	102,29	134,34

Примечание: P – уровень достоверности в сравнении с контролем.

После введения препарата концентрация альбуминов на седьмые сутки увеличилась на 35,18 %, к 14 дню увеличение составило на 29,86 %, и на 21 день – на 31,61 % относительно контроля. В составе глобулиновой фракции наблюдается повышение α_1 , α_2 - и β -глобулинов на 19,15 %, 10,58 % и 5,82 % соответственно. На 14 и 21

4 Влияние препарата из клеток костного мозга сибирской косули на показатели крови белых мышей

дни количество α_1 -глобулинов увеличилось на 15,27 % и 8,89 %, а количество α_2 -глобулинов увеличилось на 3,81 % и 9,74 % соответственно.

Следует также отметить, что на 14 и 21 дни наблюдается незначительное увеличение количества β фракций по отношению к контрольной группе, но данные статистически не подтверждены ($P > 0,05$).

При анализе содержания иммуноглобулинов в крови белых мышей при применении препарата из клеток костного мозга сибирской косули в ходе эксперимента отмечены следующие изменения. На 7, 14 и 21 сутки наблюдается стабильное увеличение данной фракции глобулинов на 39,52 %, 31,69 % и 34,34 % соответственно (показатели статистически достоверны).

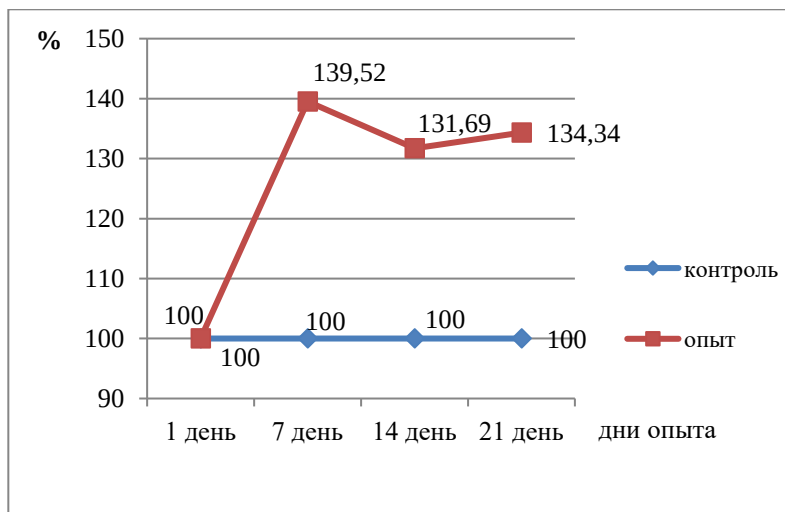


Рисунок 4.1 – Изменения в содержании иммуноглобулинов при применении ПКМК, %

4 Влияние препарата из клеток костного мозга сибирской косули на показатели крови белых мышей

По данным таблицы 4.4, можно сказать, что потенциальная функциональная активность нейтрофилов под действием препарата повышается, так как биологически активный препарат достоверно увеличивал иммунологические показатели крови опытных животных ($P < 0,001$).

Фагоцитарное число на седьмой день увеличилось в 2 раза и данный показатель сохраняет свою тенденцию за весь период исследования. Фагоцитарный индекс к седьмому дню увеличился на 24,4 процентных пункта, к 14 дню на 28,9, и к 21 дню на 23,1 процентных пункта по сравнению с контрольной группой.

Таблица 4.4 – Иммунологические показатели крови белых мышей, ($M \pm m$)

Показатели	Контроль (n=6)	7 день опыта (n=6)	14 день опыта (n=6)	21 день опыта (n=6)
Фагоцитарное число, у.е.	1,23±0,05	2,93±0,09*	2,99±0,06*	2,92±0,06*
Фагоцитар- ный индекс, %	38,5±0,42	62,9±0,42*	67,4±0,36*	61,6±0,34*

Примечание: * $P < 0,001$ – в сравнении с контролем.

Таким образом подкожное введение препарата из клеток костного мозга сибирской косули, в оптимальной дозе, не вызывает изменений поведения и общего состояния лабораторных животных. Показатели клеточного иммунитета остаются в пределах физиологической нормы. Исследованный биологически активный препарат изменяет тип иммунологической реакции, переводя реактивность организма белых мышей на более высокий уровень.

5 ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ИЗ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА СИБИРСКОЙ КОСУЛИ В СХЕМЕ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ

5.1 Показатели интенсивности эпизоотического процесса инфекционных болезней собак в г. Благовещенске Амурской области

Снижение заболеваемости и гибели животных от инфекционных болезней является одной из основных задач ветеринарной науки и практики. Одними из наиболее опасных инфекционных болезней собак является парвовирусный энтерит (ПВЭ) и чума плотоядных (ЧП). Несмотря на проводимые мероприятия, ПВЭ и ЧП регистрируются в Российской Федерации повсеместно и ежегодно (Медова Е. В., 2005). В последние десятилетия все чаще регистрируется инфекционный трахеобронхит (ИТБ) или вольерный кашель. Это хоть и не опасная, но крайне заразная болезнь, так как если в вольере заболеет хотя бы одна собака, то с вероятностью 100 % симптомы появятся у всех остальных животных, и этот недуг может приводить к тяжелым последствиям (Максимов Н. А., 2009). Следовательно, ИТБ необходимо рассматривать наряду со всеми инфекционными болезнями.

Вследствие заболевания и падежа собак причиняется большой экономический и моральный ущерб. С целью профилактики применяют вакцины серии Нобивак, Гексаканивак, Эурикан и др. Однако, в условиях, не соответствующих нормам жизни, связанных с несбалансированным кормлением, стрессами и воздействием внешних факторов, приводящим к иммунодефицитам, эффективность их применения, как правило, не превышает

80 %. (Синягин П. Н., 2006; Строганова И. Я., 2007). Помимо этого, в условиях города еще недостаточно контролируется число «бродячих» собак, их число постоянно увеличивается. Неудовлетворительное состояние выгулов животных и парков значительно повышает риск возникновения, распространения заразных болезней (Пашкина Ю. В., 2006).

Изучение эпизоотического состояния инфекционных болезней собак города Благовещенска начнем с анализа болезней собак, которые регистрировались в городе с 2012 по 2014 гг. Для этого были изучены журналы регистрации приема животных и амбулаторные карты некоторых ветеринарных клиник города. Результаты исследований, представлены в таблице 5.1.

Среди собак за анализируемый период были зарегистрированы такие заболевания как инфекционный ларинготрахеобронхит (вольтерный кашель), парвовирусный энтерит и чума плотоядных. Наибольший удельный вес в среднем за три года приходится на инфекционный ларинготрахеит, который составляет 50,47 % среди общей заболеваемости собак инфекционными болезнями. При этом, отмечено его устойчивое снижение. Так, в 2012 г. удельный вес составлял 60,38 %, в 2013 г. – 52,7 %, в 2014 г. – 42,35 % от общего количества заболевших, что связано с увеличением случаев заболеваний собак другими инфекционными заболеваниями.

В 2014 г. наибольший удельный вес приходится на парвовирусный энтерит – 43,53 % (37 случаев болезни), что на 48 % больше по сравнению с 2013 годом и в 2,5 раза больше чем в 2012 году. Чума плотоядных встречается в меньшем количестве, так в 2012 г. зарегистрировано шесть случаев болезни, что составило 11,32 %, а в

5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики

2014 г. уже 12 случаев, что составило 14,12 % от общего числа заболевших.

Таблица 5.1 – Удельный вес инфекционных заболеваний, регистрируемых у собак в ветеринарных клиниках г. Благовещенска за 2012-2014 гг. (по количеству заболевших)

Название заболеван- ний	Годы						В среднем за три года	
	2012		2013		2014			
	гол.	%	гол.	%	гол.	%	гол.	%
Ветдоктор								
Инфекцион- ный ларинготра- хеобронхит	14	63,64	16	53,43	17	47,22	15,67	53,43
Парвовирус- ный энтерит	6	27,27	10	33,33	15	41,67	10,33	35,22
Чума плотоядных	2	9,09	4	13,24	4	11,11	3,33	11,35
Итого	22	100	30	100	36	100	29,33	100
Амурвет								
Инфекцион- ный ларинготра- хеобронхит	9	56,25	10	52,63	6	35,29	8,33	48,07
Парвовирус- ный энтерит	5	31,25	6	31,58	8	47,06	6,33	36,52
Чума плотоядных	2	12,5	3	15,79	3	17,65	2,67	15,41
Итого	16	100	19	100	17	100	17,33	100
Центр здоровья животных								
Инфекцион- ный ларинготра- хеобронхит	6	54,55	7	58,33	7	46,67	6,67	52,64
Парвовирус- ный энтерит	4	36,36	4	33,33	6	40,0	4,67	36,86
Чума плотоядных	1	9,09	1	8,34	2	13,33	1,33	10,50
Итого	11	100	12	100	15	100	12,67	100

5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики

Продолжение таблицы 5.1

Названия заболева- ний	Годы						В среднем за три года	
	2012		2013		2014			
	гол.	%	гол.	%	гол.	%	гол.	%
ГСББЖ								
Инфекцион- ный ларин- готрахео- бронхит	3	33,33	6	46,15	6	35,29	5,0	38,46
Парвовирус- ный энтерит	4	44,45	5	38,46	8	47,06	5,67	43,62
Чума плотоядных	2	22,22	2	15,39	3	17,65	2,33	17,92
Итого	9	100	12	100	17	100	13,0	100
Всего								
Инфекцион- ный ларин- готрахео- бронхит	32	60,38	39	52,70	36	42,35	35,67	50,47
Парвовирус- ный энтерит	15	28,30	25	33,79	37	43,53	25,67	36,32
Чума плотоядных	6	11,32	10	13,51	12	14,12	9,33	13,21
Итого	53	100	74	100	85	100	70,67	100

В целом отмечена устойчивая тенденция увеличения числа инфекционных болезней. Так в 2012 г. зарегистрировано 53 инфекционных заболевания среди популяции собак, в 2013 г. – 74 случая, а в 2014 году – 85, что на 60 % больше чем в 2012 году.

При изучении заболеваемости собак инфекционными заболеваниями (табл. 5.2), установлено, что наибольший пик заболеваемости приходится на 2014 г., который составил 8,03 %, что связано с увеличением случаев заболеваний.

Наибольший уровень заболеваемости инфекционным ларинготрахеобронхитом отмечен в 2013 г.

5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики

Таблица 5.2 –Заболеваемость собак инфекционными заболеваниями, регистрируемые в ветеринарных клиниках г. Благовещенска за 2012-2014 гг.

Название заболеваний	Годы								
	2012			2013			2014		
	число заболевших	число восприимчивых животных	процент заболевших	число заболевших	число восприимчивых животных	процент заболевших	число заболевших	число восприимчивых животных	процент заболевших
Ветдоктор									
Инфекционный ларинготрахеобронхит	14	386	3,63	16	420	3,81	17	451	3,77
Парвовирусный энтерит	6		1,55	10		2,38	15		3,33
Чума плотоядных	2		0,52	4		0,95	4		0,89
Итого	22		5,7	30		7,14	36		7,98
Амурвет									
Инфекционный ларинготрахеобронхит	9	294	3,06	10	299	3,34	6	301	1,99
Парвовирусный энтерит	5		1,70	6		2,01	8		2,66
Чума плотоядных	2		0,68	3		1,00	3		1,00
Итого	16		5,44	19		6,34	17		5,65
Центр здоровья животных									
Инфекционный ларинготрахеобронхит	6	198	3,03	7	171	4,09	7	186	3,76
Парвовирусный энтерит	4		2,02	4		2,34	6		3,23

5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики

Продолжение таблицы 5.2

Названия заболеваний	Годы								
	2012			2013			2014		
	число заболевших	число восприимчивых животных	процент заболевших	число заболевших	число восприимчивых животных	процент заболевших	число заболевших	число восприимчивых животных	процент заболевших
Чума плотоядных	1		0,51	1		0,59	2		1,08
Итого	11		5,56	12		7,02	15		8,07
ГСББЖ									
Инфекционный ларинготрахеобронхит	3		2,34	6		4,59	6		4,96
Парвовирусный энтерит	4	128	3,13	5	131	3,82	8	121	6,61
Чума плотоядных	2		1,56	2		1,53	3		2,45
Итого	9		7,03	13		9,92	17		14,05
Всего									
Инфекционный ларинготрахеобронхит	32		3,18	39		3,82	36		3,40
Парвовирусный энтерит	15	1006	1,49	25	1021	2,45	37	1059	3,49
Чума плотоядных	6		0,60	10		0,98	12		1,13
Итого	53		5,27	74		7,25	85		8,03

Количество заболевших собак составило 39, или 3,82 % от числа восприимчивых животных, что на 20,88 % больше чем в 2012 г. и на 8,33 % больше чем в 2014 году. Уровень заболеваемости парвовирусным энтеритом за

анализируемый период стабильно увеличивается. Так в 2012 г. выявлено 15 заболевших, что составило 1,49 % от числа всех восприимчивых животных, в 2013 г. – 25 случаев, или 2,45 %, в 2014 г. – 37 случаев или 3,49 %. Уровень заболеваемости чумой плотоядных также увеличивается, в 2012 г. он составил 0,6 %; в 2013 г. – 0,98 %; в 2014 г. – 1,13 %, что связано с несвоевременной специфической профилактикой.

При изучении показателя летальности собак от инфекционных болезней, который характеризует тяжесть течения болезни получены следующие результаты (таблица 5.3). Наибольший уровень летальности наблюдается в 2014 году, составив 23,53 % от числа заболевших животных, наименьший отмечен в 2013 году – 14,87%.

Рассматривая летальность по инфекционным заболеваниям, установлено, что в 2012 г. количество павших собак составило 5 голов из 6 заболевших или 83,33 %; в 2013 г. летальность снизилась в два раза и составила 40 %, но к 2014 г. вновь увеличилась до 75 %. Наименьший показатель летальности приходится на инфекционный ларинготрахеобронхит, который в 2012 г. составил 3,13 %, в 2013 г. – 7,69 % и к 2014 г. увеличился до 11,11 %, что связано с осложнением заболевания на фоне присоединения вторичной инфекции и сниженного иммунитета.

Смертность собак от инфекционных заболеваний увеличивается (табл. 5.4). Так в 2012 г. смертность составляла 0,99 %, к 2013 г. увеличилась до 1,08 % и к 2014 г. выросла до 1,89 %, что связано с увеличением числа павших животных в два раза.

5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики

Таблица 5.3 – Летальность собак от инфекционных болезней, регистрируемых в ветеринарных клиниках г. Благовещенска за 2012-2014 гг.

Названия заболеваний	Годы								
	2012			2013			2014		
	заболело	пало	процент	заболело	пало	процент	заболело	пало	процент
Ветдоктор									
Инфекционный ларинготрахеобронхит	14	0	-	16	1	6,25	17	1	11,76
Парвовирусный энтерит	6	1	16,67	10	1	10,0	15	2	13,33
Чума плотоядных	2	1	50,0	4	2	50,0	4	2	50,0
Итого	22	2	9,09	30	4	13,33	36	5	13,89
Амурвет									
Инфекционный ларинготрахеобронхит	9	0	-	10	1	10,0	6	1	16,67
Парвовирусный энтерит	5	1	20,0	6	1	16,67	8	2	25,0
Чума плотоядных	2	1	50,0	3	1	33,33	3	3	100,0
Итого	16	2	12,5	19	3	15,79	17	6	35,29
Центр здоровья животных									
Инфекционный ларинготрахеобронхит	6	0	-	7	1	14,29	7	1	14,29
Парвовирусный энтерит	4	1	25,0	4	1	25,0	6	1	16,67

*5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской
косули в схеме вакцинопрофилактики*

Продолжение таблицы 5.3

Названия заболеваний	Годы								
	2012			2013			2014		
	заболело	пало	процент	заболело	пало	процент	заболело	пало	процент
Чума плотояд- ных	1	1	100,0	1	0	-	2	2	100,0
Итого	11	2	18,18	12	2	16,67	15	4	26,67
ГСББЖ									
Инфекцион- ный ларинготрахео- бронхит	3	1	33,33	6	0	-	6	1	16,67
Парвовирус- ный энтерит	4	1	25,0	5	1	20,0	8	2	25,0
Чума плотояд- ных	2	2	100,0	2	1	50,0	3	2	66,67
Итого	9	4	44,44	13	2	15,39	17	5	29,41
Всего									
Инфекцион- ный ларинготрахео- бронхит	32	1	3,13	39	3	7,69	36	4	11,11
Парвовирус- ный энтерит	15	4	26,67	25	4	16,0	37	7	18,92
Чума плотояд- ных	6	5	83,33	10	4	40,0	12	9	75,0
Итого	53	10	18,87	74	11	14,87	85	20	23,53

Наиболее высокая смертность собак наблюдается от чумы плотоядных. Так в 2012 г. пало пять собак от общего числа восприимчивых животных, что составило 0,5 %, в 2013 г. – 0,39 %, и в 2014 г. смертность увеличилась до 0,85 %. Наименьший уровень смертности приходится

5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики

на инфекционный ларинготрахеобронхит, при этом показатель за анализируемый период увеличивается. Так в 2012 г. он составил 0,1 %, в 2013 г. – 0,29 % и в 2014 г. – 0,38 % от числа восприимчивых животных.

Таблица 5.4 – Смертность собак при инфекционных болезнях, регистрируемых в ветеринарных клиниках г. Благовещенска за 2012-2014 гг.

Название заболеваний	Годы								
	2012			2013			2014		
	число восприимчивых животных	пало	процент	число восприимчивых животных	пало	процент	число восприимчивых животных	пало	процент
Ветдоктор									
Инфекционный ларинготрахеоброн- хит	386	0	-	420	1	0,24	451	1	0,22
Парвовирусный энтерит		1	0,26		1	0,24		2	0,44
Чума плотоядных		1	0,26		2	0,48		2	0,44
Итого		2	0,52		4	0,95		5	1,11
Амурвет									
Инфекционный ларинготрахеоброн- хит	294	0	-	299	1	0,33	301	1	0,33
Парвовирусный энтерит		1	0,34		1	0,33		2	0,67
Чума плотоядных		1	0,34		1	0,33		3	1,0
Итого		2	0,68		3	0,99		6	1,99
Центр здоровья животных									
Инфекционный ларинготрахеоброн- хит	198	0	-	171	1	0,59	186	1	0,54
Парвовирусный энтерит		1	0,51		1	0,59		1	0,54
Чума плотоядных		1	0,51		0	-		2	1,08
Итого		2	1,01		2	1,17		4	2,15

5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики

Продолжение таблицы 5.4

Названия заболеваний	Годы								
	2012			2013			2014		
	число восприимчивых животных	пало	процент	число восприимчивых животных	пало	процент	число восприимчивых животных	пало	процент
ГСББЖ									
Инфекционный ларинготрахеоброн- хит	128	1	0,78	131	0	-	121	1	0,83
Парвовирусный энтерит		1	0,78		1	0,76		2	1,65
Чума плотоядных		2	1,56		1	0,76		2	1,65
Итого		4	3,13		2	1,53		5	4,13
Всего									
Инфекционный ларинготрахеоброн- хит	1006	1	0,1	1021	3	0,29	1059	4	0,38
Парвовирусный энтерит		4	0,4		4	0,39		7	0,66
Чума плотоядных		5	0,5		4	0,39		9	0,85
Итого		10	0,99		11	1,08		20	1,89

Данные таблицы 5.5 свидетельствуют о том, что за анализируемый период эффективность вакцинации снижается, так как заболеваемость вакцинированных собак в 2012 г. составила 1,22 %, в 2013 г. – 1,62 % и к 2014 г. увеличилась до 1,73 %. В среднем за три года вакцинировано 918 собак, что составило 89,18 % от числа восприимчивых животных, из них заболело инфекционными болезнями 1,53 %. При этом в наибольшей степени инфекционным ларинготрахеобронхитом, что связано с осо-

бенностями этиологии заболевания и в виду того, что заболеванию подвержены щенки и собаки с пониженной сопротивляемостью организма.

Таким образом, анализ эпизоотической ситуации показал, что в г. Благовещенске за 2012-2014 гг. значительное распространение имеет инфекционный ларинготрахеобронхит. За три года зарегистрировано в среднем 36 случаев болезни, что составило 50,47 %, при этом увеличивается уровень летальности, – от 3,13 % до 11,11 %. В целом основные показатели интенсивности эпизоотического процесса (заболеваемость, летальность, смертность) за 2012-2014 гг. по инфекционным заболеваниям в г. Благовещенске увеличиваются, что связано с уменьшением эффективности вакцинации, одной из причин которой может быть снижение резистентности организма. Следовательно, применение иммуномодуляторов при иммунизации животных может значительно повысить эффективность вакцинации и улучшить нозофиль инфекционных болезней среди собак.

5.2 Влияние ПКМК на показатели клеточного иммунитета собак

В последние годы значительно возрос интерес исследователей и практических специалистов к проблеме иммуномодуляции, что связано прежде всего с усилением экологического неблагополучия и возрастающей нагрузкой на организм животных неблагоприятных антропогенных факторов, существенным ростом иммунодефицитных состояний и пониманием того, что развитие большинства патологических процессов обусловлено нарушением функций иммунной системы (Крапивина Е. В., 2001).

Таблица 5.5 – Эффективность вакцинации собак от инфекционных болезней регистрируемых в ветеринарных клиниках г. Благовещенска за 2012-2014 гг.

Показатели	Годы												В среднем за три года			
	2012				2013				2014							
	ИП Герасименко	ИП Набока	ИП Воробьев	ГСБЖ	ИП Герасименко	ИП Набока	ИП Воробьев	ГСБЖ	ИП Герасименко	ИП Набока	ИП Воробьев	ГСБЖ	ИП Герасименко	ИП Набока	ИП Воробьев	ГСБЖ
Число восприимчивых жи- вотных, гол.	386	294	198	128	420	299	171	131	451	301	186	121	419	298	185	127
из них вакцинировано, гол.	349	258	182	112	378	283	160	106	395	274	159	96	374	272	167	105
процентов	90,42	87,76	91,92	87,5	90,0	94,65	93,57	80,92	87,58	91,03	85,48	79,34	89,26	91,28	90,27	82,68
из них заболело, гол.	4	3	3	1	6	3	4	2	6	3	3	4	5,3	3,0	3,33	2,33
процентов	1,15	1,16	1,65	0,89	1,59	1,06	2,5	1,89	1,52	1,1	1,89	4,17	1,42	1,1	1,99	2,22
в том числе:																
- инфекционным лиринготрахеобронхитом	3	2	2	1	4	2	3	2	4	2	2	2	3,67	2,0	2,33	1,67
- парвовирусным энтеритом	1	1	-	-	1	1	-	1	2	-	1	1	1,33	0,67	0,33	0,67
- чумой плотоядных	-	-	1	-	1	-	1	-	1	1	-	1	0,67	0,33	0,67	0,33
Всего восприимчивых жи- вотных, гол.	1006				1021				1059				1028,67			
в том числе вакцинировано, гол.	901				927				924				917,33			
процентов	89,56				90,79				87,25				89,18			
из них заболело, гол.	11				15				16				14			
процентов	1,22				1,62				1,73				1,53			

В связи с этим возникает необходимость в более широком использовании уже имеющихся и в разработке новых различных приемов и средств, способных стимулировать защитные силы организма животных. Особого внимания для повышения резистентности сельскохозяйственных животных заслуживает использование генетических и фенотипических факторов, а также неспецифических и специфических иммуномодуляторов (Кетлинский С. А., 1992; Савченкова И. П., 2011).

В литературных источниках (Лазарева Д. Н., 1985; Машковский М. Д., 1993; Колужин О. В., 1999; Даричева Н. Н., 2011) имеется информация об использовании для повышения резистентности млекопитающих нетрадиционных подходов с использованием фитопрепаратов, адъювантов интерферона, поливак-Н, и тканевых биостимуляторов. Что касается последних, казалось бы, эра тканевых стимуляторов ушла в прошлое, но в последнее время появляются статьи, направленные на изучение производных клеток костного мозга. Ведь родоначальником иммунной системы организма млекопитающих является его стволовая клетка, участвующая как в клеточном, так и в гуморальном иммунитете.

Влияние ПКМК на показатели клеточного и гуморального иммунитета изучали на 16 собаках, в возрасте от двух до шести месяцев, в период дегельминтизации (Каниквантел+) и вакцинации (Нобивак DHPi). Животных распределили на группы в зависимости от дозы вводимого препарата, который вводили подкожно в дозах 0,05; 0,1 и 0,15 мл на один килограмм массы животного на первый, 14 и 42 дни с вакциной в соответствии с наставлением по применению. На 7, 21, 35, 49 дни оценивали влияние препарата на показатели клеточного и гуморального иммунитета этих животных. Контролем

послужила группа собак в период вакцинации и ревакцинации (Нобивак DHPPi) без применения препарата из клеток костного мозга сибирской косули.

Получены данные (табл. 5.6), свидетельствующие о том, что доза препарата из клеток костного мозга сибирской косули влияет на морфологические показатели крови собак. Так, при применении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм массы животного, количество эритроцитов осталось на неизменном уровне и данная тенденция сохранена на протяжении всего эксперимента. Увеличение дозы препарата не оказывает существенных изменений в содержании эритроцитов, при этом данные статистически не подтвердились.

Изменения наблюдаются в содержании лейкоцитов. Так их количество возросло к седьмому дню на 18,9 %, к 49 дню увеличилось на 12,03 % и составило $12,05 \pm 0,83 \cdot 10^9/\text{л}$. Из показателей лейкограммы, увеличилось только содержание сегментоядерных нейтрофилов и составило $55,5 \pm 1,45$ %, что связано с уменьшением количества лимфоцитов на 10,5 % и моноцитов 19,4 %, данные статистически не подтвердились. При увеличении дозы препарата до 0,1 мл на один килограмм массы животного отмечаются следующие изменения: количество лейкоцитов к седьмому дню эксперимента повысилось на 44,1 %, к 21 дню на 45,5 %, к 35 дню на 40 % и к 49 дню на 41 %. Следовательно, максимальное их количество вырабатывается на 21 день.

При введении препарата из клеток костного мозга в дозе 0,15 мл на один килограмм массы животного установлено, что количество лейкоцитов к 49 дню увеличилось на 36,4 %.

Таблица 5.6 – Морфологические показатели крови собак под влиянием белкового препарата из клеток костного мозга сибирской косули в зависимости от дозы, ($M \pm m$), ($n=16$)

Схема опыта		Эритроциты, $10^{12}/л$	Лейкоциты, $10^9/л$	Лейкограмма, %				
				нейтро- филы п/я	нейтрофилы с/я	эозино- филы	лимфо- циты	моноциты
кон- троль	7 день	7,65±0,62	8,73±0,35	3,25±0,55	61,25±1,91	2,75±0,55	27,5±1,37	5,25±0,29
	21 день	7,7±0,56	9,68±0,37	3,0±0,47	56,5±1,20	3,25±0,54	31,25±0,99	6,0±0,67
	35 день	7,65±0,57	10,2±0,39	3,5±0,33	52,25±0,55	2,75±0,55	34,5±0,33	7,0±0,47
	49 день	7,73±0,36	10,73±0,13	3,5±0,33	50,0±0,82	3,0±0,67	35,75±0,73	7,75±0,29
опыт 1 0,05 мл на 1 кг массы	7 день	7,7±0,66	10,38±1,19	2,0±0,47	61,75±1,97	2,5±0,33	29,0±1,99	4,75±0,54
	21 день	7,7±0,58	10,88±1,22	3,0±0,47	56,75±1,14	3,5±0,75	31,5±1,92	5,25±0,55
	35 день	8,25±0,29	10,05±1,03	2,75±0,55	57,75±1,28	2,75±0,55	31,25±0,55	5,5±0,33
	49 день	8,32±0,24	12,05±0,83	3,25±0,56	55,5±1,45	3,0±0,67	32,0±1,25	6,25±0,29
опыт 2 0,1 мл на 1 кг массы	7 день	7,78±0,15	12,58±0,99*	1,0±0,47**	61,25±2,31	2,0±0,47	29,75±3,21	6,0±0,47
	21 день	7,85±0,14	14,08±0,46**	3,0±0,47	54,0±1,49	2,75±0,29	32,5±1,11	7,75±0,55*
	35 день	7,83±0,15	14,28±0,33**	1,3±0,55**	51,75±0,9	3,25±0,29	34,25±0,73	9,0±0,77**
	49 день	7,8±0,13	15,13±0,39**	1,5±0,75**	48,25±0,99	3,50±0,58	37,25±0,73	9,5±0,33***
Опыт 3 0,15 мл на 1 кг массы	7 день	9,08±0,13	13,08±0,55	3,25±0,55	54,5±1,73	4,75±0,55	32,5±1,37	5,0±0,47
	21 день	9,23±0,08	13,55±0,42	3,0±0,47	49,25±1,09	6,25±0,73	34,5±0,1	7,0±0,82
	35 день	9,25±0,15	14,1±0,44	4,75±0,55	48,25±1,44	6,0±0,47	33,5±1,53	7,5±0,33
	49 день	9,23±0,16	14,63±0,29	5,0±0,82	49,0±1,63	6,75±0,99	31,75±0,99	7,6±0,34

Примечание: * $P < 0,1$; ** $P < 0,05$; *** $P < 0,01$; **** $P < 0,001$ – в сравнении с контролем.

Рассматривая показатели лейкограммы, в зависимости от дозы введения препарата, отметим следующее: при дозе ПКМК 0,05 мл на один килограмм массы животного количество моноцитов достоверно возрастает и к 49 дню их количество составило 9,5 % от общего количества клеток, что на 22,6 % больше в сравнении с контрольной группой. При дозе ПКМК 0,1 мл на один килограмм массы животного количество лимфоцитов возрастает и к седьмому дню увеличилось на 8,2 %, а к 49 дню – на 4,2 % в сравнении с контролем. Увеличение количества эозинофилов наблюдается только к 35 дню эксперимента и составило 3,5 процентов от общего количества клеток. Количество сегментоядерных внутри группы снизилось на 21,2 %, что связано с увеличением иммунокомпетентных клеток.

При введении ПКМК, в дозе 0,15 мл на один килограмм массы животного, в составе лейкограммы отмечены следующие изменения: отмечается увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов к 35 дню на 35,7 %, к 49 дню на 42,9 %. Также увеличивается количество эозинофилов к 7 дню на 72,7 %, к 21 дню на 92,3 %, к 35 дню на 118,2 % и к 49 дню на 125 %, что может быть связано с ответной клеточной реакцией организма на введение повышенной дозы белкового препарата.

Таким образом, оптимальной дозой введения белкового препарата из клеток костного мозга, для собак в возрасте до шести месяцев, является 0,1 мл на один килограмм массы животного на одно введение, так как в результате применения белкового препарата из клеток костного мозга сибирской косули, в период вакцинации, в этой дозе увеличивает количество лейкоцитов. При этом их количество к седьмому дню производственного

эксперимента увеличилось на 18,9 % по сравнению с показателями контрольной группы, а к 49 дню возросло в 1,5 раза и составило $15,13 \pm 0,39 \cdot 10^9/\text{л}$, данные статистически достоверны.

Рассматривая показатели лейкограммы, можно отметить, что при введении препарата из клеток костного мозга в дозе 0,1 мл на один килограмм массы животного, на седьмой день производственного эксперимента, отмечается увеличение количества моноцитов в сравнении с контролем на 14,3 %, лимфоцитов – на 8,2 %. Количество палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов снизилось на 69,2 % и 27,3 % соответственно, что связано с увеличением количества иммунокомпетентных клеток. На 21 день производственного эксперимента отмечается достоверное увеличение количества моноцитов на 29,2 % по сравнению с контролем, на 35 день их количество составило 9,0, а к 35 дню – 9,5, что на 22,6 % больше, чем в контрольной группе. К 35 дню отмечается увеличение количества эозинофилов на 18,2 %, к 49 дню – на 16,7 % по сравнению с контролем.

Отмечается увеличение количества лимфоцитов, в среднем на 4–8 % по сравнению с контролем. Количество палочкоядерных нейтрофилов к 49 дню эксперимента уменьшилось в среднем на 57,1 %, а количество сегментоядерных нейтрофилов на 3,5 %, за счет увеличения иммунокомпетентных клеток.

Таким образом, использование препарата из клеток костного мозга в период вакцинации собак в возрасте от двух до шести месяцев дает положительный результат, происходит дополнительная выработка иммунокомпетентных клеток и тем самым повышается иммунореактивность организма животных в целом.

5.3 Влияние ПКМК на показатели гуморального иммунитета собак

В настоящее время учеными разрабатываются и изучаются различные средства и методы, положительно влияющие на иммунную систему организма животных (Топурия Л. Ю., 2006; Шахов А. Г., 2006; Хмылов А. Г., 2006; Федоров Ю. Н., 2013). Они нашли успешное применение в схеме профилактических и противоэпизоотических мероприятий, с целью повышения общей резистентности и иммунного ответа на различные антигены. Несмотря на значительное количество данных препаратов, многие вопросы, касающиеся лечения и профилактики иммунодефицитных состояний, остаются нерешенными. Анализируя имеющуюся информацию по затронутой проблеме, сегодня можно констатировать, что исследование проблемы иммунокоррекции с помощью препаратов костно-мозгового происхождения, являющихся модуляторами физиологического происхождения, весьма актуально.

При исследовании влияния белкового препарата из клеток костного мозга сибирской косули на гуморальные показатели защиты организма установлено, что ответная реакция организма зависит от дозы введения препарата (табл. 5.7). Так, при введении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм массы животного отмечается достоверное увеличение содержания общего белка в сыворотке крови к седьмому дню эксперимента на 9 %, к 21 дню на 12,5 %, к 35 дню на 12,2 % и к 49 дню на 12 %, что составило 66,7 г/л ($P < 0,05$) (рис. 5.1).

5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской косули в схеме вакцинопрофилактики

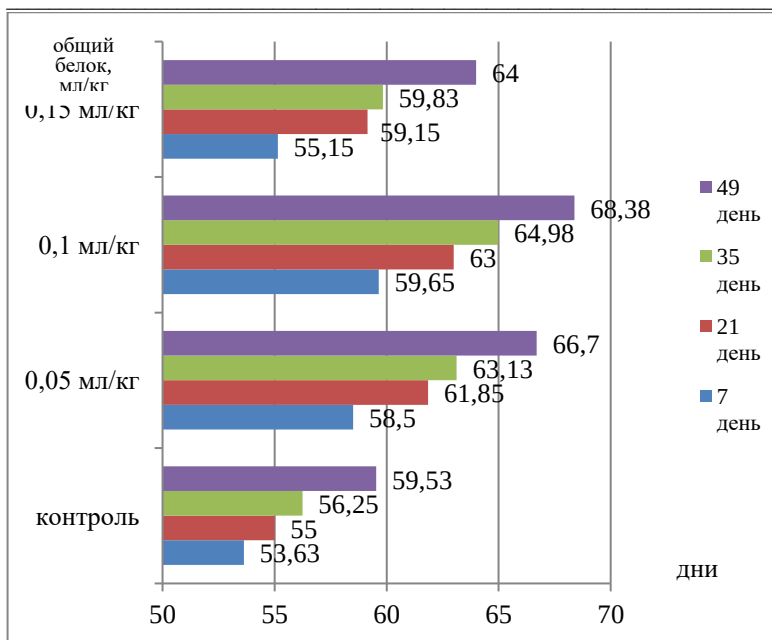


Рисунок 5.1 – Влияние ПКМК на содержание общего белка в сыворотке крови собак, г/л

При введении препарата в дозе 0,1 мл на один килограмм массы животного также отмечается достоверное увеличение количества общего белка к седьмому дню на 11,2 %, к 21 дню на 14,6 %, к 35 дню на 15,5 % и к 49 дню на 14,9 % ($P<0,01$). При введении препарата в дозе 0,15 мл на один килограмм массы животного также отмечается увеличение количества общего белка к седьмому дню на 2,8 %, к 21 дню на 7,6 %, к 35 дню на 6,4 % и к 49 дню на 7,5 % ($P<0,1$).

Таблица 5.7 – Иммунобиологические показатели крови собак до и после введения препарата из клеток костного мозга сибирской косули, (M±m), n=16

Схема опыта		Общий белок, г/л	Альбумины, г/л	Глобулины, г/л				
				всего	α_1	α_2	β	$\gamma_1+\gamma_2$
контроль	7 день	53,63±1,99	32,75±1,44	20,88±0,6	2,8±0,3	4,26±0,05	4,84±0,24	8,98±0,07
	21 день	55,0±1,25	33,73±1,0	21,28±0,36	2,79±0,3	4,29±0,05	4,88±0,26	9,32±0,33
	35 день	56,25±1,52	34,28±1,07	21,98±0,63	2,85±0,28	4,43±0,03	5,0±0,25	9,7±0,51
	49 день	59,53±1,12	35,13±0,83	24,4±0,78	3,03±0,32	4,8±0,13	5,3±0,26	11,28±0,81
опыт 1 0,05 мл на 1 кг массы	7 день	58,5±1,86	34,0±0,82	24,5±1,73***	2,9±0,19	4,28±0,13	5,28±0,03	12,05±1,66
	21 день	61,85±2,09**	34,6±0,72	27,25±1,87**	3,24±0,32	4,38±0,05	5,45±0,06*	14,18±1,55**
	35 день	63,13±2,22**	34,9±0,72	28,23±1,91**	3,28±0,33	4,48±0,06	5,6±0,08*	14,88±1,6**
	49 день	66,7±2,09**	36,1±0,36	30,6±2,01**	3,58±0,38	4,85±0,11	6,13±0,09**	16,05±1,69**
опыт 2 0,1 мл на 1 кг массы	7 день	59,65±0,62**	34,18±0,61	25,48±1,14**	3,04±0,27	4,19±0,07	5,21±0,1	13,04±1,3**
	21 день	63,0±0,82***	34,73±0,83	28,28±1,2***	3,23±0,1	4,35±0,02	5,49±0,15*	15,21±1,13***
	35 день	64,98±0,43***	35,3±0,57	29,68±0,52****	3,38±0,11	4,55±0,08	5,58±0,1*	16,18±0,56***
	49 день	68,38±0,43****	36,25±0,73	32,13±0,36****	3,78±0,15*	5,0±0,08	5,9±0,05*	17,45±0,45****
опыт 3 0,15 мл на 1 кг массы	7 день	55,15±0,78	32,65±1,38	22,5±0,73	3,31±0,06	4,08±0,19	5,0±0,21	10,11±0,62
	21 день	59,15±0,34**	34,28±0,93	24,88±0,61***	3,5±0,08**	4,55±0,15	5,8±0,14**	11,02±0,57**
	35 день	59,83±0,30*	34,33±0,88	25,5±0,66***	3,5±0,05*	4,75±0,1**	5,83±0,17**	11,43±0,65*
	49 день	64,0±0,47**	35,73±0,55	28,28±0,28***	3,8±0,09*	5,13±0,09*	6,15±0,2**	13,2±0,31*

Примечание: *P<0,1; **P<0,05; ***P<0,01; ****P<0,001 – в сравнении с контролем.

Таким образом, доза 0,1 мл на один килограмм является оптимальной для иммуностимуляции в период вакцинации и ревакцинации собак в возрасте до шести месяцев.

Сравнивая показатели фракционного состава общего белка сыворотки крови, отметим, что действие препарата в меньшей степени сказалось на количестве альбуминов, – их содержание увеличилось максимум на 4,4 % и данные статистически ненадежны.

Содержание глобулинов при применении препарата в различной дозировке достоверно повышается. В дозе 0,05 мл на один килограмм содержание глобулинов к седьмому дню увеличилось на 17,3 %, к 21 дню на 28,1 %, к 35 дню на 28,4 %, к 49 дню на 25,4 %. В дозе 0,1 мл на один килограмм содержание глобулинов к седьмому дню увеличилось на 22,0 %, к 21 дню на 32,9 %, к 35 дню на 35,0 %, к 49 дню на 31,7 %. В дозе 0,15 мл на один килограмм содержание глобулинов к седьмому дню увеличилось на 7,8 %, к 21 дню на 16,9 %, к 35 дню на 16,0 %, к 49 дню на 15,9 %. Таким образом, большее количество глобулиновых фракций отмечается во второй опытной группе с дозой введения белкового препарата в дозе 0,1 мл на один килограмм.

Рассматривая глобулиновую фракцию, можно отметить, что существенного влияния белковый препарат не оказывает на содержание α_2 -глобулиновых фракций, так как их количество максимум увеличилось на 6,9 % при дозе препарата 0,15 мл на один килограмм к 49 дню эксперимента. Содержание α_2 -глобулинов увеличивается при введении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм: к седьмому дню их содержание увеличилось на 0,4 %, к 49 дню на 1 %; в дозе 0,1 мл на один килограмм

– к седьмому дню на 0,6 %, к 49 дню на 4,2 %; в дозе 0,15 мл на один килограмм – к седьмому дню их содержание было меньше показателя контрольной группы на 4,2 %, но к 49 дню количество α_2 -глобулинов увеличилось на 6,9 %, что связано с увеличением дозы вводимого препарата.

Количество β -глобулинов также увеличивается, в зависимости от дозы вводимого препарата. При введении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм к седьмому дню их содержание достоверно увеличилось на 9,1 %, к 49 дню на 15,7 %; в дозе 0,1 мл на один килограмм – к седьмому дню на 7,6 %, к 49 дню на 11,3 %; в дозе 0,15 мл на один килограмм – к седьмому дню на 3,3 %, но к 49 дню количество β -глобулинов увеличилось на 16,0 %, что может быть связано с индивидуальными особенностями реакции организма на введение белкового препарата.

При исследовании гамма-глобулиновых фракций (рис. 5.2) установлено достоверное их увеличение.

При введении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм к седьмому дню их содержание достоверно увеличилось на 34,2 %, к 21 дню на 52,25 %, к 35 дню на 53,4 % и к 49 дню на 42,3 %; в дозе 0,1 мл на один килограмм – к седьмому дню увеличилось на 45,2 %, к 21 дню на 63,2 %, к 35 дню на 66,8 % и к 49 дню на 54,7 %; в дозе 0,15 мл на один килограмм – гамма-глобулиновые фракции увеличились к седьмому дню на 12,6 %, к 21 дню на 18,2 %, к 35 дню на 17,8 % и к 49 дню количество $\gamma_1 + \gamma_2$ -глобулинов увеличилось на 17,0 %, что связано с активацией иммунной защиты организма и повышением реактивности организма в ответ на введение белкового препарата из клеток костного мозга сибирской косули.

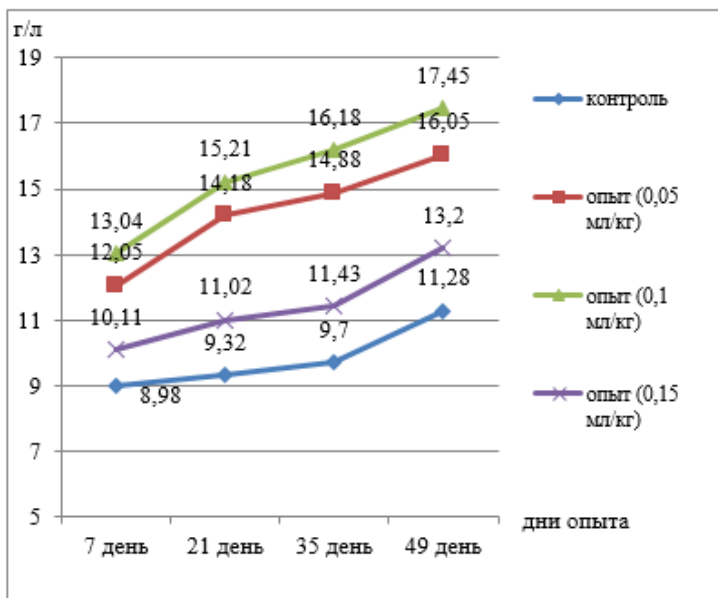


Рисунок 5.2 – Содержание $\gamma_1 + \gamma_2$ -глобулинов в сыворотке крови собак после применения ПКМК в различных дозировках, г/л

Установлено, что оптимальной дозой введения белкового препарата собакам в возрасте до шести месяцев является 0,1 мл на один килограмм массы животного, при этом наблюдается значительное повышение иммуноглобулинов.

Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови при введении оптимальной дозы белкового препарата из клеток костного мозга в период вакцинации и ревакцинации достоверно повышается (рис. 5.3). В контрольной

группе без применения белкового препарата их количество составило на седьмой день эксперимента 8,98 г/л и к 49 дню увеличилось на 25,6 %, составив 11,28 г/л. В опытной группе с применением белкового препарата их содержание на седьмой день составило 13,04 г/л, а к 49 дню эксперимента – 17,45 г/л, что на 33,8% больше по сравнению с начальными показателями.

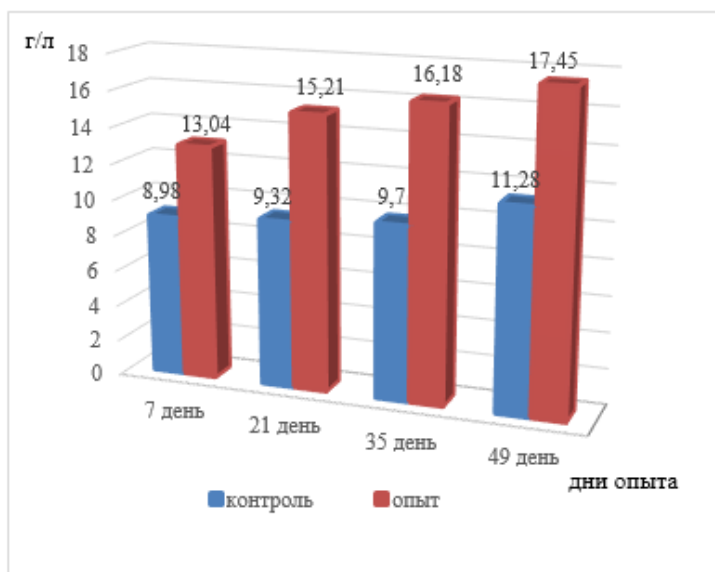


Рисунок 5.3 – Влияние белкового препарата, в дозе 0,1мл/кг, на содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови собак в возрасте до 6 месяцев, n=8, г/л

Таким образом, можно утверждать, что применение препарата костно-мозгового происхождения положительно влияет на показатели клеточного и гуморального

иммунитета животных в период вакцинации и ревакцинации.

5.4 Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов при применении ПКМК у собак

Использование иммуномодулирующих препаратов без контроля иммунологических показателей может привести к нарушению работы иммунной системы и иммуносупрессии (Фёдоров Ю. Н., 2005). Фагоцитоз играет важную роль в защите организма от чужеродных факторов. Нарушение его функции приводит к повышенной восприимчивости к инфекциям (Басова Н. Ю., 2014). Поэтому изучение показателей фагоцитоза животных и определение влияния ПКМК на эти параметры является актуальной проблемой.

Фагоцитарную активность нейтрофилов исследовали по методу Е. С. Нишевой, А. Н. Галустян (2003). Поглотительную способность клеток оценивали по двум показателям: вычисляли фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ). Для оценки нативных препаратов крови использовали фазово-контрастную микроскопию. При подсчете 100 нейтрофилов определяли количество поглощенных частиц. Оценка фагоцитоза проводилась в соответствии с фазами реакции – через 30 минут и 90 минут. Для исследования последней фазы фагоцитоза – переваривания – определяли индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ).

По данным таблицы 5.8 видно, что потенциальная функциональная активность нейтрофилов под действием препарата повышается, так как биологически активный препарат достоверно увеличивал иммунологические показатели крови собак ($P < 0,001$).

*5 Применение препарата из клеток костного мозга сибирской
косули в схеме вакцинопрофилактики*

Таблица 5.8 – Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов у собак при применении биологически активного препарата ПКМК; (n=16), (M±n)

Доза вводи-мого пре-парата	День экспе-ри-мента	Фагоцитар-ный индекс (ФИ), %	Фагоцитар-ное число (ФЧ), у.е.	Индекс завершено-сти фагоци-тоза (ИЗФ)
Контроль	Фон	26,25±1,22	2,22±0,21	0,97±0,04
	7 день	27,30±1,56	2,33±0,28	1,10±0,04
	21 день	32,50±0,18	2,37±0,22	1,12±0,02
	35 день	37,08±0,49	2,64±0,11	1,14±0,04
	49 день	38,53±1,81	2,58±0,31	1,13±0,04
0,05 мл/кг	Фон	30,67±3,30	2,16±0,10	0,90±0,06
	7 день	45,18±5,12***	3,38±0,23***	1,13±0,04
	21 день	51,68±3,93**	3,74±0,22**	1,13±0,05
	35 день	49,13±4,63***	3,45±0,07*	1,08±0,05
	49 день	51,82±3,51***	3,31±0,05**	1,07±0,07
0,1 мл/кг	Фон	28,01±2,62	2,04±0,13	0,98±0,03
	7 день	59,84±3,67*	3,78±0,19**	1,28±0,09
	21 день	88,97±2,16*	6,10±0,52*	1,37±0,04
	35 день	85,83±4,34*	5,12±0,40**	1,29±0,03
	49 день	77,64±5,79*	4,14±0,41***	1,14±1,28
0,15 мл/кг	Фон	38,91±3,27***	2,29±0,15	0,90±0,04
	7 день	51,67±3,27*	2,96±0,26	1,10±0,02
	21 день	60,05±3,52*	3,45±0,32***	1,12±0,03
	35 день	60,46±3,69*	3,30±0,28**	1,11±0,03
	49 день	60,36±4,77**	3,12±0,27***	1,05±0,05

Примечание: *P<0,001; **P<0,01; *** P<0,05 – в сравнении с контролем.

При исследовании оценки фагоцитарной активности нейтрофилов нами были выявлены следующие изме-

нения. Так, фагоцитарный индекс при применении препарата из клеток костного мозга сибирской косули в дозе 0,05 мл/кг на седьмой день после введения составлял $45,18 \pm 5,12$ %, что на 47,31 % больше по сравнению с фоном и на 65,5 % больше по сравнению с показателями контрольной группы животных ($P < 0,05$). На 21 день эксперимента ФИ увеличился по сравнению с фоном на 68,5 %, по сравнению с контролем на 59,02 % и составил $51,68 \pm 3,93$ %. На 35 день происходит незначительное снижение ФИ по сравнению с 21 днем эксперимента: его значение составило $49,13 \pm 4,63$ %. На 49 день эксперимента ФИ увеличился по сравнению с фоном на 68,96 %, по сравнению с контролем на 34,49 % и составил $51,82 \pm 3,51$ %.

При увеличении дозы препарата до 0,1 мл/кг наблюдали следующие изменения ФИ. Так, на седьмой день после введения он составлял $59,84 \pm 3,67$ %, что в 2,14 раза больше по сравнению с фоном и в 2,19 раза больше по сравнению с показателями контрольной группы животных. На 21 день эксперимента ФИ достоверно увеличился по сравнению с фоном в 3,18 раза, по сравнению с контролем в 2,74 раза и составил $88,97 \pm 2,16$ %. На 35 и 49 дни происходит незначительное снижение ФИ, который составил $85,83 \pm 4,34$ % и $77,64 \pm 5,79$ % соответственно.

При введении препарата в дозе 0,15 мл/кг также отмечается увеличение ФИ. На седьмой день после введения он составлял $51,67 \pm 3,27$ %, что на 32,79 % больше по сравнению с фоном и на 89,27 % больше по сравнению с показателями контрольной группы животных. На 21 день эксперимента ФИ увеличился по сравнению с фоном на 54,33 %, по сравнению с контролем на 84,77 % и составил

60,05±3,52 %. На 35 день ФИ составил 60,46±3,69 %. На 49 день эксперимента происходит незначительное снижение ФИ, но при этом динамика его положительна: по сравнению с фоном ФИ увеличился на 55,13 %, по сравнению с контролем на 56,66 % и составил 60,36±4,77 %. Следовательно, ПКМК положительно влияет на ФИ, увеличивая его значение (при оптимальной дозе введения 0,1 мл/кг) более чем в два раза, при этом показатели не превышают пределов физиологической нормы (40-90 %), данные статистически достоверны.

При исследовании фагоцитарного числа (ФЧ) до эксперимента (фон) установлено, что во всех группах показатель лежит на нижней границе физиологической нормы (2-9 у.е.).

После применения препарата ПКМК отмечена положительная тенденция: так на седьмой день после применения препарата в дозе 0,05 мл/кг ФЧ увеличилось по сравнению с фоном на 56,48 %; на 21 день – 73,15 %, на 35 день – 59,72 %, на 49 день – 53,24 %. По сравнению с показателями контрольной группы ФЧ увеличилось в среднем на 30–50 %.

При исследовании изменений во второй опытной группе, с дозой препарата ПКМК 0,1 мл/кг, установлено, что ФЧ увеличилось в среднем в 2–3 раза. Так на седьмой день эксперимента ФЧ по сравнению с фоном увеличилось на 85,3 %, по сравнению с контролем на 62,23 %; на 21 день ФЧ достоверно увеличилось в 3 раза по сравнению с фоном и в 2,57 раза по сравнению с контролем, и составило 6,10±0,52 у.е.; на 35 день увеличилось в 2,51 раза и на 93,94 % соответственно; на 49 день увеличилось в 2 раза и на 60,47 % соответственно фона и показателей контрольной группы.

При введении препарата в дозе 0,15 мл/кг также отмечается увеличение ФЧ. На седьмой день после введения оно составляло $2,96 \pm 0,26$ у.е., что на 29,26 % больше по сравнению с фоном и на 27,04 % больше по сравнению с показателями контрольной группы животных. На 21 день эксперимента ФЧ увеличилось по сравнению с фоном на 50,66 %, по сравнению с контролем на 45,57 % и составило $3,45 \pm 0,32$ у.е. На 35 день ФЧ составило $3,30 \pm 0,28$ у.е. На 49 день эксперимента происходит незначительное снижение ФЧ, но при этом по сравнению с фоном увеличение на 36,25 %, по сравнению с контролем – на 20,93 %. ФЧ составило $3,12 \pm 0,27$ у.е., данные статистически достоверны.

Индекс завершенности фагоцитоза после применения ПКМК достоверно повышается при применении препарата в дозе 0,1 мл/кг. Так, на седьмой день ИЗФ по сравнению с фоном увеличился на 30,6 %, на 21 день – 39,8 %, на 35 день – 31,63 % и на 49 день – 30,61 %. По сравнению с контрольной группой ИЗФ на седьмой день увеличился на 16,36 %. На 21 день эксперимента ИЗФ составил 1,37, что на 22,32 % больше показателя контрольной группы. На 35 день увеличение составило 13,16 % и на 49 день – 13,27 % по сравнению с показателями контрольной группы, 1,29 и 1,28 соответственно.

При введении препарата ПКМК в дозе 0,05 мл/кг и 0,15 мл/кг ИЗФ по сравнению с показателями контрольной группы варьировал в сторону увеличения и уменьшения (данные статистически не надежны). По сравнению с показателями до применения ПКМК (фона) ИЗФ увеличился в среднем на 20–25 %.

Таким образом, индекс завершенности фагоцитоза в контрольной и опытных группах до применения белкового препарата эндогенного происхождения в период специфической профилактики составлял менее единицы, что указывает на нарушение функции фагоцитоза. ПКМК в предложенной схеме применения способствует нормализации нарушенных функций защиты организма ($\text{ИЗФ} > 1$), тем самым снижая риск развития иммунодефицитных состояний.

Анализируя вышеизложенное, можно заключить, что исследованный биологически активный препарат из клеток костного мозга сибирской косули оказывает положительное влияние на фагоцитарную активность нейтрофилов, и, соответственно, влияет на общий уровень неспецифического иммунитета у собак. Использование предложенного нами белкового препарата из клеток костного мозга сибирской косули с целью иммунокоррекции организма животных поможет решить один из вопросов проблемы современной иммунологии, связанной с иммунодефицитами. Применение ПКМК способствует повышению показателей клеточного и гуморального иммунитета.

5.5 Эффективность специфической вакцинопрофилактики с использованием ПКМК

С целью повышения эффективности вакцинопрофилактики инфекционных болезней в последние годы в ветеринарии находят широкое применение различные препараты, повышающие специфическую резистентность организма животных (Воронин Е. С., 1989; Соколов В. Д., 1992; Машковский М. Д., 1993; Кетлинский С. А., 1999;

Нестерова И. В., 2002; Федоров Ю. Н., 2005; Топурия Л. Ю., 2006; Синягин П. Н., 2006; Деева А. В., 2008).

Изучив динамику специфической вакцинопрофилактики за 2012–2015 гг. при помощи расчета статистических показателей сделаем следующее заключение. Из таблицы 5.9 видно, что до применения ПКМК показатель заболеваемости возрастает. Так в 2012 году заболевших собак после вакцинации наблюдалось 11 голов или 1,22 %, к 2013 году число заболевших увеличилось на 32,8 % и составило 15 случаев, заболевших из числа вакцинированных, к 2014 году показатель заболеваемости увеличился на 41,8 % по сравнению с 2012 годом и на 6,8 % по сравнению с 2013 годом.

Таблица 5.9 – Эффективность вакцинации собак от инфекционных болезней до и после применения ПКМК в ветеринарных клиниках г. Благовещенска

Эффективность вакцинации собак	Годы			
	2012	2013	2014	2015
	до применения ПКМК			после применения ПКМК
Число восприимчивых животных всего, голов	1006	1021	1059	1048
в том числе вакцинировано, голов	901	927	924	931
процентов	89,56	90,79	87,25	88,84
из них заболело, голов	11	15	16	6
процентов	1,22	1,62	1,73	0,64
пало, голов	3	2	4	0
процентов	0,33	0,22	0,43	-

После внедрения препарата из клеток костного мозга в схему специфической вакцинопрофилактики заболеваемость снизилась почти в 2,7 раза, падеж собак при этом не наблюдался.

Предварительный анализ аналитического выравнивания ряда динамики (таблице 5.10) показывает, что для расчета прогнозных значений следует использовать полином второго порядка ($R^2=0,9432$). Видна тенденция снижения уровня заболеваемости после вакцинопрофилактики с применением ПКМК (рис. 5.4), но фактические уровни ряда имеют отклонения от выровненных уровней. Мера таким отклонениям определили при помощи расчета показателей устойчивости ряда динамики.

Среднее квадратическое отклонение равно 0,1017 %. Коэффициент вариации равен 7,81 %.

Полученные показатели устойчивости ряда динамики характеризуют устойчивость тенденции снижения заболеваемости в среднем ежегодно на 0,1017 %, следовательно, ряд динамики можно считать устойчивым, а выявленную тенденцию стабильной.

Таблица 5.10 – Результаты подбора линий тренда (по заболеваемости собак)

Вид уравнения	Уравнение	Коэффициент детерминации R^2
Экспоненциальный	$1,941e^{-0,187x}$	0,2826
Логарифмический	$y = -0,211\ln(x) + 1,4701$	0,0661
Степенной	$y = 1,5201x^{-0,281}$	0,1381
Полином второго порядка	$y = -0,3725x^2 + 1,6995x - 0,1525$	0,9432
Линейный	$y = -0,163x + 1,71$	0,1822

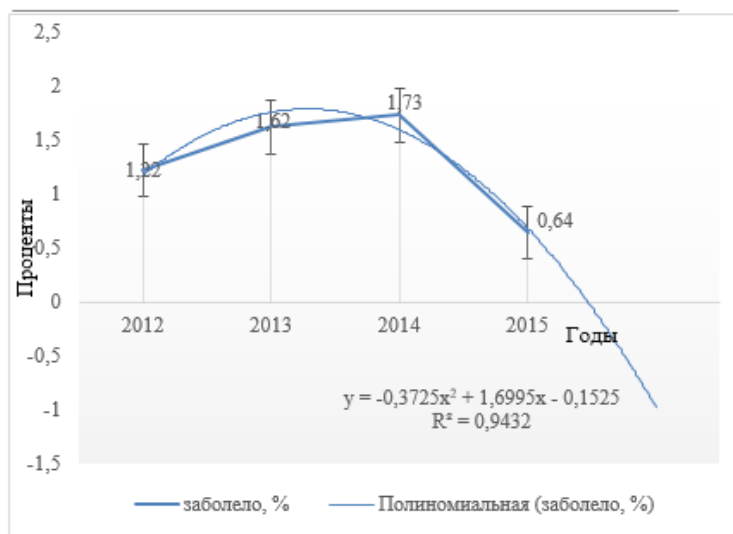


Рисунок 5.4 – Динамика заболеваемости собак
инфекционными заболеваниями

Так как коэффициент вариации меньше 25 %, следовательно, прогноз развития явления на перспективу методом экстраполяции может быть достаточно достоверным. Прогноз изменения заболеваемости собак инфекционными болезнями после вакцинопрофилактики на перспективу можно сделать методом экстраполяции, который заключается в продлении теоретической линии динамики на будущие периоды на основании выявленной закономерности, путем увеличения значений независимой переменной t .

Прогноз на 2016 год:

$$Y(t) = - 0,3725 \cdot 5^2 + 1,6995 \cdot 5 - 0,1525 = 0,9675 \text{ \%}.$$

Прогноз показал, что при сохранении выявленной тенденции снижения, к 2016 году заболеваемость собак инфекционными заболеваниями после вакцинопрофилактики с применением ПКМК может достигнуть 0,97 %.

Экономическая эффективность специфической вакцинопрофилактики без применения ПКМК в расчете на один рубль затрат составила 2,02 рубля.

Экономическая эффективность специфической вакцинопрофилактики с применением ПКМК в расчете на один рубль затрат составила 3,45 рубля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным авторов Н. А. Радчука (1991), Е. С. Воронина (2002), Н. М. Колычева (2003), И. П. Савченковой (2009), М. Ш. Азаева (2015) костный мозг – основной орган гемопоэза, в нем находится самоподдерживающаяся популяция стволовых клеток, из которых в дальнейшем образуются Т- и В-лимфоциты. У млекопитающих в костном мозге созревают В-линии лимфоцитов, несущие поверхностные иммуноглобулины. Костный мозг локализован во внутренней полости трубчатых костей и представляет собой тканевое объединение ретикулярной стромы, плотно упакованных гемопоэтических и лимфоидных клеток, а также разветвленной сети капилляров. Костный мозг является одновременно органом кроветворения и органом иммунной системы. Кроветворение поддерживается в течение всей жизни в костном мозге плоских костей – грудине, ребрах, крыльях подвздошной кости, костях черепа и в позвонках. Строма костного мозга поддерживает пролиферацию и дифференцировку эритроидного (лейкоциты) и мегакариоцитарного (тромбоциты) ростков кроветворения.

По результатам наших исследований установлено, что клетки эритроидного ряда имеют большое круглое ядро, занимающее большую часть клеток и окрашиваются в светлый красно-фиолетовый цвет, цитоплазма более светлая. Клетки предшественники гранулоцитов имеют вытянутое ядро и голубую цитоплазму. Клетки моноцитарного ряда имеют небольшое количество голубой цитоплазмы, ядро большое, бледно окрашенное. Клетки лимфоидного ряда с круглым или овальным ядром и незначительным количеством светло-голубой цитоплазмы.

У молодых особей преобладает кроветворный костный мозг, у средневозрастных особей соотношение жирового и кроветворного костного мозга выравнивается, а у старых особей преобладает жировая ткань, при этом дифференциация и подсчет клеток затрудняется.

По мнению Д. А. Девришова (2000), Е. С. Воронина (2002) иммунный ответ характеризуется накоплением в организме не только белков, специфически реагирующих с антигенами, но и иммунокомпетентных клеток. Клетки иммунной системы, на которые возложены ключевые функции по осуществлению приобретённого иммунитета, относятся к лимфоцитам, которые являются подтипом лейкоцитов. Большая часть лимфоцитов отвечает за специфический приобретённый иммунитет, так как могут распознавать возбудителей инфекции внутри или вне клеток, в тканях или в крови.

Дифференцировка лимфоцитов, называемая иммунопоэзом, происходит последовательно в центральных и периферических органах. В центральных органах иммунной системы осуществляется первичная, антигеннезависимая дифференцировка так называемых нулевых лимфоцитов с превращением их в Т-лимфоциты (в тимусе) и В-лимфоциты (в костном мозге млекопитающих) (Р. М. Хаитов, 2001).

Полученные нами результаты показали, что большее количество нейтрофильных элементов содержалось в костном мозге крупного рогатого скота – $47,8 \pm 0,69$ %, у коз меньше на 2,9 процентных пункта, а у сибирской козули на 4,9 процентных пункта ($P < 0,01$). У сибирской козули обнаружилось большее содержание в костном мозге молодых форм клеток, чем у домашней козы, у которой

отмечается больше зрелых клеток, но меньше чем у коровы. У сибирской косули промиелоцитов, миелоцитов и метамиелоцитов больше, чем у коз на 0,2, 0,7 и 0,5 процентных пункта соответственно, но меньше чем у коров на 0,3, 1,6 и 1,7 процентных пункта соответственно. Содержание базофилов в большем количестве наблюдается у домашней козы и составляет $0,6 \pm 0,17$ %, у сибирской косули данный показатель меньше на 0,27 процентных пункта

Наибольшее содержание клеток эритроцитарного ростка отмечается у коз ($46,8 \pm 0,47$ %) и у сибирской косули ($46,6 \pm 0,98$ %). Количество эритробластов у сибирской косули составляет 0,7 %, у домашней козы и коров данный показатель меньше на 0,3 процентных пункта.

Содержание моноцитов у сибирской косули меньше, чем у коровы на один процентный пункт, но больше на 0,6 процентных пункта по сравнению с показателем домашней козы. Количество мегакариоцитов у всех животных наблюдаются в малом количестве, менее 0,4% и данные статистически ненадежны.

Количество ретикулярных клеток сибирской косули больше чем у коров и коз на 0,8 и 0,1 процентных пункта соответственно. Количество плазматических клеток преобладает у коров ($0,8 \pm 0,11$ %), это больше чем у сибирской косули и коз на 0,3 и 0,4 процентных пункта соответственно. Лимфоциты у сибирской косули в составе костного мозга составляют $7,3 \pm 0,38$ %, у коз лимфоцитов меньше на 21,92 %, а у коров больше на 60,33 %, что может быть связано с видовыми особенностями организма животных.

В ответ на антигенную стимуляцию организм животных способен вырабатывать антитела, которые являются специфичными на каждый из бесчисленных антигенов. Антитела, или иммуноглобулины, – это группа структурно родственных белков с характерными физико-химическими и биологическими клетками, которые секретируются в кровь или тканевые жидкости. Основная часть иммуноглобулинов относится к гамма-глобулиновой фракции сыворотки (Даричева Н. Н., 2011).

Известно, что антитела связаны с глобулиновой фракцией сывороточных белков, в альбуминах их нет. Нормальные глобулины по электрофоретической подвижности делят на три фракции γ , β , α , но именно с иммунными γ -глобулинами и связаны антитела (Скопичев В. Г., 2009). Альфа-, бета- и гамма- глобулины, в свою очередь, в порядке убывающей электрофоретической подвижности подразделяются на две и более фракции α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , γ_1 , γ_2 . Иммуноглобулины различаются по структуре, антигенному составу и по выполняемым функциям (Земсков М. В., 1977).

В результате проведенных исследований установлено, что по биохимическому составу наибольшее количество белка было выделено у лося, вес которого составил $219 \pm 0,53$ мг. Вес общего белка из костного мозга сибирской косули составил $208 \pm 0,28$ мг, у коров $213 \pm 2,19$ мг, у коз $206 \pm 0,34$ мг, взятого из одинакового количества костного мозга – $9,56 \pm 1,26$ г, взятого от каждого вида животных.

Содержание общего белка в клетках костного мозга у коров составило $62,0 \pm 0,11$ г/л, у лося – $64,4 \pm 0,48$ г/л, у сибирской косули этот показатель ниже на 1,24 %, но выше чем у коров и коз на 2,58 и 4,26 % соответственно.

На долю глобулинов у различных видов животных приходится от 60 до 63 % от общего белка, при этом наибольший показатель наблюдали у сибирской косули и коз – 62,58 и 62,13 % соответственно, а наименьший – у лося (57 %).

Белки, входящие в гамма-глобулиновую фракцию, согласно нашим исследованиям у разных видов животных варьируется. Наибольшее их содержание отмечается у коров и сибирской косули, а именно $26,37 \pm 0,26$ и $26,27 \pm 0,47$ г/л соответственно. Наименьшее их содержание отмечается у домашней козы и лося – $24,9 \pm 0,93$ и $22,57 \pm 1,18$ г/л соответственно.

Количество α_1 -глобулинов у коров составило $2,53 \pm 0,09$ г/л, у сибирской косули и лося – $3,96 \pm 0,13$ и $3,9 \pm 0,04$ г/л соответственно. В содержании α_2 -глобулинов отмечается та же закономерность, большее их количество наблюдается у лося и сибирской косули $4,13 \pm 0,06$ и $3,94 \pm 0,04$ г/л соответственно. У коз отмечается наибольшее содержание β -глобулиновых фракций – $6,6 \pm 0,09$ г/л, наименьшее их количество отмечено у сибирской косули – $5,89 \pm 0,17$ г/л.

Среди белковых фракций костного мозга на долю альбуминов приходится от 37 до 43 %, а именно наибольшее их содержание наблюдается у лося и коров, что составило $27,69 \pm 0,99$ (или 43 %) и $23,97 \pm 0,4$ г/л (или 38,66 %) соответственно. У сибирской косули и козы их количество меньше на 14,05 % и 13,4 % от наибольшего показателя.

Содержание общего белка у молодых особей сибирской косули составило $63,6 \pm 0,85$ г/л, у средневозрастных – $61,5 \pm 0,5$ г/л и у старых особей – $60,1 \pm 0,88$ г/л.

Наибольшая концентрация альбуминов наблюдается у косуль молодой возрастной группы $23,8 \pm 0,28$ г/л,

что выше на 0,3 пункта, чем у средневозрастных особей, и на 1,3 пункта, чем у старых особей.

Наибольшее количество α_1 - и α_2 -глобулинов наблюдается также у молодых особей и составляет $3,96 \pm 0,13$ г/л и $3,94 \pm 0,04$ г/л соответственно, при этом с возрастом наблюдается их снижение. Наибольшее содержание β -глобулинов, наблюдается у особей старой группы, что составило $6,64 \pm 2,2$ г/л. У молодых особей наблюдается также наибольшая концентрация $(\gamma_1 + \gamma_2)$ -глобулинов, что составило $26,27 \pm 0,47$ г/л, у средневозрастной группы содержание $(\gamma_1 + \gamma_2)$ -глобулинов составило $24,25 \pm 0,87$ г/л, а у старых животных уже $23,8 \pm 30,34$ г/л, что на 9,29 % меньше чем у особей молодой группы.

По данным отечественных и зарубежных авторов установлено, что в последние годы значительно возрос интерес исследователей и практических специалистов к проблеме иммуномодуляции, что связано прежде всего с усилением экологического неблагополучия и возрастающей нагрузкой на организм животных неблагоприятных антропогенных факторов, существенным ростом иммунодефицитных состояний и пониманием того, что развитие большинства патологических процессов обусловлено нарушением функций иммунной системы. В связи с этим возникает необходимость в более широком использовании уже имеющихся и в разработке новых различных приемов и средств, способных стимулировать защитные силы организма животных (Кетлинский С. А., 1992; Крапивина Е. В., 2001; Thompson J. P., 2009).

Все средства, воздействующие на иммунную систему, могут быть отнесены к иммуномодуляторам, так или иначе изменяющих активность иммунных процессов организма животных (Соколов В. Д., 1992).

Список иммуномодуляторов велик и с каждым годом продолжает увеличиваться. По источнику происхождения иммуномодуляторы делят на экзогенные, эндогенные и синтетические. Существующие классификации немногочисленны и расширены с учетом современных препаратов: иммуномодуляторы эндогенного происхождения; иммуномодуляторы экзогенного природного происхождения; иммуномодуляторы экзогенные синтетические (Деева А. В., 2008).

Восстановление иммунореактивности возможно при введении в организм недостающих ему медиаторов, полученных из материалов от здоровых животных. На основе биологически активных веществ, вырабатываемых в организме животных, с 70-х годов XX столетия началось создание эндогенных биостимуляторов, обладающих иммунокорректирующим действием. К ним в настоящее время могут быть отнесены как натуральные, так и рекомбинантные препараты цитокинов и медиаторов, а также их синтетические аналоги (Г. М. Топурия, 2011). Такие препараты по сравнению с чужеродными для организма химическими соединениями являются продуктами естественных метаболических процессов, не нарушают нормальную жизнедеятельность клеток (Шевкопляс В. Н., 2001).

Нами разработан способ выделения белков из клеток костного мозга трубчатых костей животных (патент RU 2 553 334, от 18 мая 2015 года). Таким способом был получен препарат белковой природы из клеток костного мозга сибирской косули (ПКМК) эндогенного происхождения.

Известны способы синтеза белка, описанные в RU 2041716 C1, A61K 35/28, 20.08.1995 и в RU 2298939 C2, A61K 35/28, 20.05.2007.

Недостатки данных способов заключаются в трудоемкости, длительности во времени и соблюдении особых условий белкового синтеза. Кроме того, конечный продукт получается недостаточно чистым.

Упрощение способа выделения общего белка из трубчатых костей костного мозга и повышение чистоты целевого продукта достигается тем, что клетки костного мозга берут у сельскохозяйственных и диких животных. Трубчатые кости отделяют от плоти. Клетки костного мозга из бедренной или плечевой кости суспендируют путем вымывания через созданные отверстия с помощью шприца средой Игла М в колбу. Содержимое колбы тщательно перемешивают до однородного состава пипетированием. Полученные клетки суспензии пропускают через капроновые фильтры для тщательной очистки от желтого костного мозга и отмывают три раза охлажденной средой Игла М. Фильтрат подвергают центрифугированию в течении 5–7 минут при 2 тыс. об/мин., затем пипеткой с надосадочной жидкости снимают остатки желтого костного мозга. Далее осадки с надосадочными жидкостями подвергают гомогенизации, в результате которой достигается разрушение клеточных стенок осадка из костного мозга (который затем отбрасывают) и происходит дополнительное высвобождение белковых молекул в надосадочную жидкость, что влияет на выход конечного продукта. Для выделения белка и освобождения от обломков клеток, содержимое центрифужных пробирок фильтруют через капроновые фильтры. Из осадка делают мазки, окрашивают по общепринятым методикам и просматривают под микроскопом – клетки в них не обнаруживаются (гомогенная масса), следовательно, все биологически активные вещества переходят в раствор.

Отличительным преимуществом предлагаемого способа выделения белков из трубчатых костей костного мозга является доступность, сокращение времени экстракции белка, использование новых технологий, увеличение веса целевого продукта.

Таким образом, препарат из костного мозга сибирской косули (ПКМК) – продукт, полученный в результате суспендирования, гомогенизации, осаждения и диализа клеток костного мозга сибирской косули, эндогенного происхождения.

В результате проведения проверки на стерильность разных представители специфических, в том числе сапрофитной флоры и плесеней, а также посторонних бактерий выявлено не было. Препарат сохраняли до использования в холодильнике при температуре минус 4 °С не более суток.

При изучении нами безвредности препарата из клеток костного мозга сибирской косули установлено, что после однократного подкожного введения в дозе 0,01 мл не вызывал у опытных мышей изменений в поведении и общем состоянии. В следующие 21 день наблюдения животные оставались живыми, адекватно реагировали на раздражители, охотно принимали корм и воду.

При введении препарата в дозе 0,02 мл в течении всего периода наблюдения животные также оставались живыми, общее состояние было удовлетворительным, отказа от корма и воды не наблюдалось.

После введения белым мышам препарата в дозе 0,03 мл у четверых животных, в течение двух–трех часов, наблюдали беспокойство, взъерошенность шерсти, у двух мышей наблюдали покраснение и припухлость в месте введения препарата, три мыши старались уединиться,

осторожно передвигались по клетке. У остальных животных изменений в поведении и общем состоянии не наблюдали. Животные на протяжении всего опыта оставались живыми.

При анализе показателей клеточной защиты организма лабораторных животных установлено, что изменение морфологических показателей зависит от дозы вводимого белкового препарата. Лейкоциты первой опытной группы практически не отличаются от показателей контрольной группы, их увеличение составило до 5 %. Показатели третьей опытной группы изменились в сторону увеличения до 25 %, тогда как увеличение показателей второй опытной группы составило до 36 %, различия которых статистически достоверны. Если рассматривать данный показатель в зависимости от дня введения ПКМК, то можно отметить, что максимальный эффект наблюдается на 14 день, а к 21 дню данная тенденция сохранена.

При анализе эритроцитов, существенных изменений по всем группам не наблюдали, их количество увеличивается всего на 2–3 %, при этом различия статистически не достоверны. Важно отметить, что при введении препарата из клеток костного мозга сибирской косули эритроциты и лейкоциты находятся в пределах физиологической нормы.

При введении препарата из клеток костного мозга сибирской косули в дозе 0,01 мл на мышь практически все показатели остались без изменений, наблюдается только увеличение на 5,88 % количества эозинофилов к 14 дню исследования. Остальные показатели варьировали в сторону увеличения или уменьшения всего на 1–2 %, либо оставались на неизменном уровне. При введении ПКМК в

дозе 0,02 мл на мышь наблюдается увеличение иммунокомпетентных клеток на седьмой день и сохранено на весь период исследования. Так количество лимфоцитов на седьмой день увеличилось на 8,81 % и к 21 дню их количество осталось на том же уровне, что статистически достоверно. Также наблюдается увеличение количества моноцитов, которые достигли максимального уровня к 14 дню и составили 4,9, что на 13,95 % больше по сравнению с контрольной группой. Количество эозинофилов увеличилось к 14 дню на 8,82 % по сравнению с контролем, но на 21 день их количество достигло уровня контрольной группы.

Если рассматривать третью опытную группу, в которой доза препарата составила 0,03 мл на мышь, то можно отметить резкое увеличение количества эозинофилов уже на седьмой день (на 18,32 %), а на 14 день их количество увеличилось более чем на 30 %, что может быть связано с увеличением дозы препарата и ответной клеточной реакцией организма на введение белкового препарата. В этой же группе на седьмой день отмечается увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов на 13,04 %, но к 14 дню их количество не отличается от показателя контрольной группы. Количество лимфоцитов увеличилось незначительно, до 1,5 % за весь исследуемый период.

При исследовании показателей гуморального звена иммунитета белых мышей отмечено следующее: содержание общего белка на седьмой день увеличилось на 25,45 %, данное увеличение сохраняется на весь период исследования и данный показатель статистически достоверен. После введения препарата концентрация альбуминов на седьмые сутки увеличилась на 35,18 %, к 14 дню увеличение составило 29,86 %, и на 21 день – на 31,61 %

относительно контроля. Также наблюдается повышение α_1 , α_2 - и β -глобулинов на 19,15 %, 10,58 % и 5,82 % соответственно. На 14 и 21 дни количество α_1 -глобулинов увеличилось на 15,27 % и 8,89 %, а количество α_2 -глобулинов увеличилось на 3,81 % и 9,74 % соответственно. Следует также отметить, что на 14 и 21 дни установлено незначительное увеличение количества β фракций по отношению к контрольной группе.

Изменения наблюдаются и в составе γ -глобулинов. На 7, 14 и 21 сутки наблюдается стабильное увеличение данной фракции глобулинов на 39,52 %, 31,69 % и 34,34 % соответственно.

Анализ эпизоотической ситуации показал, что в г. Благовещенске за 2012-2014 гг. значительное распространение имеет инфекционный ларинготрахеобронхит. За три года зарегистрировано в среднем 36 случаев болезни, что составило 50,47 %, при этом увеличивался уровень летальности, от 3,13 % до 11,11 %. В целом основные показатели интенсивности эпизоотического процесса (заболеваемость, летальность, смертность) за 2012-2014 гг. по инфекционным заболеваниям в г. Благовещенске увеличиваются, что связано с уменьшением эффективности вакцинации, одной из причин которой может быть снижение резистентности организма. Следовательно, применение иммуномодуляторов при иммунизации животных может значительно повысить эффективность вакцинации и улучшить нозопротип инфекционных болезней среди собак.

При изучении влияния препарата ПКМК на показатели клеточного иммунитета собак получены данные, свидетельствующие о том, что доза препарата из клеток костного мозга сибирской косули также влияет и на показатели крови собак, в возрасте до шести месяцев. Так при

применении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм массы животного количество эритроцитов осталось на неизменном уровне, а количество лейкоцитов возросло к седьмому дню на 18,9 %, к 49 дню их количество увеличилось на 12,03 % и составило $12,05 \pm 0,83 \cdot 10^9/\text{л}$, данные статистически не подтвердились. Из показателей лейкограммы, увеличилось только содержание сегментоядерных нейтрофилов и составило $55,5 \pm 1,45$ %, что связано с уменьшением количества лимфоцитов на 10,5 % и моноцитов 19,4 %, данные статистически не подтвердились.

При увеличении дозы препарата до 0,1 мл на один килограмм массы животного отмечаются следующие изменения: количество лейкоцитов к седьмому дню эксперимента повысилось на 44,1 %, к 21 дню на 45,5 %, к 35 дню на 40 % и к 49 дню на 41 %, следовательно, максимальное их количество вырабатывается на 21 день, данные статистически достоверны. Рассматривая показатели лейкограммы отметим следующее: количество моноцитов достоверно возрастает и к 49 дню их количество составило 9,5 % от общего количества клеток, что больше на 22,6 % в сравнении с контрольной группой. Количество лимфоцитов также возрастает: к седьмому дню увеличилось на 8,2 %, а к 49 дню на 4,2 % в сравнении с контролем. Увеличение количества эозинофилов наблюдается только к 35 дню эксперимента и составило 3,5 % от общего количества клеток. Количество сегментоядерных нейтрофилов внутри группы снизилось на 21,2 %, что связано с увеличением иммунокомпетентных клеток.

При введении препарата из клеток костного мозга в дозе 0,15 мл на один килограмм массы животного установлено, что количество лейкоцитов к 49 дню увеличи-

лось на 36,4 %. В составе лейкограммы отмечены следующие изменения: отмечается увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов к 35 дню на 35,7 %, к 49 дню на 42,9 %. Также увеличивается количество эозинофилов к седьмому дню на 72,7 %, к 21 дню на 92,3 %, к 35 дню на 118,2 % и к 49 дню на 125 %, что может быть связано с ответной клеточной реакцией организма на введение повышенной дозы белкового препарата.

При рассмотрении показателей лейкограммы отмечаем, что при введении препарата из клеток костного мозга в дозе 0,1 мл на один килограмм массы животного, на седьмой день производственного эксперимента, наблюдается увеличение количества моноцитов в сравнении с контролем на 14,3 %, количество лимфоцитов увеличилось на 8,2%. Количество палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов снизилось на 69,2 % и 27,3 % соответственно, что связано с увеличением количества иммунокомпетентных клеток. На 21 день производственного эксперимента отмечается достоверное увеличение количества моноцитов на 29,2 % по сравнению с контролем, на 35 день их количество составило 9,0, а к 35 дню – 9,5, что 22,6 % больше чем в контрольной группе. К 35 дню отмечается увеличение количества эозинофилов на 18,2 %, к 49 дню они увеличились на 16,7 % по сравнению с контролем. Также отмечается увеличение количества лимфоцитов, в среднем на 4–8 % по сравнению с контролем. Количество палочкоядерных нейтрофилов к 49 дню эксперимента уменьшилось в среднем на 57,1 %, а количество сегментоядерных нейтрофилов на 3,5 %, за счет увеличения иммунокомпетентных клеток (моноцитов, эозинофилов, лимфоцитов).

При исследовании влияния белкового препарата из клеток костного мозга сибирской косули на гуморальные показатели защиты организма собак установлено, что ответная реакция организма зависит от дозы введения препарата. При введении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм массы животного отмечается достоверное увеличение содержания общего белка в сыворотке крови к 49 дню на 12 %, что составило 66,7 г/л ($P < 0,05$). При введении препарата в дозе 0,1 мл на один килограмм массы животного также отмечается достоверное увеличение количества общего белка к 49 дню на 14,9 % ($P < 0,01$). При введении препарата в дозе 0,15 мл на один килограмм массы животного также отмечается увеличение количества общего белка к 49 дню на 7,5 % ($P < 0,1$).

Содержание глобулинов в сыворотке крови собак, при применении препарата в различной дозировке, достоверно повышается. В дозе 0,05 мл на один килограмм содержание глобулинов к 49 дню увеличивается на 25,4 %. В дозе 0,1 мл на один килограмм содержание глобулинов к 49 дню возрастает на 31,7 %. В дозе 0,15 мл на один килограмм содержание глобулинов к 49 дню растет на 15,9 %. Установлено, что существенного влияния белковый препарат не оказывает на содержание α_2 -глобулиновых фракций, их количество максимум увеличилось на 6,9 % при дозе препарата 0,15 мл на один килограмм к 49 дню эксперимента. Содержание α_2 -глобулинов увеличивается при введении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм: к седьмому дню их содержание увеличилось на 0,4 %, к 49 дню на 1 %; в дозе 0,1 мл на один килограмм: к седьмому дню возросло на 0,6 %, к 49 дню на 4,2 %; в дозе 0,15 мл на один килограмм: к седьмому дню их содержание было меньше показателя контрольной группы

на 4,2 %, но к 49 дню количество α_2 -глобулинов увеличилось на 6,9 %, что связано с увеличением дозы вводимого препарата. Количество β -глобулинов также увеличивается, в зависимости от дозы вводимого препарата: при введении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм к седьмому дню их содержание достоверно увеличилось на 9,1 %, к 49 дню на 15,7 %; в дозе 0,1 мл на один килограмм: к седьмому дню возросло на 7,6 %, к 49 дню на 11,3 %; в дозе 0,15 мл на один килограмм: к седьмому дню повысилось на 3,3 %, но к 49 дню количество β -глобулинов увеличилось на 16,0 %, что может быть связано с индивидуальными особенностями реакции организма на введение белкового препарата.

При исследовании гамма-глобулиновых фракций сыворотки крови собак установлено достоверное их увеличение. При введении препарата в дозе 0,05 мл на один килограмм к седьмому дню их содержание достоверно увеличилось на 34,2 %, к 21 дню на 52,25%, к 35 дню на 53,4% и к 49 дню на 42,3%; в дозе 0,1 мл на один килограмм – к седьмому дню увеличилось на 45,2 %, к 21 дню на 63,2 %, к 35 дню на 66,8 % и к 49 дню на 54,7 %; в дозе 0,15 мл на один килограмм гамма-глобулиновые фракции увеличились к седьмому дню на 12,6 %, к 21 дню на 18,2 %, к 35 дню на 17,8 % и к 49 дню количество $\gamma_1 + \gamma_2$ -глобулинов увеличились на 17,0 процентов.

Нами установлено, что потенциальная функциональная активность нейтрофилов под действием препарата повышается, так как биологически активный препарат достоверно увеличивал иммунологические показатели крови опытных животных. Фагоцитарное число на седьмой день увеличилось в 2 раза и данный показатель сохра-

няет свою тенденцию за весь период исследования. Фагоцитарный индекс к седьмому дню увеличился на 24,4 процентных пункта, к 14 дню на 28,9, и к 21 дню на 23,1 процентных пункта по сравнению с контрольной группой. Исследованный биологически активный препарат из костного мозга сибирской косули изменяет тип иммунологической реакции, переводя реактивность организма белых мышей на более высокий уровень.

При изучении фагоцитарной активности у собак после применения препарата костно-мозгового происхождения установлено, что ПКМК положительно влияет на фагоцитарный индекс, увеличивая его значение, при оптимальной дозе введения (0,1 мл/кг), более чем в два раза, при этом показатели не превышают пределов физиологической нормы (40–90 %).

При исследовании фагоцитарного числа (ФЧ) до эксперимента (фон) установлено, что во всех группах показатель лежит на нижней границе физиологической нормы (2–9 у.е.). Во второй опытной группе, с дозой препарата ПКМК 0,1 мл/кг, установлено, что ФЧ увеличилось в среднем в 2–3 раза. Так на седьмой день эксперимента ФЧ по сравнению с фоном увеличилось на 85,3 %, по сравнению с контролем на 62,23 %; на 21 день ФЧ увеличилось в 3 раза по сравнению с фоном и в 2,57 раза по сравнению с контролем, и составило $6,10 \pm 0,52$ у.е.; на 35 день увеличилось в 2,51 раза и на 93,94 % соответственно; на 49 день увеличилось в 2 раза и на 60,47 % соответственно фона и показателей контрольной группы.

Индекс завершенности фагоцитоза после применения ПКМК достоверно повышается при применении препарата в дозе 0,1 мл/кг. Так, на седьмой день ИЗФ по сравнению с фоном увеличился на 30,6 %, на 21 день – 39,8 %, на 35 день – 50,0 %, на 49 день – 39,8 %.

на 35 день – 31,63 % и на 49 день – 30,61 %. По сравнению с контрольной группой ИЗФ на седьмой день увеличился на 16,36 %. На 21 день эксперимента ИЗФ составил 1,37, что на 22,32 % больше показателя контрольной группы. На 35 день увеличение составило 13,16 % и на 49 день – 13,27 % по сравнению с показателями контрольной группы, 1,29 и 1,28 соответственно.

Таким образом, индекс завершенности фагоцитоза в контрольной и опытных группах до применения белкового препарата эндогенного происхождения в период специфической профилактики составлял менее единицы, что говорит о нарушении функции фагоцитоза. ПКМК в предложенной схеме применения способствует нормализации нарушенных функций защиты организма (ИЗФ>1), тем самым снижая риск развития иммунодефицитных состояний. Исследованный биологически активный препарат из клеток костного мозга сибирской косули оказывает влияние на фагоцитарную активность нейтрофилов, и, соответственно, влияет на общий уровень неспецифического иммунитета у собак.

Полученные нами результаты исследования согласуются с данными отечественных авторов (Кетлинский С. А., 1992; Топурия Г. М., 2003; Зарицкая В. В., 2006; Хмылов А. Г., 2010; Федоров Ю. Н., 2012), которые утверждают, что препараты костно-мозгового происхождения действуют преимущественно на измененные параметры, понижая повышенные и повышая пониженные показатели иммунной системы. Нами доказано, что препараты из клеток костного мозга обладают иммуотропной активностью, в оптимальной дозе восстанавливают функции иммунной системы – эффективную иммунную защиту. Нами также установлено, что эффект стимуляции

образования иммунокомпетентных клеток под влиянием костно-мозговых препаратов зависит от биологического материала для изготовления данных препаратов.

Результаты исследований представляют практическую ценность, так как усовершенствованный метод окраски биопрепаратов позволяет достоверно изучать клеточный состав костного мозга диких животных. Для получения стимуляторов антигенных популяций целесообразно брать клеточные популяции сибирской косули и коров, содержащие наибольшее количество иммунокомпетентных клеток. Разработанный препарат позволяет повысить иммунореактивность организма животных. Эндогенные белки клеток костного мозга являются медиаторами и биостимуляторами клеточного и гуморального иммунитета.

Предложен производству способ выделения белков из клеток костного мозга (патент RU 2553 334, от 18 мая 2015 года).

Полученные результаты могут быть использованы в схеме вакцинопрофилактики собак с целью повышения иммунитета и иммунологической реактивности организма и в научных исследованиях в учреждениях, занимающихся изучением иммунореактивности и разработки препаратов, а также при написании справочных пособий и рекомендаций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ биологической активности тимогена и синтетических аналогов тимопентина / И. В. Мирошниченко [и др.] // Иммунология. – 1997. – №2. – С. 25-29.

2. Андерсон, Ш. К. Атлас гематологии / Шон К. Андерсон, Кейл Б. Поулсен. – Москва : Агропромиздат, 2007 – 608 с.

3. Арион, В. Я. Тактивин (Т-активин) и его иммунобиологическая активность /В. Я. Арион // Иммунобиология гормонов тимуса / под ред. Ю. А. Гриневича и В. Ф. Чеботарева. – Киев : Здоровье, 1989. – С. 103-125.

4. Бессарабов, Б. Ф. Влияние изотизона на естественную резистентность организма животных / Б. Ф. Бессарабов, Л. Н. Миролюбова // Ветеринария. – 1994. – №5. – С. 50–51.

5. Биохимические и некоторые иммунологические показатели крови у собак при лечении инфицированных ран сорбентами природного происхождения / В. А. Ермолаев, Е. М. Марьин, С. Н. Хохлова, О. Н. Марьина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2009. – №24-1. Том 4. – С.174-177.

6. Ветеринарная микробиология и иммунология / Н. А. Радчук, Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев [и др.]; под ред. Н. А. Радчука. – Москва : Агропромиздат, 1991. – 383 с.

7. Влияние биостимуляторов на естественную резистентность организма телят /В. И. Мозжерин, Р. Г. Калимуллина, Ф. Ф. Асадуллина, М. И. Еркеев // Ветеринария. – 2000. – №6. – С.38-41.

8. Влияние иммуномодуляторов на продуктивность несушек /А. В. Деева [и др.] // Ветеринария. –2006. – №9. – С.8-10.

9. Волков, М. Ю. Современные биотехнологии ветеринарных препаратов / М. Ю. Волков // Ветеринария. – 2006. – №5.– С.7-9.

10. Воробьев, А. А. Принципы классификации и стратегия применения иммуномодуляторов в медицине / А. А. Воробьев // ЖМЭИ. – 2002.– №4. – С.93-98.

11. Воронин, Е. С. Влияние Т-активина на иммунологический статус телят / Е. С. Воронин, В. Г. Денисенко, Г. Н. Печникова // Ветеринария. – 1990. – №5. – С.51-53.

12. Воронин, Е. С. Иммуномодуляторы в ветеринарии / Е. С. Воронин, Д. А. Дервишов // Проблемы экологии в ветеринарной медицине: тезисы докл. всес. науч.-техн. конф. – Москва, 1989. – С. 15.

13. Гаркави, Л. Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л. Х. Гаркави, Е. Б. Квакина, М. А. Уколова. – Ростов-на-Дону : Изд-во Ростовского университета, 1990. – 224 с.

14. Госманов, Р. Г. Микробиология и иммунология : учебное пособие / Р. Г. Госманов, А. И. Ибрагимова, А. К. Галиуллин. – 2-е изд., перераб. и доп. – Санкт-Петербург : Издательство «Лань», 2013. – 240 с.

15. Даричева, Н. Н. Тканевая терапия в ветеринарной медицине : монография / Н. Н. Даричева, В. А. Ермолаев. – Ульяновск : УГСХА, 2011. – 168 с.

16. Джупина, С. И. Методы эпизоотологического исследования и теория эпизоотологического процесса / С. И. Джупина. – Новосибирск : Наука, 1991. – 141 с.

17. Драник, Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Драник. – Москва : МИА, 2003. – С. 118-194.

18. Елисеев, Ю. Ю. Анализы. Полный справочник / Ю. Ю. Елисеев. – Москва : Эксмо, 2007. – 786 с.

19. Ерёмин, С. П. Влияние тканевого препарата «БИО-ТЕК» на состояние крови телят /С. П. Ерёмин, П. И. Блохин, И. В. Яшин// Вестник ветеринарии. – 2013. – №64. – С.65-67.

20. Ефимова, М. Р. Общая теория статистики : учебник. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва : ИНФРА-М, 2009. – 416 с.

21. Жаров, А. В. Роль иммунодефицитов в патологии животных / А. В. Жаров // Ветеринарная патология. – 2003. – №3. – С.7-12.

22. Зарицкая, В. В. Белковый состав костного мозга сельскохозяйственных и диких животных / В. В. Зарицкая // Зоотехния. – 2006. – №12. – С.17.

23. Зарицкая, В. В. Костный мозг дальневосточных лисиц и перспективы его использования в иммунологии : монография / В. В. Зарицкая, Н. М. Мандро, П. П. Бердников. – Благовещенск: Изд-во Дальневост. гос. аграр. ун-та, 2008. – 72 с.

24. Захарова, Л. А. Взаимодействие in vitro клеток иммунных лимфатических узлов и интактного костного мозга, разделенных миллипоровой мембраной / Л. А. Захарова, Н. С. Галкина // Бюллетень экспериментальной биологии. – 1974. – №9. – С.67-69.

25. Земсков, М. В. Основы общей микробиологии, вирусологии и иммунологии / М. В. Земсков, М. И. Соколов, В. М. Земсков. – Москва : Колос, 1977. – С.228-223.

26. Земсков, А.М. Некоторые механизмы действия адьювантов [Текст] /А.М. Земсков// Иммунология. – 1982. – №1. – С. 6-12.

27. Земсков, А. М. Справочник оперативной информации по клинической иммунологии и аллергологии /А. М. Земсков, В. М. Земсков. – Воронеж, 1994. – 75 с.

28. Злобина, Ж. М. Динамика иммунологических показателей при проведении иммунокоррекции миелопидом у больных лимфогранулематозом / Ж. М. Злобина, Т. П. Маркова, А. Н. Коломийцев // Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 1999. – № 7. – С. 3-6.

29. Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов при применении Immuniti Up у собак с хронической гастроэнтеропатией / Г. М. Крюковская, М. В. Матвеева, Т. О. Марюшина, Р. А. Крюковский // Российская ветеринарная практика. – 2012. – №2. – том 3. – С.44-45.

30. Иммунный статус поросят в хозяйствах промышленного производства / Ю. Н. Федоров, О. А. Верховский, Б. Г. Орлянкин [и др.] // Ветеринария. – 2006. – №6. – С.18-21.

31. Иммунология / Е. С. Воронин, А. М. Петров, М. М. Серых, Д. А. Девришов; под ред. Е. С. Воронина. – Москва : Колос-Пресс, 2002. – 408 с.

32. Иммунология / под ред. У. Пола. – Москва : Мир, 1988, – С. 14-45.

33. Иммуноterapia и иммунотропные препараты : справочник по иммунотерапии для практического врача / И. В. Нестерова, А. А. Старченко, С. А. Иванова, А. С. Симбирцев. – Москва : Изд-во «Диалог», 2002. – С.88-99.

34. Казаринов, Н. П. Изучение форменных элементов крови / Н. П. Казаринов, И. В. Наумкин. – Новосибирск : Новосибирский государственный аграрный университет, 2014. – 146 с.

35. Карпенко, Л. Ю. Биохимические показатели естественной резистентности и иммунной реактивности организма собак и кошек /Л. Ю. Карпенко, В. В. Тиханин // Ветеринария. – 1997. – №6. – С.56-58.

36. Кетлинский, С. А. Эндогенные иммуномодуляторы /С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев, А. А. Воробьев. – Санкт-Петербург : Гиппократ, 1999. – 256 с.

37. Кисленко, В. Н. Ветеринарная микробиология и иммунология. Практикум: учебное пособие / В. Н. Кисленко. – Санкт-Петербург : Издательство «Лань», 2012. – 368 с.

38. Клиническая иммунология и аллергология / под ред. Л. Йегера. – Москва : Медицина, 1990. – С. 276–304.

39. Колычев, Н. М. Ветеринарная микробиология и иммунология / Н. М. Колычев, Р. Г. Госманов. – 3-е изд., перераб и доп. – Москва : Колосс, 2003. – 432 с.

40. Колычев, Н. М. Ветеринарная микробиология и микология / Н. М. Колычев, Р. Г. Госманов. – Санкт-Петербург : Издательство «Лань», 2014. – С.193-198.

41. Контроль и регуляция иммунного ответа / Р. В. Петров, Р. М. Хайтов, В. М. Манько, А. А. Михайлова. – Ленинград : Медицина, 1981. – 312 с.

42. Королёв, В. М. К фармакодинамике биостимуляторов / В. М. Королёв // Материалы докладов науч. конф. – Казань. – 1963. – С.336-337.

43. Коромыслов, Г. Ф. Применение иммуностимуляторов в ветеринарии / Г. Ф. Коромыслов, Д. Д. Полоз, Н. Н. Крюков // Труды ВИЭВ. – 1986. – том 62. – С.3-7.

44. Коротяев, А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. – Санкт-Петербург, 2008. – 781 с.

45. Корочкин, Л. И. Стволовые клетки /Л. И. Корочкин // Природа. – 2005. – №6. – С.11-18.

46. Красочко, П. А. Иммуитет и его коррекция в ветеринарной медицине / П. А. Красочко, В. С. Прудников, О. Г. Новиков. – Смоленск, 2001. – 324 с.

47. Крапивина, Е. В. Влияние биологически активных препаратов на резистентность поросят / Е. В. Крапивина // Ветеринария. – 2001. – №6. – С.38-43.

48. Кульберг, А.Я. Молекулярная иммунология / А.Я. Кульберг. – Москва : Высшая школа, 1985. – 288 с.

49. Лазарева, Д. Н. Стимуляторы иммунитета / Д. Н. Лазарева, Е. К. Алехин. – Москва : Медицина. – 1985. – С. 14-49.

50. Лозовой, В. А. Структурно-функциональная организация иммунной системы / В. А. Лозовой, С.М. Шергин. – Новосибирск : Наука, 1981. – 225 с.

51. Магер, С. Н. Физиология иммунной системы: учебное пособие / С. Н. Магер, Е. С. Дементьева. – Санкт-Петербург : Издательство «Лань», 2014. – 192 с.

52. Макаров, В. В. Термины современной иммунологии / В. В. Макаров // Ветеринария. – 1999.– №8.– С.27-30.

53. Манджиев, О. Х. Действие препарата Ниавет на показатели крови животных / О. Х. Манджиев, М. Н.Мирзаев // Ветеринария. – 2008.– №8.– С.56-57.

54. Маркова, Т. П. Сравнительное изучение влияния миелопида и т-активина на рецепторы В-клеток / Т. П. Маркова // Иммунология. – 1995. – №1. – С. 59-61.

55. Машкин, В. И. Методы изучения охотничьих и охраняемых животных в полевых условиях: учебное пособие / В. И. Машкин. – Санкт-Петербург : Изд-во «Лань», 2013. – 432 с.

56. Машковский, М. Д. Препараты, корректирующие процессы иммунитета (иммуномодуляторы, иммунокорректоры). Лекарственные средства : пособие для врачей. В 2 ч. Ч. 2. / М. Д. Машковский. – Москва, 1993. – С.192-209.

57. Медведева, М. А. Клиническая ветеринарная диагностика /М. А. Медведева. – М.: «Аквариум-Принт», 2009. – 416 с.

58. Мединцев, А. Е. Действие биостимулятора из мозговой ткани на регенерацию тканей при открытых повреждениях /А. Е. Мединцев, Ф. А. Мещеряков // Ветеринария. – 2009. – №7. – С.48-49.

59. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Ланималогия. – 1993. - №1. – С.29.

60. Механизм иммунокорректирующего действия миелипида / Е. А. Кирилина, А. А. Михайлова, А. А. Малахов [и др.] // Иммунология. – 1998. – №4. – С. 27- 29.

61. Механизмы активации иммунокомпетентных клеток / В. А. Ляшенко [и др.]. – Москва : Медицина. – 1988. – 143 с.

62. Миелопептиды / Р. В. Петров [и др.] // Москва : Наука. – 2000. – С. 150-163.

63. Миелопид: иммунокорректирующая активность при переломах лицевых костей и травматическом остеомиелите / Р. Н. Степаненко, Н. К. Рязанов, О. А. Молдокулов, Р. Я. Власенко // Иммунология. – 1991. – №1. – С. 44-47.

64. Мищенко, В. А. Особенности иммунодефицитов у крупного рогатого скота / В. А. Мищенко, Н. А. Яременко, А. В. Кононов // Ветеринария. – 2006. – №11. – С.17-20.

65. Морозов, В. Г. Выделение из костного мозга, лимфоцитов и тимуса полипептидов, регулирующих процессы межклеточной кооперации в системе иммунитета / В. Г. Морозов, В. Х. Хавинсон // Докл. АН СССР. – 1981. – том 261 (№1). – С. 235-239.

66. Набиев, Ф. Г. Современные ветеринарные лекарственные препараты : учебное пособие / Ф. Г. Набиев, Р. Н. Ахмадеев. – 2-е изд., перераб. – Санкт-Петербург : Изд-во «Лань», 2011. – 816 с.

67. Назаренко, Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А.А.Кишкун. – Москва : Медицина, 2000. – 544 с.

68. Никитин, Е. Б. Микробиология с основами иммунологии / Е. Б. Никитин. – Павлодар: Арман-ПВ, 2004. – 180 с.

69. Никитин, И. Н. Организация и экономика ветеринарного дела: учебник / И. Н. Никитин. – 6-е изд., перераб. и доп. – Санкт-Петербург : Издательство «Лань», 2014. – 368 с.

70. Никольский, И. С. Гормоны и другие биологические активные факторы тимуса / И. С. Никольский, Ю. А. Гриневич. – Киев : Здоровье, 1989. – С. 7-28.

71. Новые биорегуляторы в биотехнике размножения крупного рогатого скота /А. Л. Аминова, И. Г. Зямилев, И. Х. Ситдилов, А. Б. Шарипов // Ветеринария. – 2006. – №1. – С.39-42.

72. Об участии высших вегетативных центров в модуляции иммунологических процессов / В. В. Зотова,

А. И. Полек, Л. П. Сизякина [и др.] // Регуляция иммунного гомеостаза. – Ленинград, 1982. – С. 14-15.

73. Онтогенез: выпуск целиком посвящен проблеме стволовых клеток. – 2003. – том 34. – №3.

74. Основы клинической иммунологии и методологические подходы к оценке иммунного статуса : практикум / А. Г. Гончаров, И. С. Фрейдлин, В. С. Смирнов [и др.]; под ред. М. Г. Романцова. – Калининград : Изд-во Калининградского университета, 1997. – 73 с.

75. Папуниди, К. Х. Биохимические и иммунологические показатели крови свиней при применении препаратов «Иммуноферан» и «Риботан» / К. Х. Папуниди, С. Ю. Смоленцев // Ветеринарный врач. – 2010. – №3. – С.52-54.

76. Парфенова, В. В. Стволовая клетка костного мозга как продуцент стимуляторов гуморальной защиты животных / В. В. Парфенова // Сб. науч. тр. молодых ученых ДальГАУ. – Благовещенск : Изд-во Дальневосточного ГАУ, 2000. – часть 1. – С.157-160.

77. Парфенова, В. В. Сравнительная эффективность различных методов окраски клеточных популяций костного мозга / В. В. Парфенова // Сб. науч. тр. молодых ученых ДальГАУ. – Благовещенск : Изд-во Дальневосточного ГАУ, 2001. – Вып. 2, часть 1. – С.53-57.

78. Патент № РФ RU2242763. Способ определения фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови живых организмов / Е. С. Нишева, А. Н. Галустьян // Патент. – 2003. – 25 с.

79. Петров, Р. В. Миелопептиды / Р. В. Петров, А. А. Михайлова, Л. А. Фонина // Наука в России. – 1998. – №2. – С.4-8.

80. Петров, Р. В. Миелопептиды – регуляторные медиаторы, вырабатываемые клетками костного мозга / Р. В. Петров, А. А. Михайлова, Л. А. Захарова // Докл. АН СССР. – 1986. – том 287. – №2. – С. 489-492.

81. Петрова, И. В. Эффективность нового иммуномодулятора миелопида при комплексном лечении больных хронической пиодермией / И. В. Петрова, Г. М. Лещенко, Т. Ф. Быстрицкая // Вестник дерматологии. – 1989. – № 4. – С.67.

82. Петрянкин, Ф. П. Влияние иммуностимуляторов на резистентность супоросных свиноматок и сохранность поросят /Ф. П. Петрянкин, Ю. А. Круглов, Ю.А. Филимонов // Ветеринария. – 1995. – №12. – С.42-46.

83. Пинегин, Б. В. Принципы применения иммуномодуляторов в комплексном лечении инфекционных процессов / Б. В. Пинегин // Лечащий врач. – 2000. –№ 8. – С.34-38.

84. Плешакова, В. И. Показатели иммунитета свиной и их коррекция иммуномодуляторами / В. И. Плешакова, М. Ю. Налепова, Д. А. Шустов // Труды Кубанского ГАУ. Серия «Ветеринарные науки». – Краснодар, 2009. – №1 (часть 2). – С. 126-128.

85. Плященко, С. И. Повышение естественной резистентности организма животных – основа профилактики болезней / С. И. Плященко // Ветеринария. – 1991. – №6. – С.49-50.

86. Полетаев, А. Б. Клиническая и лабораторная иммунология / А. Б. Полетаев. – Москва : Изд-во МИА, 2007. – 184 с.

87. Потёмкина, Е. Е. Пособие по лабораторной клинической иммунологии / Е. Е. Потёмкина, Р. З. Позднякова, Л. М. Манукян. – Москва : ИПК РУДН, 2003. – С.207-212.

88. Применение иммуномодуляторов при вакцинации животных против сальмонеллеза / А. Г. Шахов, Ю. Н. Масьянов, Ю. Н. Бригадиров [и др.] // Ветеринария. – 2006. – №6. – С.21-26.

89. Применение иммуномодуляторов продуктивным животным / А. В. Деева, Г. Г. Мехдиханов, В. Д. Соколов, Р. В. Белоусова // Ветеринария. – 2008. – №6. – С.8-12.

90. Прозоркина, Н. В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии : учебное пособие / Н. В. Прозоркина, Л. А. Рубашкина. – изд. 8-е, стер. – Ростов на Дону : Феникс, 2013. – 378 с.

91. Разработка, получение и некоторые свойства нового иммуномодулятора пептидной природы из ткани селезенки / А. Б. Цыпин, Н. А. Онищенко, Б. М. Мануйлов [и др.] // Иммунология. – 1995. – №1. – С. 33-35.

92. Резистентность организма поросят и ее коррекция биологически активными препаратами / С. П. Фисенко, В. А. Мищенко, Н. А. Яременко, А. В. Кононов // Ветеринария. – 2006. – №11. – С. 17-20.

93. Репин, В. С. Эмбриональные стволовые клетки: фундаментальная биология и медицина / В. С. Репин, А. А. Ржанинова, Д. А. Шаменков. – Москва, 2002. – 225 с.

94. Риган, В. Дж. Атлас ветеринарной гематологии / В. Дж. Риган, Т. Г. Сандерс, Д. Б. Деникола. – Москва : ООО «АКВАРИУМ ЛТД», 2000 – 136 с.

95. Ройт, А Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Миел. – Москва : Мир, 2000. – 592 с.

96. Ройт, А. Основы иммунологии /А. Ройт. – Москва : Мир, 1991. – 327 с.

97. Роль молекул адгезии в иммунном ответе / Г. И. Гилязова, И. С. Мухорамова, Ю. А. Руденко, П. В. Корой // Вестник молодого ученого. – 2012. – №2. – С.21-27.

98. Рыбченко, И. Н. Научные и практические аспекты применения иммуностимулирующих препаратов для повышения иммунной реактивности животных /И. Н. Рыбченко // Ветеринарный врач. – 2011. – №5. – С.36-38.

99. Рябов, Д. А. Фармакотоксикологические свойства иммуномодулятора иммуномакс / Д. А. Рябов // Ветеринарная патология. – 2007. – №3. – С.243-247.

100. Савченкова, И. П. Перспективы использования стволовых клеток в ветеринарии / И. П. Савченкова, М. И. Гулюкин // Ветеринария. – 2011. – №7. – С.3-5.

101. Савченкова, И. П. Стволовые клетки – перспективный материал для изучения некоторых инфекций млекопитающих in vitro / Труды ВИЭВ. – 2009. – том 75. – С.558-652.

102. Санин, А. В. Иммуномодуляторы и гемопоэз / А. В. Санин, М. А. Туманян // Экспериментальная онкология. – 1988. – №10. – С.8-15.

103. Сапин, М. Р. Иммунная система человека / М. Р. Сапин, Л. Е. Этинген. – Москва : Медицина, 1996. – 304 с.

104. Сенчик, А. В. Морфологические особенности оседлой и мигрирующей сибирской косули (*Capreolus pygargus* Pall) в Приамурье / А. В. Сенчик, А. А. Тоушкин

// Биологические ресурсы российского Дальнего Востока: материалы международной научно-практической конференции. – Благовещенск : Изд-во Дальневосточного ГАУ, 2004. – С. 205–209.

105. Сепиашвили, Р. И. От теории клеточной патологии Р. Вирхова к фагоцитарной теории И. И. Мечникова / Р. И. Сепиашвили // Физиологический журнал. – 2011. – том 57 (№5). – С.16-22.

106. Скопичев, В. Г. Физико-биохимические основы резистентности животных: учебное пособие / В. Г. Скопичев, Н. Н. Максимюк. – 2009. – 352 с.

107. Смирнов, В. С. Иммунодефицитные состояния / В. С. Смирнов, В. В. Малинин, С. А. Кетлинский. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2000. – 568 с.

108. Смирнов, В. С. Клиническая фармакология тимогена / под. ред. В. С. Смирнова. – Санкт-Петербург, 2004. – 106 с.

109. Смоленцев, С. Ю. Перспективы применения лечебно-профилактического иммуноглобулина в ветеринарии / С. Ю. Смоленцев, К. Х. Папуниди, Н. Б. Тарасова // Международный вестник ветеринарии. – 2011. – №1. – С. 26-29.

110. Соколов, В. Д. Иммуностимуляторы в ветеринарии / В. Д. Соколов, А. А. Соколов, Н. Л. Андреева // Ветеринария. – 1992. – №7–8. – С.49-50.

111. Справочник по технологии приготовления лекарственных форм / И. Д Александров, В. М. Субботин. – Ростов-на-Дону : «Феникс», 2001. – 158 с.

112. Староселов, М. А. Оценка сравнительной эффективности иммуно-корректоров для повышения резистентности КРС : автореф. дис. на соиск. учен. степ.

канд. вет. наук : 16.00.04, 16.00.03 / Староселов Михаил Александрович. – Краснодар, 2008. – 29 с.

113. Степаненко, М. В. Введение иммуноглобулиновых препаратов внутривенно / М. В. Степаненко // Ветеринария. – 2000. – №9. – С.46-48.

114. Степанов, Д. В. Практические занятия по животноводству : учебное пособие / под ред. Д. В. Степанова. – 3-е изд., перераб. и доп. – Санкт-Петербург : Изд-во «Лань», 2012. – 352с.

115. Суржикова, Е. С. Изменения крови овец северокавказской породы при использовании препарата «Селенолин» / Е. С. Суржикова, А. В. Кильпа // Вестник ветеринарии. – 2011. – №56. – С.63-67.

116. Танеева, Г. М. Иммунодефициты молодняка крупного рогатого скота и их коррекция / Г. М. Танеева, Г. А. Горячева // Вестник ветеринарии. – 2008. – №1. – С. 44-46.

117. Тараканов, Б. В. Новые биопрепараты в ветеринарии / Б. В. Тараканов, Т. А. Николичева // Ветеринария. – 2000. – №7. – С.45-50.

118. Телишевская, Л. Я. Применение методов биологического тестирования биопрепаратов, с использованием тест-культуры инфузорий / Л. Я. Телишевская, Е. А. Григорьева // Сборник научных трудов ВГНКИ. – том 61. – Москва, 1999. – С. 118-124.

119. Теоретическая и практическая иммунология : учебное пособие / М. Ш. Азаев, О. П. Колесникова, В. Н. Кисленко, А. А. Дадаева. – Санкт-Петербург : Издательство «Лань», 2015. – 320 с.

120. Топурия, Г. М. Влияние хитозана на естественную резистентность утят / Г. М. Топурия, В. П. Корелин // Ветеринария. – 2007. – №2. – С.53-54.

121. Топурия, Г. М. Иммунодефицитные состояния и их коррекция у КРС в условиях экологического неблагополучия: дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук : 16.00.02 / Топурия Гоча Мирианович. – Оренбург, 2003. – 403 с.

122. Топурия, Г. М. Показатели иммунного статуса телочек при применении гермивита / Г. М. Топурия, Л. Ю. Топурия, И. А. Рубинский // Ветеринария. – 2011. – №4. – С.12-14.

123. Топурия, Л. Ю. Применение препаратов тимуса для коррекции иммунодефицитных состояний у животных / Л. Ю. Топурия // Известия Оренбургского ГАУ. – 2006. – Вып. 11-1. Т 3. – С. 64-66.

124. Транс-технологии:сайт.–URL <http://www.trans-t.ru>.

125. Тулеева, Н. П. Применение витулина при лечении телят с начальной стадией бронхопневмонии / Н. П. Тулеева, Ю. В. Тулеев // Ветеринария. – 2006. – №11. – С.10-11.

126. Уиллард, М. Д. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных / М. Д. Уиллард, Г. Тведтен, Г. Г. Торнвальд; под ред. В. В. Макарова. – Москва : ООО «АКВАРИУМ БУК», 2004 – 432с.

127. Федоров, Ю. Н. Иммунокоррекция: применение и механизм действия иммуномодулирующих препаратов / Ю. Н. Федоров // Ветеринария. – 2005. – №2. – С.3-6.

128. Федоров, Ю. Н. Клинико-иммунологическая характеристика и иммунокоррекция иммунодефицитов животных / Ю. Н. Федоров // Ветеринария. – 2013. – №2. – С.3-8.

129. Хавинсон, В. Х. Тимоген / В. Х. Хавинсон, Н. В. Синакевич, С. В. Серый. – Санкт-Петербург, 1991. – 46 с.

130. Хаитов, Р. М. Иммунология / Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатьева, И. Г. Сидорович. – Москва : Медицина, 2000. – 432 с.

131. Хаитов, Р. М. Методические указания по испытанию новых иммуномодулирующих лекарственных средств / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, Т. В. Латышева // Ведомости научного центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств. – 2002. – №1. – С.11-21.

132. Хаитов, Р. М. Физиология иммунной системы / Р. М. Хаитов. – Москва : ВИНТИ, 2001. – 220 с.

133. Хаитов, Р. М. Экологическая иммунология / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин, Х. И. Истамов. – Москва : ВНИРО, 1995. – 219 с.

134. Хлопицкий, В. П. Мероприятия по повышению эффективности воспроизводства свиней / В. П. Хлопицкий, Ю. В. Конопелько, П. М. Кленовицкий // Ветеринария. – 2009. – №11. – С.15-18.

135. Хмылов, А. Г. Профилактика вторичных иммунодефицитов поросят миксофероном / А. Г. Хмылов, Е. М. Степанов // Ветеринария. – 2006. – №12. – С.9-10.

136. Шевкопляс, В. Н. Влияние антавина на продуктивность и естественную резистентность поросят / В. Н. Шевкопляс, В. И. Терехов // Вестник ветеринарии. – 2001. – №31. – С. 75-79.

137. Шкуратова, И. А. Коррекция иммунного статуса у высокопродуктивных коров / И. А. Шкуратова [и др.] // Ветеринария. – 2008. – №2. – С.11-12.

138. Эдиев, А.У. Иммунобиологический статус козлят при прямой иммунокоррекции и при иммуностимуляции их матерей / А. У. Эдиев, П. В. Аксенова, О. А. Логвиненко // Вестник ветеринарии. – 2012. – №63. – С. 60-61.

139. Юсупов, Р. Х. Иммунодефициты животных и их профилактика / Р. Х. Юсупов // Ветеринарный врач. – 2007. – специальный выпуск. – С. 8-11.

140. Юрченко, Л. И. Влияние тканевого препарата из кости на некоторые показатели реактивности организма животных / Л. И. Юрченко // Применение биогенных стимуляторов в ветеринарии и животноводстве. – Одесса, 1972. – С.72-74.

141. Abbas, G. Cellular and Molecular Immunology / G. Abbas, K. Abul. – W. B. Saunders Company, 2009. – 566 p.

142. Anderson, I. C. Cell Immunol / L. C. Anderson, 1977. – P. 145-155.

143. Appearance of T-cell markers in bone marrow rosette-forming cells after incubation with thymosin, a thymic hormone / J. F. Bach, M. Dardenne, A. L. Goldstein [et. al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1971. – Vol. 68. – № 11. – P. 2734-2738.

144. Janeway, Ch. A. Immunobiology / Ch. A. Janeway, P. Travers. – L., 1994. – 204 p.

145. Goldstein, A. Preparation, assay, and partial purification of a thymic lymphocytopoietic factor (thymosin) / A. Goldstein, F. D. Slater, A. White // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1996. – Vol. 56 – №3. – P. 1010-1017.

146. Gorman, N. T.: Immunology / N. T. Gorman // Textbook of veterinary internal medicine. Eds. S. J. Ettinger

and E. C. Feldman. – W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1995. – Vol.2. – 1978 p.

147. Greco, D. S. Immunity and the endocrine system / D. S. Greco, L.M. Harpold. – Vet. Clin. of North Am., Small Anim. Prac., 1994. – №24. – P. 765-782.

148. Levinson, J. Review of Medical Microbiology and Immunology /J. Levinson, E. Warren. – McGraw Hill Medical Publishing, 2008. – 672 p.

149. Lewis, P. M. Veterinary clinical immunology. From classroom to clinics / P. M. Lewis, A. Picut. – Lea &Febiger, Philadelphia, London, 1989. – P. 207-228.

150. Litman, G. Reconstructing immune phylogeny: new perspectives / G. Litman, J. Camnon, L. Dishaw // Nat Rev Immunol. – 2005. – №5 (11). – P.79.

151. Lunn, D.P. Clinico-pathological giagnosis of immunodeficiency / D. P. Lunn, J. T. McClure. – Eguine Vet. Edu. – 1993. – №5. – P. 30-32.

152. Mayer. Gene Immunology – Chapter One: Innate (non – specific) Immunity. Microbiology and Immunology On-Line Textbook / Mayer. – USC School of Medicine, 2007.

153. Markova, T. P. Methodological approaches to immunological diagnosis / T. P. Markova, R. M. Khaitov, G. N. Tchouvirov // Adv. Course and Conf. «From basic to applied Immunol». – Hong Kong, 1998. – 40 p.

154. Markova, T.P. Methodological approaches to immunological diagnosis. Immunol. Letters / T. P. Markova, R. M. Khaitov, G. N. Tchouvirov, 1997. – Vol. 56. – №1–3. –332 p.

155. Mikhailova, A. A. Myelopeptides – immunoregulatopy cytokines produces by the bone marrow cells //

A. A. Mikhailova, L. A. Fonina // Eur. J. Immunol. Soc. 10th Meet., Edinburg, 10-12 Sept., 1990. – 125 p.

156. Osebold, J. W. Mechanisms of action by immunologic adjuvants / J. W. Osebold. – J. Amer. Vet. Med. Assoc. – 1982. – №181. – P. 983-987.

157. Preparation for control of T-system of immunity and method for producing same / J. M. Lopukhin, R. V. Petrov, V. Y. Arion [et. al.]. – United States Patent №4, 377, 511, – Mar. 22, 1983.

158. Thimosin treatment of chronic hepatitis B: a placebo-controlled pilot trial / M. G. Mutchnick, H. D. Appelman, H. T. Chung [et. al.] // Hepatology. – 1991. – Vol. 14. – №3. – P. 409-415.

159. Thompson, J. P. Disorders of immune system / J. P. Thompson // The cat: Diseases and clinical management. Ed. Sherding R. G. – New York, Churchill Livingstone, 1994. – 311 p.

160. Thompson, J. P. Immunological Diseases / J. P. Thompson // Textbook of veterinary internal medicine. Eds. S. J. Ettinger and E. C. Feldman. – W.B. Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, 1995. – Vol.2. – P. 2002-2009.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

А/Г – альбумино-глобулиновое отношение

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

Игла М – модифицированная питательная среда

МП – миелопептиды

ПКМК – препарат из костного мозга сибирской
косули

ПКМЛ – препарат из костного мозга лисиц

САП – стимулятор антигенных популяций

с.-х. – сельскохозяйственный

ФЧ – фагоцитарное число

ФИ – фагоцитарный индекс

Ig – иммуноглобулины

α -глобулины – альфа-глобулины

β -глобулины – бетта-глобулины

γ -глобулины – гамма-глобулины

IgA – иммуноглобулины класса А

IgM – иммуноглобулины класса М

IgG – иммуноглобулины класса G

IgE – иммуноглобулины класса E

IgD – иммуноглобулины класса D

Научное издание

*Федоренко Татьяна Валериевна,
кандидат ветеринарных наук, доцент
Мандро Николай Михайлович,
доктор ветеринарных наук, профессор*

**РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА
ИЗ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА
СИБИРСКОЙ КОСУЛИ В СХЕМЕ
ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ЖИВОТНЫХ**

Монография

Подписано в печать 12.07.2021 г.

Формат 60х90/16. Уч.-изд. л – 5,01. Усл. печ. л. – 8,68.

Тираж 300 экз. Заказ 46–21.

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Дальневосточный
государственный аграрный университет»

Отпечатано в отделе оперативной полиграфии Дальневосточного
государственного аграрного университета
675005, г. Благовещенск, ул. Политехническая, 86