

«Ветеринарный врач» – 2012. – №6. – С. 18-19. 6. Новиков, Н.А. Основы ветеринарной радиобиологии / Н.А. Новиков, Н.М. Понамарев - Учебное пособие. ФГОУ ВПО Алтайский государственный аграрный университет, Барнаул, 2010. - С. 165. 7. Фокин, А.Д. Сельскохозяйственная радиология / А.Д. Фокин, А.А. Лурье, С.П. Торшин - Учебник для вузов – СПб.: Лань. 2011. – 416 с.: с ил. 8. Ярмоненко, С.П. Радиобиология человека и животных / С.П. Ярмоненко, А.Л. Вайнсон - Учебное пособие.– М.: «Высшая школа», 2004. – 549 с. 9. Melki, M. Gamma irradiation effects on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) under various conditions / M. Melki, T. Dahmani - Pak. J. Biol. Sciences, Vol. 12, 2009. - P. 1531-1534. 10. Thayer, D.W. Food irradiation : benefits and concern / D.W. Thayer - Journal of food quality. 1990. V.13. - P. 147-169.

УДК 619:616.391:636.2

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕКОТОРЫХ ФИТОЛЕКТИНОВ В ОПЫТАХ НА ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШАХ

Маценович А.А., Красочко П.П., Канделинская О.Л.

У О «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Введение. Известно, что лекарственные растения дикорастущей и культурной флоры Беларуси обладают широким спектром физиологически активных веществ, в том числе тех, которые характеризуются иммуномодулирующим действием (фенольные соединения, витамины и некоторые другие). Вместе с тем, обнаруживаемые в составе лекарственных растений белки изучены недостаточно. Это относится, в частности, к гликопротеинам семейства фитолектинов, которые, обладая углеводсвязывающими сайтами, способны избирательно связываться с углеводными детерминантами клеточных структур мембран. Среди многих функций лектинов их иммуномодулирующее действие является одним из наиболее известных. В научной литературе указывается, что благодаря своей способности к комплексообразованию с углеводами, в том числе и с углеводными детерминантными системами цитоплазматических мембран, лектины вызывают реакции агглютинации, преципитации, а также биологический ответ системы, на которую они воздействуют. Поэтому многие исследователи относят лектины к белкам — модификаторам биологического ответа. Проводятся исследования по их использованию в качестве иммуномодулирующих препаратов и адъювантов для вакцин [1, 4, 5, 6]. В этой связи является актуальным исследование лектинов для использования их в качестве иммуномодуляторов. Подобный подход позволяет выявить новые компоненты растений, ответственных за реализацию их общего фармакологического эффекта, и использовать полученные результаты для разработки эффективных растительных субстанций.

Целью исследований явился анализ иммунологической активности некоторых фитолектинов в опытах *in vitro* и лабораторных животных и анализ полученных результатов с целью определения перспективности их применения в качестве иммуностимулирующих препаратов.

Материал и методы исследования. Объектами исследований являлись фитолектины, выделенные из растений: чистотел большой, лишайник цетрария исландская, одуванчик лекарственный, эхинацея пурпурная и крапива двудомная. Для оценки иммунологической активности нами использованы нагрузочные тесты *in vitro* с использованием клеток, выделенных из крови больных иммунодефицитами животных. Использовали тесты розеткообразования субпопуляций лимфоцитов с исследуемыми фитолектинами в концентрациях - 5, 100 и 500 мкг/мл с эритроцитами барана. Параллельно проводили контрольный опыт без иммуностимулятора, с которым сравнивали полученный результат. По указанной схеме так же проводили нагрузочные тесты по оценке фагоцитоза нейтрофилов и времени восстановления нитросинового

тетразолия в формазаан (НСТ-тест) [2, 3, 7].

Для оценки гуморального иммунитета в опытах на лабораторных мышах провели их иммунизацию. Лабораторные животные были разделены на 7 групп (по 7 голов в каждой) с учетом принципа условных аналогов. В пяти группах опытных животных внутрибрюшинно вводили 0,25 мл суспензии *E. coli* в концентрации 2 млрд. микробных клеток в 1 мл и 0,25 мл раствора исследуемого фитолектина в концентрации по белку 1 мг/мл. Животным шестой опытной группы внутрибрюшинно вводили 0,25 мл суспензии *E. coli* в концентрации 2 млрд. микробных клеток в 1 мл и 0,25 мл 0,9 % раствора натрия хлорида (группа сравнения). А животным седьмой опытной группы внутрибрюшинно вводили 0,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида (контрольная группа). В течение опыта за животными проводилось наблюдение. На 14 день после иммунизации отбирали кровь методом тотального обескровливания. В сыворотке крови определяли титр антител в реакции агглютинации. При определении антител против *E. coli* использовали 2-кратные разведения сывороток. Для этого в лунки полистиролового планшета вносили по 200 мкл физиологического раствора, далее в первую лунку вносили 200 мкл сыворотки, перемешивали и переносили 200 мкл в следующую лунку и т.д. до 10 лунки. Далее добавляли в каждую лунку 200 мкл суспензии *E. coli* и оставляли на 24 часа в холодильнике при температуре 2-8°C. Одновременно ставили контроль на самоагглютинацию смешиванием суспензии *E. coli* и физиологического раствора в объемах 200 мкл. Учет реакции проводили по 4-балльной системе: «+ + + +» - полная агглютинация, при которой большой осадок на дне располагается кучкой или в форме открытого перевернутого зонтика; «+ + +» — почти полная агглютинация, осадок такой же; «+ +» - слабая агглютинация, осадок едва заметен; «+» — отмечаются следы агглютинации; «-» - отрицательная реакция. За титр принимали минимальное разведение, при котором отмечается агглютинация.

Бактерии *E. coli* из музея микроорганизмов кафедры микробиологии и вирусологии УО «ВГАВМ», использованные для иммунизации, предварительно проверили на патогенность для мышей. Для этого из суточной культуры приготовили суспензию 1 млрд. микробных тел/мл и ввели 0,5 мл внутрибрюшинно мышам. Проводили наблюдение 5 дней. Для подготовки суспензии микробных клеток необходимой концентрации использовали спектрофотометр Solar 2203. Измеряли оптическую плотность смыва суточной культуры при длине волны 540 нм и длине светового луча 10мм, на предварительно откалиброванном приборе по стандартам мутности МакФарланда. Полученную концентрацию использовали для подсчета степени разведения суспензии.

Результаты исследований. Анализ полученных результатов показал, что в основном все лектины из изученных растений обладают иммунологической активностью, увеличивают количество активных Т-лимфоцитов и стимулируют фагоцитоз. Однако не все изучаемые препараты обладают сходной иммунологической активностью. Так лектины из лишайника цетрария исландская увеличивают количество активных Т-лимфоцитов, в том числе Т-хелперов, при этом не оказывают воздействия на Т-супрессоры. Фагоцитарное число по сравнению с контролем значительно не изменяется. Однако увеличивается индекс активности нейтрофилов на 16,4 -20,4% в зависимости от дозы фитолектина.

Лектины из чистотела большого оказывают влияние в сторону увеличения активных как Т-хелперов, так и Т- супрессоров. Некоторые дозы (500 мг/мл) повышают фагоцитарное число. Индекс активности нейтрофилов увеличивается в зависимости от дозы от 4.4%, что укладывается в статистическое отклонение и показывает слабое влияние дозы 100 мг/мл, до 16.6%, что приближается к нижней границе активности предыдущего лектина. Активность лектинов из одуванчика лекарственного незначительна. Количество активных Т-лифоцитов увеличивается на 1-6 клеток, в том числе субпопуляций хелперов и супрессоров, фагоцитарное число практически неизменно по сравнению с контролем, а индекс активности увеличивается на 1-6.8%.

Фитолектины крапивы двудомной более активны. Они увеличивают количество активных лимфоцитов главным образом за счет Т-хелперов на 6-15 клеток, а также повышают индекс активности нейтрофилов до 60.2%, но при этом фагоцитарное число существенно не изменяется.

Наиболее активными являются лектины, изготовленные из эхинацеи пурпурной. Они оказывают существенное влияние на все звенья клеточного иммунитета. При их применении значительно возрастает фагоцитарное число (до 0,3), индекс активности нейтрофилов может возрастать на 22,6%, статистически достоверно увеличивается количество активных Т-лимфоцитов, в том числе и их субпопуляций.

При определении патогенности штамма *E. coli* все животные опытной группы оставались живы на протяжении 5 дней, из чего можно сделать вывод, что данный штамм не патогенен для мышей.

В ходе основного опыта мыши активно передвигались по клеткам, охотно принимали корм и воду. Признаков угнетения не наблюдалось.

При определении титра антител против исследуемых антигенов были получены результаты, представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты исследования сывороток крови белых мышей различных опытных групп

№ группы	Состав вводимой суспензии	Титр антител, log ₂ »
1	лектин из чистотела+E. coli	6,2±0,24
2	лектин из лишайника+E. Coli	5,0±0,21
3	лектин из одуванчика лекарственного +	7,1±0,14
4	лектин из эхинацеи пурпурной+E. coli	5,8±0,18
5	лектин из крапивы+E. Coli	5,1 ±0,29
6	E. coli+физиологический раствор	4,1±0,16
7	Без иммунизации	-

Анализ таблицы показывает, что исследованные лектины обладают выраженным влиянием на формирование гуморального иммунитета к *E. coli*. Все фитолектины в разной степени оказывают иммуностимулирующее действие. Наиболее активными в этом отношении являются лектины из чистотела большого, одуванчика лекарственного и эхинацеи пурпурной, которые увеличивают титр специфических антител на 2,1; 3,0 и 1,7 log₂ соответственно по сравнению с контролем.

Меньшей активностью обладают лектины из лишайника цетрарии исландской и крапивы двудомной. Значения прироста титра антител по сравнению с контрольной группой составило, log₂ 0,9 и 1,0.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что фитолектины из эхинацеи пурпурной, лишайника цетрарии исландской и крапивы двудомной обладают высокой стимулирующей активностью Т-лимфоцитов, причем некоторые действуют избирательно на субпопуляции, а также активизируют фагоцитоз. Поэтому данные субстанции являются перспективными для конструирования ветеринарных препаратов - иммуностимуляторов. Наибольшим стимулирующим эффектом на образование антител обладают лектины из чистотела большого, одуванчика лекарственного и эхинацеи пурпурной. Так как титр антител на *E. Coli* с использованием данных экстрактов из данных растений превышал 5,5 log₂. Данные лектины могут быть перспективными в использовании в качестве адъювантов для вакцин. Разнообразие влияния исследованных лектинов на разные звенья иммунитета позволяют сделать заключение, что путем их комбинации можно сконструировать комплексный иммуностимулирующий препарат. На наш взгляд, наиболее перспективной комбинацией является сочетание лектинов из эхинацеи пурпурной, лишайника цетрарии исландской и чистотела большого.

Литература. 1. Кисилевский, М.В. Иммуномодулирующее действие лектинов чины посевной (*Lathyrus sativiis* L). / М.В. Кисилевский, С.Г. Зайчикова // Химико-фармацевтический журнал. – Т. 36. – 2002. – № 6. – С. 30 – 31. 2. Кишкун, А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики/ А.А. Кишкун // Учебно-практическое гадание. - М., 2009. – 800 с. 3. Клиническая иммунология и аллергология / под редакцией Г. Лолора, Т. Фишера, Д. Адельмана. – М., 2000. – 806 с. 4. Корсун, В.Ф. Фитолектины – руководство по клинической фитотерапии / В.Ф. Корсун, В.М. Лахтин, Е.В. Корсун. А.А. Мицконас. – М., 2007. – 130 с. 5. Кубарев, В.С. Изучение реакции агглютинации лектинов зерновых и бобовых

культур с микроорганизмами – возбудителями желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных / В.С. Кубарев, М.П. Шишлов // Известия Национальной академии наук Беларуси. – 2006. – № 5. – С. 105 – 107. 6. Лахтин, В.М. Лектины – регуляторы метаболизма / В.М. Лахтин // Биотехнология. – 1986. – № 6. – С. 66 – 69. 7. Новикова, И.А. Комплексная лабораторная оценка иммунного статуса: учебно-методическое пособие для практических занятий с врачами клинической лабораторной диагностики / И.А.Новикова [и др.]. – Витебск, 2003. – 39 с.

УДК 619:616-085:618.14-002:618.7:636.2

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ОБЩЕСТИМУЛИРУЮЩИХ СРЕДСТВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПОСЛЕРОВОДОВОГО ЭНДОМЕТРИТА У КОРОВ

Михалёв В. И., Ерин Д.А., Скориков В.Н., Чупрын С.В.

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Россия

Введение. Проблема послеродовых заболеваний, в том числе и эндометрита, у коров в настоящее время является одной из основных в молочном животноводстве. В большинстве случаев решение этой проблемы осуществляется за счёт применения антимикробных средств. Однако, это не всегда приносит ожидаемый результат, за счёт развития антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов [3, 6]. В связи с этим повышение эффективности лечения эндометрита у коров является актуальным в настоящее время. Одним из способов повышения эффективности лечения коров является комплексная их терапия с применением, помимо этиотропных и симптоматических препаратов, средств общестимулирующей неспецифической терапии (ихтиол, АСД-2ф, препаратов на основе плаценты – плацента денатурированная эмульгированная (ПДЭ), плацента активное начало (ПАН), аминокселетон и т.д.) [1, 2, 4, 5]. Использование общестимулирующих средств не оказывает отрицательного влияния на организм коров и качество получаемой продукции.

Материал и методы исследований. Работа выполнена в лаборатории патологии воспроизводства. Материалом исследований служили коровы, больные острым послеродовым эндометритом (8-12 дней после отёла). Больных животных подвергали комплексному лечению. Коровам всех групп внутримышечно вводили 2% масляный раствор синестрола первый и второй день лечения в дозе 2 мл, окситоцин внутримышечно четырёхкратно, начиная со второго дня терапии в дозе 8-10 ЕД/100 кг массы тела, а также внутриматочно - антимикробный препарат с учётом чувствительности выделенной микрофлоры (тетраметр) 3-4 раза с 48-часовым интервалом. Кроме того, коровам второй группы (n=10) подкожно вводили 7% раствор ихтиола, приготовленного на 0,85% растворе натрия хлорида в повышающе-понижающейся концентрации [2], третьей (n=9) – подкожно ПДЭ трижды с 96-часовым интервалом, четвёртой (n=11) – внутримышечно 15% раствор АСД-2ф на тривитамине трижды с 48-часовым интервалом, пятой (n=11) – АСД-2ф и 7% раствор ихтиола трижды, шестой (n=15) – ПДЭ и 7% раствор ихтиола трижды и седьмой (n=13) – ПДЭ и АСД-2ф.

Результаты исследований. Установлено, что 7% раствор ихтиола в сравнении с контролем способствует повышению терапевтической эффективности на 20,0%, сокращению сроков выздоровления на 3,1 дня, периода от отёла до оплодотворения – на 14,4 дней и коэффициента оплодотворения – на 0,42 (таблица 1).