

На правах рукописи



004606661

Матлашов Андрей Евгеньевич

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОРГАНОВ
ИММУНОГЕНЕЗА ПОТОМСТВА ОВЕЦ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ
ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ**

06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и
морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

СТАВРОПОЛЬ – 2010 г.

Работа выполнена на кафедре анатомии и патанатомии
ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Лапина Татьяна Ивановна

Официальные оппоненты: заслуженный деятель науки РФ,
доктор биологических наук, профессор
Дмитриев Анатолий Федорович

доктор биологических наук, профессор
Водолажская Маргарита Геннадьевна

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Саратовский государственный
аграрный университет им. Н.И. Вавилова»

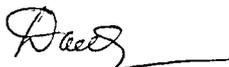
Защита диссертации состоится «29» мая 2010г. в 10 часов
на заседании диссертационного совета Д.220.062.02 при ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу:
355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.

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

Автореферат размещен на официальном сайте ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет»
<http://www.stgau.ru>

Автореферат разослан «28» мая 2010г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Ю. В. Дьяченко

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы.

Первоочередными задачами ветеринарных специалистов являются профилактика болезней животных и повышение эффективности ветеринарного обслуживания животноводства путем снижения заболеваемости, вынужденного убоя и гибели скота, особенно, молодняка.

По данным федеральной службы государственной статистики, гибель овец в хозяйствах РФ за 2008 и 2009 года составила 108000 голов. Исходя из средней стоимости 1 кг баранины (198,4 руб./кг – данные федеральной службы государственной статистики за 2008-2009 года), ущерб от гибели животных составил 641,5 миллионов рублей, из них 168,6 миллионов рублей – от потери молодняка.

Иммунная система, наряду с другими регуляторными системами организма, нервной и эндокринной, играет важную роль в патогенезе многих, если не большинства, заболеваний (В.В. Абрамов, 1991; К.В. Судаков, 2003).

В настоящее время тот факт, что потомство животных и человека рождается с незрелой иммунной системой, не вызывает ни у кого сомнений (А.П. Топтыгина, В.А. Алешкин, 2008). Состояние иммунной реактивности новорожденных зависит от состояния здоровья матери и специфики течения беременности. (А.Ф. Дмитриев, 2008; Е.В. Боклаженко, 2009).

Различные физиологические и патологические состояния беременных животных характеризуются определенными изменениями со стороны иммунного статуса, который необходимо целенаправленно корректировать, особенно в период беременности, путем применения иммуномодуляторов для получения более жизнеспособного молодняка (Н.Н. Гугушвили, 2003).

Для этих целей в последние годы предложено много различных иммуностимулирующих препаратов, однако до настоящего времени они имеют ограниченное применение из-за недостаточной изученности механизма их действия и отсутствия научно-обоснованных способов применения (Е.П. Сисягина, Г.Р. Реджепова и др., 2009).

Тема диссертационной работы является самостоятельным разделом комплексной программы научно-исследовательской работы кафедры анатомии и патанатомии ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», № темы 31.1 – «Морфофункциональные взаимоотношения, иммуногенез в системе мать-плод. Особенности течения беременности, перинатального и постнатального онтогенеза животных в норме и при патологии».

Цель и задачи исследований.

Целью нашей работы являлось изучение функциональной морфологии органов иммуногенеза ягнят, полученных от овец, прошедших курс иммунокоррекции во второй половине беременности.

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

– разработать иммуномодулятор на основе биологического вещества (стевозида) и определить дозы его применения;

– изучить гематологические, биохимические и иммунобиологические показатели крови беременных овец до и после применения иммуномодуляторов – полиоксидония, ронколейкина и препаратов на основе стевозида;

– оценить гистологическую картину, определить цитологический состав и морфометрические показатели центральных и периферических органов иммуногенеза ягнят, полученных от овец, прошедших курс иммунокоррекции на третьем месяце беременности.

Научная новизна работы.

Разработаны и испытаны на лабораторных животных и беременных овцах иммуностимуляторы на основе стевозида (приоритетная справка № 2009129773/15(041455) от 17.09.2009).

Впервые дана комплексная оценка гематологических, биохимических и иммунобиологических показателей беременных овец при иммунодефицитах и после применения полиоксидония, ронколейкина и иммуностимуляторов на основе стевозида.

Определено, что после применения исследуемых иммуномодуляторов беременным овцам у полученного от них потомства в тимусе увеличиваются функциональные зоны и пул более активных в функциональном отношении, малых, лимфоцитов в различных компартментах органа.

Установлено, что после применения полиоксидония беременным животным у полученного от них потомства в периферических органах иммуногенеза увеличиваются области локализации Т-клеточных популяций, после применения ронколейкина и препаратов на основе стевозида стимулируются как Т-, так и В-функциональные зоны иммунокомпетентных органов.

Теоретическая и практическая значимость.

Полученные данные проведенных исследований в значительной степени дополняют и расширяют сведения о влиянии иммуномодулирующих препаратов на организм беременных овец при иммунных дисфункциях. Результаты исследований характеризуют влияние применения иммуномодулирующих препаратов беременным овцам на степень развития органов иммуногенеза, полученных от них ягнят.

Корректировка иммунной системы беременных животных при иммунодефицитах, способствует получению молодняка с хорошо развитыми органами иммуногенеза, что позволяет рекомендовать использование полиоксидония, ронколейкина и препаратов на основе стевозида для иммуномодулирующей терапии беременных животных при дисфункциях иммунной системы.

Основные положения диссертационной работы вошли в методические рекомендации «Фармакокоррекция дисфункций иммунной системы

беременных сельскохозяйственных животных», утвержденные методическим советом СтГАУ и одобренные научно-техническим советом секции животноводства министерства сельского хозяйства Ставропольского края (26.03.2010 г.). Результаты исследований внедрены в СПК «Колхоз племзавод им. Чапаева» Кочубеевского района Ставропольского края.

Данные, полученные в ходе проведенного исследования, могут быть использованы в учебном процессе высших и средних учебных заведений на ветеринарных и биологических факультетах, а также курсах повышения квалификации, при написании учебников, учебных пособий, монографий.

Апробация работы.

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на:

- 72, 73 и 74 научно-практических конференциях ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» (г. Ставрополь, 2008-2010).
- Международной научно-практической конференции «Роль биологии и ветеринарной медицины в реализации государственных программ развития сельского хозяйства» (г. Оренбург, 2008).
- VI Всероссийской дистанционной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Современные проблемы устойчивого развития агропромышленного комплекса России» (Донской ГАУ, пос. Персиановский, 2009).
- Международной научно-практической конференции «Вавиловские чтения – 2009», (г. Саратов, 2009).
- научно-практической конференции совета молодых ученых Ставропольского края «Научные разработки и инновационные идеи развитию инновационной экономики России» (г.Ставрополь, 2010).

Публикации.

По теме диссертации опубликовано 10 статей, в том числе 1 статья в журнале из перечня изданий рецензируемых ВАК, а так же методические рекомендации «Фармакокоррекция дисфункций иммунной системы беременных сельскохозяйственных животных», одобренные методическим советом СтГАУ и научно-техническим советом секции животноводства министерства сельского хозяйства Ставропольского края (26.03.2010 г.).

Внедрение.

Результаты исследований внедрены в СПК «Колхоз племзавод им. Чапаева» Кочубеевского района Ставропольского края.

Полученные данные внедрены в учебный процесс по курсам анатомии, морфологии домашних животных, акушерства и хирургии, физиологии и ветеринарной микробиологии и иммунологии и патологической анатомии в ФГОУ ВПО «Ставропольский ГАУ», «Дальневосточный ГАУ», «Орел ГАУ», «Саратовский ГАУ», «Оренбургский ГАУ», «Алтайский ГАУ», «Новосибирский ГАУ», Ивановская ГСХА им. Д.К. Беляева, Брянская ГСХА, Самарская ГСХА, Нижегородская ГСХА, Вятская ГСХА.

Объем и структура диссертации.

Работа изложена на 156 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 97 рисунками: из них 58 микрофотографий, 39 диаграмм, и 12 таблицами. Диссертация включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов, выводы, практические предложения, список литературы и приложение. Список использованной литературы включает 182 источника, в том числе 35 иностранных авторов.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Препараты на основе стевииозидов, наряду с другими иммуномодулирующими препаратами, на фоне иммунных дисфункций оказывают на организм беременных овец выраженное иммуностимулирующее действие, проявляющееся в активации неспецифических и специфических факторов защиты организма.
2. Применение иммуномодуляторов (полиоксидония, ронколейкина и препаратов на основе стевииозидов) беременным животным при иммунодефицитах способствует получению от них молодняка, обладающего более развитыми органами иммуногенеза.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1. Материалы и методы исследований.

Работа выполнялась с 2007 по 2010 годы на кафедре анатомии и патанатомии ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», в лаборатории патологии обмена веществ ГНУ СНИИЖК РАСХН, а также в СПК «Кендже–Кулакский» с.Кендже–Кулак Туркменского района Ставропольского края.

Эксперимент был выполнен в четыре этапа. Перед проведением первого этапа нами были разработаны иммуностимулирующие препараты для животных на основе стевииозидов. При разработке препаратов на основе стевииозидов было использовано сырье, произведенное в Малайзии, отличающиеся хорошей чистотой очистки и доступной ценой. Перед испытаниями препаратов на беременных овцах проводили исследования опытных образцов препаратов СВР-2 и СМР-2 на белых лабораторных мышах по следующим критериям безопасности:

- стерильность препаратов определяли согласно ГОСТу 28085-89, используя микробиологический тест путем нанесения 1 мл препаратов на специальные дифференциально-диагностические питательные среды, с последующей инкубацией в термостате при температуре +37,5 °С в течение 7 суток. О стерильности препарата судили по отсутствию признаков бактериального и грибкового роста на питательных средах.

- Безвредность препаратов определяли путем однократного введения максимально допустимой дозы этих препаратов внутримышечно 40 белым

лабораторным мышам в дозе 0,5 мл. О безвредности препаратов судили по клиническому состоянию подопытных животных в течение недели.

• Токсичность определяли путем введения возрастающих концентраций стевियोзида в исследуемых препаратах, белым беспородным лабораторным мышам массой 18-20г. Препараты вводили в брюшную полость. Было сформировано четыре группы по 15 животных. Двум группам инъецировали препараты СВР-2 и СМР-2. Контролем служили животные, которым в соответствующих дозах вводили стерильный физиологический раствор и стерильное оливковое масло. Наблюдение за ними проводили в течение 14 дней с регистрацией времени наступления гибели. LD50 рассчитывали по методу Г.Н. Першина.

Для проведения третьего этапа по принципу аналогов было сформировано четыре опытных группы по пять годовалых овец ставропольской породы, находящихся на третьем месяце беременности в каждой. Группа №1 – контрольная, состояла из десяти овец, пяти животным инъецировали физиологический раствор, остальным стерильное оливковое масло, в группе №2 животным внутримышечно инъецировали “Полиоксидоний” в дозе 3 мг трехкратно через каждые три дня, в группе №3 животным подкожно вводили “Ронколейкин” в дозе 50000 МЕ два раза через 48 часов. СВР-2 (стевियोзид, водный раствор 20%) вводили подкожно в дозе 2 мл трехкратно через три дня овцам 4 группы, СМР-2 (стевियोзид, масляный раствор 20%) вводили подкожно в дозе 2 мл трехкратно через три дня овцам пятой группы.

По окончании 3 этапа эксперимента две контрольные группы были объединены в одну, так как между ними не отмечалось достоверно значимой разницы по всем исследуемым показателям.

Кровь для цитологических, гематологических, биохимических и иммунобиологических исследований брали утром до кормления из яремной вены на 5, 10 и 15 дни после последней инъекции.

Количество эритроцитов, лейкоцитов подсчитывали в счетной камере Горяева по общепринятым методикам. Лейкоцитарную формулу подсчитывали в мазках крови, фиксированных метанолом и окрашенных гематоксилином и эозином. Содержание гемоглобина в крови определяли по методу Сали с помощью гемометра ГС-3.

Количество общего белка определяли рефрактометрическим методом. Соотношение белковых фракций исследовали турбидиметрическим (нефелометрическим) методом по И.П. Кондрахину (2004). Принцип метода: сравнение интенсивности светорассеяния коллоидных растворов в проходящем свете, образующихся в результате коагуляции фосфатными растворами отдельных фракций белка.

Бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) определяли по изменению оптической плотности МПБ при росте в нём кишечной палочки (*Escherichia Coli* серовариант O₂) с добавлением и без добавления

испытуемой сыворотки. Лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК) определяли по изменению оптической плотности среды в результате способности лизоцима крови лизировать стандартный порошок культуры *Micrococcus Lisodecticus* штамм 2665 в 0,5 % растворе натрия хлорида. Фагоцитарную активность (ФА) нейтрофилов определяли способом, основанном на способности нейтрофилов к фагоцитозу полистерольных частиц латекса диаметром 1,5 мкм.

Количество Т-лимфоцитов определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами козы. Количество В-лимфоцитов определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами мыши. Субпопуляции Т-лимфоцитов определяли методом спонтанного розеткообразования в нагрузочном тесте с 0,01М раствором тирофилина по Е.В. Гебицкому (1987) (В.М. Жавненко, А.Ф. Могиленко, и др. 1993).

Под микроскопом в нескольких полях зрения подсчитывали отдельно количество лимфоцитов и розеткообразующих клеток. За розеткообразующую клетку принимали лимфоцит, присоединивший три и более эритроцитов. После подсчета 200 клеток вычисляли абсолютное количество розеток (Е-РОК). Мазки окрашивали по методу Майн-Грюнвальда и Лейшмана.

На четвертом этапе эксперимента полученных от исследуемых овец ягнят умертвляли на втором месяце жизни и отбирали иммунные органы и для гистологических и гистохимических исследований. Номер группы ягнят соответствовал номеру группы матери.

Кусочки органов фиксировали в 10% нейтральном формалине и 80° охлажденном спирте с последующей заливкой в парафин и гистологическую заливочную среду «Histomix®». Парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм изготавливали на микротоме и по общепринятым методикам окрашивали гематоксилином и эозином – для обзорных исследований, по Браше – для выявления плазматических клеток, по Гомори – на кислую и щелочную фосфатазу (Р.Лили, 1969; Г.А.Меркулов, 1969).

Морфометрические исследования проводили с помощью программы «Видео-Тест-Мастер 4.0». При этом, определяли абсолютное количество и процентное содержание малых, средних и больших лимфоцитов в поле зрения микроскопа в различных зонах тимуса, селезенки и лимфатических узлов. В селезенке определяли процентное соотношение белой и красной пульпы к паренхиме, также измеряли площадь лимфоидных узелков. В тимусе измеряли средний размер долек, толщину коркового и мозгового слоя.

Полученный цифровой материал обработан методами описательной статистики с помощью программы MS Office Excel 2007. Достоверным считали разницу при $P < 0,05$, посредством применения критерия однофакторного дисперсионного анализа (С. Гланц, 1998; Д.А. Новиков, В.В. Новочадов, 2005).

2.2. Результаты собственных исследований.

2.2.1. Определение стерильности, токсичности и безвредности препаратов СВР-2 и СМР-2.

После проведения исследований препаратов СВР-2 и СМР-2 на контаминацию бактериальной и грибковой микрофлорой на основании отсутствия признаков бактериального и грибкового роста на питательных средах препараты были признаны стерильными и соответствующими ГОСТу 28085-89.

Безвредность препаратов СВР-2 и СМР-2 определяли путем однократного введения максимально допустимой дозы этих препаратов внутримышечно белым лабораторным мышам. Судя по клиническому состоянию подопытных животных в течение недели, препараты были признаны безвредными.

2.2.2. Фоновые гематологические и иммунобиологические показатели крови беременных овец.

За пять дней до начала эксперимента у опытных и контрольных животных была взята кровь для лабораторных исследований. Изучив фоновые показатели крови беременных овец, нами было зарегистрировано развитие иммунодефицитного состояния организма. Основаниями для постановки такого диагноза послужило 25% снижение, относительно нормальных показателей, характерных для данного периода беременности, количества лейкоцитов ($6,2 \pm 0,3 \times 10^9/\text{л}$) за счет снижения популяции Т- и В-лимфоцитов ($1,7 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$) и ($0,8 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$), соответственно. Отмечено значительное угнетение бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови ($10,2 \pm 0,7\%$) и ($9,6 \pm 0,3\%$), соответственно.

2.2.3. Динамика гематологических показателей крови беременных овец после применения иммуномодуляторов.

Изучая гематологические показатели крови беременных овец второй группы, установлено увеличение концентрации эритроцитов на 5 день эксперимента на 20% относительно контрольных значений ($9,4 \pm 0,3 \times 10^{12}/\text{л}$). Динамика концентрации гемоглобина во все дни эксперимента отмечалась ростом по отношению к контролю. Так, к 5 дню опыта достоверная разница составила 13% ($125,2 \pm 2,05 \text{ г/л}$), к 10 дню – 15% ($126,8 \pm 1,4 \text{ г/л}$) и к 15 дню – 9% ($119,6 \pm 1,02 \text{ г/л}$). Количество лейкоцитов к 5 дню эксперимента выросло относительно контрольных значений на 7,5% и составило $9,4 \pm 0,3 \times 10^9/\text{л}$, на 10 и 15 день эксперимента разница с контролем составила 35% ($9,4 \pm 0,3 \times 10^9/\text{л}$) и ($9,8 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$), соответственно.

В третьей группе животных количество эритроцитов во все дни эксперимента остается на уровне величин контрольной группы. Достоверных изменений концентрации гемоглобина и количества лейкоцитов не регистрировалось. Количество лейкоцитов к 15 дню эксперимента увеличивается относительно контрольных значений на 43% и составляет $11,3 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$.

Концентрация гемоглобина в крови животных четвертой группы выросла относительно контрольных значений к 10 дню эксперимента на 9%, что соответствовало $118,7 \pm 0,9$ г/л. Анализируя динамику количества лейкоцитов, можно отметить достоверный рост этого показателя, начиная с 10 дня эксперимента, так, количество лейкоцитов к этому дню увеличилось на 30% и составило $8,6 \pm 0,2 \times 10^9$ /л, к 15 дню опыта разница этого показателя с контрольными значениями составила 43%, что соответствует $11,1 \pm 0,1 \times 10^9$ /л.

В пятой группе животных установлено достоверное увеличение к 5 дню опыта количества эритроцитов ($8,9 \pm 0,16 \times 10^{12}$ /л), по отношению к контрольным показателям разница составила 16%. Количество лейкоцитов достоверно увеличивается, начиная с 10 дня эксперимента, к этому дню лейкоциты увеличиваются на 43% относительно контрольных показателей и составляют ($10,7 \pm 0,5 \times 10^9$ /л), к 15 дню опыта этот показатель вырос на 46% ($11,9 \pm 0,3 \times 10^9$ /л).

Анализируя лейкоцитарную формулу крови животных второй группы, к 5 дню эксперимента отмечается увеличение количества лимфоцитов относительно контрольных значений на 32% и составляет $6,20 \pm 0,37 \times 10^9$ /л, к 10 дню опыта разница этого показателя с контрольными значениями составляет 38%, что соответствует ($5,31 \pm 0,36 \times 10^9$ /л). Количество нейтрофилов увеличивается относительно контрольных показателей на 62% к 15 дню эксперимента ($5,51 \pm 0,61 \times 10^9$ /л).

В третьей группе животных количество лимфоцитов возросло относительно контроля на 26% и составило $5,64 \pm 0,33 \times 10^9$ /л, к 10 и 15 дню эксперимента рост этого показателя составил 39% ($5,37 \pm 0,37 \times 10^9$ /л) и 47% ($7,86 \pm 0,56 \times 10^9$ /л), соответственно. Количество нейтрофилов к 5 дню опыта снизилось на 31% и составило $1,95 \pm 0,08 \times 10^9$ /л.

Количество лимфоцитов в крови животных четвертой группы увеличивается, относительно контрольных показателей, начиная с 5 дня эксперимента, на 28% ($5,82 \pm 0,11 \times 10^9$ /л), к 10 и 15 дню рост составил 37% ($5,20 \pm 0,13 \times 10^9$ /л) и 52% ($8,58 \pm 0,06 \times 10^9$ /л), соответственно. Количество нейтрофилов на 5 день эксперимента характеризовалось 32% спадом по отношению к контрольным значениям и составляло $1,92 \pm 0,07 \times 10^9$ /л.

В крови животных пятой группы, начиная с 5 дня эксперимента, увеличивается содержание лимфоцитов относительно контрольных величин на 37%, что соответствует $6,73 \pm 0,30 \times 10^9$ /л, к 10 дню опыта рост составил 49% ($6,37 \pm 0,77 \times 10^9$ /л). На 15 сутки эксперимента достоверный рост этого показателя по отношению к контролю составил 38% ($6,70 \pm 0,53 \times 10^9$ /л). Количество нейтрофилов на 5 день эксперимента находилось ниже контрольных показателей на 33% ($1,89 \pm 0,08 \times 10^9$ /л). К 10 и 15 суткам опыта этот показатель вырос на 40% ($4,28 \pm 0,30 \times 10^9$ /л) и 55% ($4,69 \pm 0,16 \times 10^9$ /л), соответственно.

2.2.4. Динамика популяций и субпопуляций лимфоцитов в крови беременных овец после применения иммуномодуляторов.

Анализируя динамику популяции лимфоцитов в крови беременных овец второй группы, отмечено 60% достоверное увеличение к 5 дню эксперимента по отношению к контрольным показателям общего количества Т-лимфоцитов ($4,58 \pm 0,15 \times 10^9/\text{л}$), Т-хелперов ($2,47 \pm 0,08 \times 10^9/\text{л}$) и В-лимфоцитов ($1,92 \pm 0,12 \times 10^9/\text{л}$). К 10 суткам опыта количество Т-лимфоцитов выросло на 57% и составило $4,12 \pm 0,42 \times 10^9/\text{л}$, количество Т-хелперов увеличилось на 65%, что соответствовало $3,09 \pm 0,36 \times 10^9/\text{л}$.

В крови беременных овец третьей группы к 5 дню эксперимента отмечено 63% увеличение количества Т-лимфоцитов относительно контрольных показателей ($4,83 \pm 0,26 \times 10^9/\text{л}$), количество Т-хелперов возросло на 56%, что соответствует ($2,25 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$). На 10 сутки эксперимента на 52% увеличивается содержание Т-лимфоцитов ($3,71 \pm 0,14 \times 10^9/\text{л}$), и на 43% возрастает популяция Т-хелперов, что соответствует $1,91 \pm 0,19 \times 10^9/\text{л}$. На 15 день опыта в крови животных третьей группы зарегистрирован рост всех исследуемых показателей. Так, количество Т-лимфоцитов увеличилось на 62% ($5,66 \pm 0,44 \times 10^9/\text{л}$), популяция Т-хелперов выросла на 55% ($2,49 \pm 0,21 \times 10^9/\text{л}$), популяция Т-супрессоров возросла относительно контрольных значений на 52% ($0,19 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$).

На 5 день эксперимента в крови беременных овец четвертой группы отмечено 56% увеличение количества Т-лимфоцитов относительно контрольных показателей ($4,09 \pm 0,68 \times 10^9/\text{л}$), популяция Т-хелперов возросла на 43% и составила $1,72 \pm 0,07 \times 10^9/\text{л}$. К 10 суткам опыта количество Т-лимфоцитов увеличивается относительно контроля на 47% и составляет $3,36 \pm 0,18 \times 10^9/\text{л}$, популяция Т-хелперов возросла на 10% ($1,19 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$). К этому дню эксперимента В-лимфоциты достоверно возрастают на 67% и составляют $1,59 \pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$.

На 15 сутки опыта в крови беременных овец четвертой группы отмечается рост всех исследуемых показателей. Так, количество Т-лимфоцитов возрастает на 58% и составляет $5,03 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$, популяции Т-хелперов и Т-супрессоров увеличивается на 29% ($1,58 \pm 0,08 \times 10^9/\text{л}$) и на 59% ($0,22 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$), соответственно. Количество В-лимфоцитов к этому дню эксперимента возросло на 76% и составляет $3,03 \pm 0,14 \times 10^9/\text{л}$.

В крови беременных животных пятой группы к 5 дню эксперимента отмечено 56% достоверное увеличение количества Т-лимфоцитов ($4,89 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$). Количество В-лимфоцитов к этому дню возросло относительно контрольных значений на 61%, что составляет $1,81 \pm 0,30 \times 10^9/\text{л}$. На 10 сутки эксперимента количество Т-лимфоцитов увеличилось относительно контрольных значений на 62% и составляет $4,71 \pm 0,65 \times 10^9/\text{л}$. В-лимфоциты к этому дню опыта выросли на 61%, что соответствует $1,35 \pm 0,15 \times 10^9/\text{л}$. К 15 суткам эксперимента количество В-лимфоцитов достоверно увеличивается относительно контрольных показателей на 80% и составляет $3,47 \pm 0,37 \times 10^9/\text{л}$.

2.2.5. Динамика общего белка и его фракций в сыворотки крови беременных овец после применения иммуномодуляторов.

На 10 и 15 день эксперимента по отношению к контрольным показателям у животных второй группы отмечается достоверное снижение общего белка на 9% ($61,8 \pm 1,9$ г/л и $61,5 \pm 1,6$ г/л, соответственно). Достоверного изменения концентрации альбуминов не регистрировалось. Количество α -глобулинов на 5 день эксперимента снизилось на 40% и составило $4,76 \pm 0,4$ г/л, к 10 дню опыта этот показатель вырос на 30% и составил $19,4 \pm 4,1$ г/л. Достоверно снизился уровень β -глобулинов к 5 дню на 33% ($7,4 \pm 0,7$ г/л) и к 10 дню эксперимента на 10% ($11,4 \pm 3,9$ г/л). γ -глобулины на 15 днь опыта снизились на 54% и составили $10,6 \pm 1,9$ г/л.

У животных третьей группы достоверных изменений концентрации общего белка во все дни эксперимента не обнаружилось. Уровень альбуминов на 5 день опыта вырос относительно контрольных значений на 8% и составил $44,7 \pm 1,2$ г/л. Достоверных изменений α - и β -глобулинов в этой группе не отмечалось. Количество γ -глобулинов выросло к 10 дню на 25% и составило $33,5 \pm 3,1$ г/л, а к 15 дню эксперимента снизилось на 11% ($20,5 \pm 4,3$ г/л).

В четвертой группе животных концентрация альбуминов возросла на 5 день опыта относительно контрольных значений на 13% ($47,53 \pm 0,2$ г/л). Содержание α -глобулиновой фракции колебалось в пределах стандартной ошибки. Концентрация β -глобулинов постепенно снижалась, и к 10 дню опыта отмечено достоверное снижение на 31%, что составило $8,7 \pm 1,6$ г/л. Концентрация γ -глобулинов к 5 дню эксперимента упала на 54%, что соответствовало $5,9 \pm 0,8$ г/л.

У животных пятой группы регистрируется 8% достоверное снижение концентрации общего белка к 10 дню эксперимента, что составляет $62,1 \pm 1,3$ г/л. Концентрация α -глобулинов к 10 дню опыта находилась на нижнем пике $7,83 \pm 1,3$ г/л, что ниже контрольных показателей на 43%. β -глобулиновая фракция, напротив, к 10 дню эксперимента показала 44% рост относительно контрольных значений, что соответствовало $22,9 \pm 4,3$ г/л. Концентрация γ -глобулинов к 10 дню опыта находилась ниже контрольных значений на 50% и составляла $12,5 \pm 1,3$ г/л.

2.2.6. Динамика показателей естественной резистентности беременных овец после применения иммуномодуляторов.

Лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК) животных второй группы на 5 день эксперимента возросла по отношению к контрольной группе животных на 55% и составила $21,4 \pm 1,1\%$. На 15 день эксперимента отмечено достоверное увеличение ЛАСК на 65% по отношению к контрольным показателям $52,08 \pm 0,7\%$. Бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК) на пятый день эксперимента в этой группе достоверно увеличилась на 57% и составила $23,6 \pm 0,5\%$. На 10 день эксперимента наблюдается увеличение БАСК на 73% ($28,2 \pm 1,9\%$), а к 15 дню опыта рост

составил 80% ($43,2 \pm 1,1\%$). В этой группе к 5 дню опыта фагоцитарная активность нейтрофилов возросла на 23% ($44,2 \pm 1,2\%$), к 10 и 15 активность немного снижается и составляет $39,2 \pm 1,2\%$ и $39,4 \pm 1,8\%$, соответственно, разница с контролем составила 15%.

Лизоцимная активность сыворотки крови животных третьей группы возросла относительно контрольных значений на 23% и составила $12,4 \pm 0,1\%$ на 5 день эксперимента, к 10 дню опыта рост составил 49% ($35,4 \pm 0,8\%$), а к 15 дню этот показатель увеличился на 60% ($46,3 \pm 1,1\%$). Бактерицидная активность сыворотки крови у этой группы также отмечается динамичным ростом по отношению к контрольным показателям. Так, к 5 дню эксперимента уровень БАСК увеличился на 58% и составил $24,4 \pm 0,3\%$, к 10 и 15 дню опыта рост составил 70% ($24,9 \pm 0,5\%$) и 81% ($44,5 \pm 0,3\%$), соответственно. Фагоцитарная активность нейтрофилов к 5 дню эксперимента возросла по отношению к контрольным значениям на 37%, что составляет $53,8 \pm 1,2\%$. К 10 дню опыта фагоцитарная активность немного снижается $46 \pm 2\%$, но остается выше контрольных показателей на 27%. На 15 день эксперимента достоверных изменений показателя в этой группе животных не отмечено.

У животных четвертой группы на пятый день эксперимента уровень лизоцимной активности сыворотки крови снизился относительно контрольных показателей на 17% ($7,8 \pm 0,4\%$). На 10 и 15 день опыта этот показатель вырос на 11% ($20,3 \pm 0,7\%$) и 34% ($27,8 \pm 0,3\%$), соответственно. Уровень бактерицидной активности сыворотки крови в этой группе характеризовался динамичным ростом во все дни эксперимента. Так, уровень БАСК к 5 дню опыта увеличился на 21% и составлял $12,8 \pm 0,3\%$, к 10 и 15 дню эксперимента рост составил 67% ($22,8 \pm 1,1\%$) и 54% ($18,6 \pm 0,7\%$), соответственно. В этой группе уровень фагоцитарной активности нейтрофилов крови на 5 день эксперимента находится на уровне контрольных значений. На 10 день опыта отмечено достоверное увеличение этого показателя на 25% ($44,4 \pm 1,6\%$). К 15 дню эксперимента уровень фагоцитарной активности находится в пределе $45,2 \pm 1,9\%$, рост по отношению к контрольным показателям составил 26%.

У животных пятой группы достоверных изменений ЛАСК на 5 день эксперимента не отмечено. Рост уровня лизоцимной активности сыворотки крови к 10 дню опыта составил 16% ($21,5 \pm 0,1\%$), к 15 суткам опыта увеличение этого показателя составляло 9% ($20,06 \pm 0,5\%$). Бактерицидная активность сыворотки крови на 5 день эксперимента находилась в пределах стандартной ошибки. На 10 день эксперимента уровень БАСК вырос относительно контрольных значений на 65% и составил $17,02 \pm 0,2\%$. Уровень бактерицидной активности сыворотки крови к 15 дню эксперимента вырос на 67% и соответствовал $26,08 \pm 1,1\%$. Фагоцитарная активность нейтрофилов к 5 дню опыта возросла относительно контрольных значений на 35% и составила $52 \pm 3,2\%$. На 10 день эксперимента этот показатель немного

снизился до уровня $47,8 \pm 2,4\%$, что выше показателей контрольной группы на 30%. К 15 дню опыта уровень фагоцитарной активности нейтрофилов снизился до контрольных величин.

2.2.7. Гистологические, гистохимические и морфометрические показатели тимуса ягнят полученных от опытных животных.

При макроскопическом исследовании тимуса ягнят всех групп анатомических отклонений от нормы не отмечено. Тимус серовато-белого цвета плотной консистенции и просматривается разделение органа на доли.

При микроскопическом исследовании тимуса ягнят контрольной группы в долях органа средней площадью ($765421,3 \pm 138577,6$ мкм²), граница коркового и мозгового вещества сглажена. Самые большие доли расчленены в области коркового вещества. Толщина коркового слоя составляет $164,6 \pm 11,6$ мкм. В корковом веществе лимфоциты располагаются рядами, преимущественно, перпендикулярно капсуле. Абсолютное количество лимфоцитов в этом слое находилось на уровне $125,6 \pm 4,9$ клеток, из них $77,9 \pm 2,7\%$ малых, $18,1 \pm 2,3\%$ средних и $3,1 \pm 1,1\%$ больших лимфоцитов. Мозговое вещество занимает большую часть доли (диаметр – $499,2 \pm 39,5$ мкм). В нем лимфоциты располагаются рядами, расположенными на значительном расстоянии друг от друга. Абсолютное количество лимфоцитов в мозговом веществе находилось на уровне $51,3 \pm 2,9$ клеток, из них $69,01 \pm 5,3\%$ малых, $25,6 \pm 3,8\%$ средних и $3,4 \pm 1,5\%$ больших тимоцитов. В мозговом веществе лимфоциты более светлые. Тимические тельца крупные, расположены ближе к границе с корковым веществом, их количество в долях различное, не зависит от размера доли. В среднем в доле встречается от 1 до 3 тимических телец. Нередко рядом с ними встречаются плазматические клетки.

Исследуя тимус ягнят 2 группы, нами установлено достоверное увеличение средней площади доли на 64% ($2160510 \pm 163658,3$ мкм²). Хорошо выражена подкапсулярная зона. Граница коркового и мозгового слоев выражена четко. На 65% увеличилась относительно контрольных значений толщина коркового вещества ($375,8 \pm 26,7$ мкм). Лимфоциты в корковом веществе располагаются диффузно. Отмечено достоверное увеличение количества тимоцитов в корковом веществе тимуса на 49% и составляет $248,3 \pm 5,5$ клетки. Достоверных изменений популяционного состава лимфоцитов в корковом веществе не регистрировалось. В корковом веществе в большом количестве встречаются крупные клетки, – макрофаги, окруженные тимоцитами. В некоторых местах обнаруживаются очаги отсутствия лимфоцитов. В мозговом веществе тимоциты располагаются группами. Достоверных изменений толщины мозгового слоя, количества лимфоцитов и их популяционного состава не отмечено. Тимические тельца разнообразной формы, располагаются, преимущественно, в центре доли.

У животных 3 группы средняя площадь доли увеличилась на 66% ($2279983 \pm 409952,5$ мкм²). Очень хорошо выражена субкапсулярная зона, в

ней лимфоциты расположены слабо выраженными гроздьями. Между корковым и мозговым веществом граница выражена слабо. Толщина коркового вещества достоверно увеличилась по отношению к контрольным показателям на 80% и составила $811,6 \pm 89,7$ мкм. Абсолютное количество лимфоцитов в корковом веществе увеличилось на 27% относительно контрольных значений ($172,3 \pm 2,02$ клеток). Достоверных изменений в популяции тимоцитов коркового вещества не отмечалось. При большом увеличении микроскопа видно, что лимфоциты в корковом веществе располагаются гроздьями, просматриваются клетки-няньки. В мозговом веществе находится значительное количество лимфоцитов ($87,6 \pm 3,7$ клеток), это на 41% выше контрольных значений. В этом слое отмечено двукратное увеличение популяции средних тимоцитов ($50,7 \pm 6,5\%$). Некоторые лимфоциты контактируют с тимическими тельцами. Ядра тимоцитов плотные и хорошо выражены.

У животных 4 группы средняя площадь дольки увеличилась на 75% относительно контрольных показателей и составила $3178041 \pm 343244,1$ мкм². Местами хорошо выражена субкапсулярная зона. Просматривается четкая граница между корковым и мозговым веществом. В корковом веществе лимфоциты располагаются плотно, диффузно. Толщина коркового слоя достоверно увеличилась на 74% относительно контрольных значений и составила $652,1 \pm 48,8$ мкм. На 38% достоверно увеличилось абсолютное количество тимоцитов в корковом веществе тимуса ($202,6 \pm 13,9$ кл.). На 11% снизилась популяция малых лимфоцитов ($68,9 \pm 1,5$ %) за счет 35% увеличения средних форм тимоцитов ($28,7 \pm 1,7\%$). Процентный состав больших лимфоцитов в этой зоне вилочковой железы достоверно не изменился. В корковом веществе встречаются макрофаги, двумя рядами окруженные лимфоцитами, расположенными рядом с апоптозными тельцами.

В мозговом веществе тимуса лимфоциты имеют правильную округлую форму, четко выраженные ядра, в которых просматриваются от двух до семи ядрышек. В этой зоне отмечено достоверное увеличение абсолютного количества тимоцитов на 47% относительно контрольных показателей ($87,6 \pm 3,7$ кл.). Процентное соотношение популяционного состава достоверно не изменилось. В мозговом веществе встречаются макрофаги, окруженные лимфоцитами.

В пятой группе животных средняя площадь дольки тимуса увеличилась относительно контрольных значений на 62%, что составляет 2059461 ± 211413 мкм². Субкапсулярная зона выражена слабо, лимфоциты в этой зоне располагаются цепочками. Достоверно на 62% увеличилась толщина коркового слоя ($432,8 \pm 50,4$ мкм). Тимоциты в корковом веществе располагаются не рядами, а группами. Чаще тимоциты расположены диффузно. Абсолютное количество лимфоцитов в этой зоне увеличилось относительно контрольных значений на 45%, что составляет $227 \pm 10,1$ клеток. На фоне 16% достоверного снижения популяции малых лимфоцитов

(65,2±3,03%), происходит 45% увеличение процентного состава средних клеток (33,3±3,2%). Толщина мозгового слоя достоверно снизилась относительно контрольных значений на 28% и составила 358,1±34,3 мкм². В мозговом веществе находится значительное количество лимфоцитов. Абсолютное количество тимоцитов в этой зоне достоверно увеличилось относительно контрольных значений в два раза и составило 106±2,3 клеток. Процентное соотношение популяционного состава достоверно не изменялось. Тимические тельца располагаются по центру мозгового вещества, в разных дольках их количество разное, от 1 до 3.

2.2.8. Гистологические, гистохимические и морфометрические показатели лимфатических узлов ягнят полученных от опытных животных.

При макроскопическом исследовании лимфатических узлов опытных и контрольной групп установлено характерное для органов строение и цвет. При разрезе края органов смыкаются, граница коркового и мозгового слоя выражена четко.

При микроскопическом исследовании лимфатических узлов, у животных, входящих в первую группу, отмечено умеренное заполнение лимфоцитами краевого синуса, хотя в некоторых местах рядом с лимфоидным узелком находится много лимфоцитов. В корковом веществе лимфоидные узелки не имеют четких границ, они разные по форме и по содержанию. В лимфоидных узелках периферическая зона в среднем содержит 58,2±2,9 лимфоцитов, из них 51,7±8,1% малых, 42,9±7,9% средних и 5,4±1,8% больших. В центре лимфоидных узелков насчитывается 97,5±3,8 клеток, из них 33,7±6,8% малых лимфоцитов, 55,9±3,8% средних и 10,2±3,5% больших, между этими зонами наблюдается разреженное пространство. Хроматин в лимфоцитах не конденсирован, особенно это наблюдается в разреженной зоне. В ядрах хорошо просматриваются от четырех и более ядрышек, все они имеют разные размеры. В центре находятся лимфоциты с более плотными ядрами, просматриваются цепочки лимфоцитов, что указывает на их пролиферацию. Редко в центре лимфоидных узелков встречаются макрофаги. По периферической зоне узелков располагаются лимфоциты с более плотными ядрами. В центре лимфоидных узелков рядом с макрофагом встречаются апоптотные тельца. В других лимфоидных узелках периферическая зона сильно разрежена, в центральной зоне узелков находится скопление лимфоцитов. Иногда на периферии лимфоидных узелков встречаются очаги лимфоцитов, ядра которых плотные, ядрышки не просматриваются. В центре лимфоидных узелков просматриваются короткие невыраженные цепочки лимфоцитов. В лимфоидных узелках встречаются единичные плазматические клетки. Паракортикальная зона заполнена значительным количеством лимфоцитов (86,2±4,6 клеток), из них 73,2±2, % малых, 22,8±2,3% средних и 3,9±1,1% больших лимфоцитов. Мозговые шнуры и мозговые синусы по наполняемости лимфоцитами равны 2:1,

поэтому мозговые шнуры четко не выражены. Лимфоциты имеют хорошо выраженные ядрышки, просматриваются макрофаги, встречаются фигуры митоза. В мозговом веществе встречаются единичные плазматические клетки.

Краевой синус лимфатических узлов ягнят второй группы заполнен лимфоцитами. Лимфоидные узелки хорошо выражены, имеют разреженную структуру, четкие границы, располагаются, преимущественно, вблизи трабекул. У животных, входящих во вторую группу, отмечено достоверное снижение абсолютного количества лимфоцитов в периферической зоне лимфоидных узелков на 16%, что составило $48,6 \pm 2,3$ клеток, из них $45,1 \pm 2,5\%$ малые, $47,6 \pm 2,05\%$ средние и $7,2 \pm 1,9\%$ большие лимфоциты. Лимфоциты имеют нечеткую форму, много лимфоцитов со светлыми ядрами, встречаются макрофаги. Во второй группе животных наблюдалось 32% достоверное снижение количества средних лимфоцитов в центральной зоне лимфоидных узелков ($37,1 \pm 4,5\%$), количество малых составляло $58,7 \pm 7,1\%$ и $4,3 \pm 2,8\%$ больших. Абсолютное количество лимфоцитов в этой зоне находилось на уровне $58,6 \pm 4,05$ клеток. За пределами лимфоидных узелков, в паракортикальной зоне, лимфоциты более мелкие, их граница более четкая, располагаются диффузно. Абсолютное количество лимфоцитов достоверно снижено на 29% и составляет $61,6 \pm 4,4$ клеток. Количество малых лимфоцитов достоверно снижено на 47% и составляет $38,1 \pm 6,05\%$ за счет двукратного достоверного увеличения количества средних ($46,9 \pm 3,2\%$) и более, чем трехкратного увеличения количества больших лимфоцитов ($14,8 \pm 4,3\%$). В промежуточных синусах большое разнообразие клеток. В мозговых шнурах содержится умеренное количество лимфоцитов, они имеют четкую структуру и значительное количество макрофагов.

У животных, входящих в третью группу, краевые синусы лимфатических узлов умеренно заполнены лимфоцитами. По периферии лимфоидных узелков лимфоцитов значительно больше, чем в центральной части. Лимфоциты по периферии узелков имеют правильную округлую форму. У животных третьей группы абсолютное количество лимфоцитов в периферической зоне лимфоидных узелков достоверно увеличилось в два раза ($111,4 \pm 7,9$), из них $59,2 \pm 2,8\%$ малые, $38,8 \pm 2,7\%$ средние и $1,9 \pm 0,6\%$ большие лимфоциты. В центре лимфоидных узелков встречаются апоптозные тельца. Абсолютное количество лимфоцитов и их популяционное соотношение в этой зоне достоверно не изменялось. У животных, входящих в третью группу, в паракортикальной зоне лимфатических узлов достоверно увеличилось количество больших лимфоцитов на 10% ($14,8 \pm 4,3\%$), количество средних и малых лимфоцитов находилось на уровне $31,5 \pm 12,5\%$ и $64,05 \pm 16,3\%$, соответственно. Абсолютное количество лимфоцитов в этой группе насчитывало $77 \pm 5,4$ клеток. В паракортикальной зоне встречаются разнообразные клетки. Промежуточные синусы неширокие, пустые. Мозговые шнуры заполнены лимфоцитами меньшими по размеру, располагающимися группами.

У животных четвертой группы краевой синус лимфатических узлов умеренно заполнен лимфоцитами. Лимфоидные узелки лимфатических узлов разнообразной формы, – овальные и круглые, имеют четкие границы. Лимфоциты в узелках располагаются равномерно. При большом увеличении видно, что лимфоциты имеют четкие границы, в них хорошо выражены ядрышки от 1 до 3. Изредка встречаются апоптотные тельца. Размеры лимфоцитов разнообразны. Лимфоциты по периферии лимфоидных узелков располагаются более плотно, чем в центре. Достоверных изменений абсолютного количества лимфоцитов и их процентного соотношения не выявлялось. По периферии лимфоидных узелков встречаются лимфоциты с плотным ядром, но в большинстве случаев ядра лимфоцитов светлые. У животных четвертой группы наблюдалось 34% достоверное снижение количества средних лимфоцитов в центральной зоне лимфоидных узелков ($36,1 \pm 6,2\%$) за счет достоверного увеличения в 1,8 раза количества малых лимфоцитов ($60,09 \pm 7,1\%$), количество больших лимфоцитов составляло $3,8 \pm 1,4\%$. Абсолютное количество лимфоцитов в этой зоне находилось на уровне $56,8 \pm 1,7$ клеток. В паракортикальной зоне встречаются лимфоциты более мелкие по размеру. Абсолютное количество лимфоцитов в паракортикальной зоне лимфатических узлов животных четвертой группы достоверно снижено на 30% и составляло $60 \pm 3,01$ клетки. Пул малых лимфоцитов достоверно снижался на 27% ($53,7 \pm 5,3\%$) за счет достоверного 70% увеличения популяции средних лимфоцитов ($39,2 \pm 2,7\%$), количество больших лимфоцитов находилось на уровне $6,9 \pm 2,7\%$. Промежуточные синусы умеренно заполнены лимфой с незначительным количеством лимфоцитов. В мозговых шнурках лимфоциты по размерам меньше, чем в фолликулах, увеличивается присутствие плазматических клеток, в поле зрения микроскопа, в 4–5 раз по отношению к контрольным показателям.

Краевые синусы лимфатических узлов животных пятой группы полупустые с незначительным количеством лимфоцитов. В лимфоидных узелках лимфоциты располагаются разрыхлено, хотя фолликулы имеют четкие границы. У животных, входящих в пятую группу, количество больших лимфоцитов в периферической зоне лимфоидных узелков достоверно ниже на 9% относительно контрольных показателей и составляет $4,9 \pm 0,07\%$ при абсолютном количестве лимфоцитов $60,3 \pm 0,8$ клеток. В этой группе количество малых лимфоцитов составляло $45,7 \pm 7,3\%$, а средних $49,4 \pm 7,2\%$ клеток, соответственно. В центральной зоне лимфоидных узелков лимфатических узлов животных пятой группы наблюдается 24% достоверное снижение абсолютного количества лимфоцитов ($73,5 \pm 11,3$), из них $44,9 \pm 8,4\%$ малые, $47,04 \pm 6,8\%$ средние и $7,9 \pm 2,1\%$ большие лимфоциты. В лимфоидных узелках в поле зрения микроскопа, примерно в четыре раза относительно контрольных показателей, увеличивается содержание плазматических клеток. В паракортикальной зоне лимфатических узлов также отмечалось достоверное снижение доли малых лимфоцитов на 57% и составляло

31,1±6,6% за счет достоверного двукратного увеличения концентрации средних и больших лимфоцитов 61,6±3,7% и 7,1±4,2%, соответственно. Абсолютное количество лимфоцитов в этой зоне составляло 92±5,5 клеток. Промежуточные синусы, преимущественно, заполнены лимфоцитами.

2.2.9. Гистологические, гистохимические и морфометрические показатели селезенки ягнят, полученных от опытных животных.

При макроскопическом исследовании селезенки установлено, что орган располагается анатомически правильно, характерного строения и цвета. При разрезе края органов смыкаются, соскоб умеренный, различимы лимфоидные узелки.

При микроскопическом исследовании селезенки ягнят первой группы граница между красной и белой пульпой сглажена. Белая пульпа занимает 14,6±0,6% от общей площади паренхимы селезенки. Лимфоидные узелки разнообразной формы, средней площадью 94603,4±8401,08 мкм² содержат в среднем 88±12 клеток лимфоидного ряда, из них 31,2±9,6% малых, 53,3±3,9% средних и 11,8±4,2% больших лимфоцитов. В лимфоидных узелках встречаются макрофаги. Красная пульпа селезенки ягнят I группы занимает 85,6±0,6 % от площади паренхимы. В красной пульпе содержится значительное количество (55,8±9,3) лимфоцитов, из них 15,7±8,7% малых, 68,7±7,4% средних и 13,6±3,7% больших лимфоцитов.

Граница между белой и красной пульпой селезенки ягнят второй хорошо выражена. Содержание белой пульпы в площади паренхимы селезенки составило 7,8±0,5%, что в 2 раза меньше по сравнению с контролем. Площадь лимфоидных узелков выросла на 24% и составила 125777,7±12230,03 мкм². Лимфоциты в узелке распределены неравномерно, то есть как группами, так и диффузно. В периартериальной зоне встречаются фигуры митотического деления клеток. В лимфоидном узелке малых лимфоцитов 76,5±3,4%, что на 56% больше чем, в контроле. Популяция средних лимфоцитов ниже более, чем в два раза (22,3±3,7%), а содержание больших лимфоцитов оказалось ниже контрольных показателей на 97% и составило 0,36±0,3%. Красная пульпа занимает 92,1±0,5% от площади паренхимы селезенки, что на 7% выше показателей животных контрольной группы. Наблюдаются кооперации клеток белой крови, встречаются лимфоциты с хорошо конденсированным хроматином и плазматические клетки. В лимфоидном узелке встречаются плазматические клетки. Красная пульпа содержит большое количество лимфоцитов, – 113,5±1,7 клетки, это в два раза выше показателей контрольной группы ягнят. Количество малых лимфоцитов достоверно увеличилось на 81% и составило 80,8±1,3%. Пул средних лимфоцитов снизился на 75% и составил 17,8±1,2%, большие лимфоциты оказались ниже на 90% относительно показателей контрольных животных и составили 1,3±0,2%. В красной пульпе селезенки, в поле зрения микроскопа, увеличивается количество плазматических клеток.

У ягнят 3 группы граница между красной и белой пульпой хорошо

выражена. Средняя площадь белой пульпы уменьшилась, занимает $5,6 \pm 0,4\%$ от паренхимы селезенки, это на 61% ниже контрольных показателей. Лимфоидные узелки разнообразной формы, средней площадью $107340,3 \pm 16917,5$ мкм², что на 11% больше показателей животных контрольной группы. Некоторые узелки бедны лимфоцитами, в других содержится умеренное количество клеток белой крови с четкими гетерохромными ядрами. Достоверных изменений абсолютного количества лимфоцитов не наблюдалось. На фоне двукратного увеличения пула малых лимфоцитов ($59,7 \pm 2,1\%$), количество средних клеток снизилось на 28% и составило $38,3 \pm 2,4\%$, большие лимфоциты показали 83% снижение ($1,8 \pm 0,5\%$). Красная пульпа, в среднем, занимает $94,3 \pm 1,04\%$ от общей площади селезенки, в ней содержится большое количество лимфоцитов. Абсолютное количество лимфоцитов в этой зоне достоверно не изменилось. Пул малых лимфоцитов был достоверно выше на 76% и составлял $65,4 \pm 8,9\%$, средние лимфоциты на 58% показали достоверное снижение ($28,2 \pm 6,7\%$). В красной пульпе встречаются бластные формы лимфоцитов и апоптозные тела.

У ягнят 4 группы граница между красной и белой пульпой выражена слабо. Лимфоидные узелки не имеют четких очертаний, хотя встречаются и хорошо выраженные. Белая пульпа занимает $5,7 \pm 0,6\%$ от площади паренхимы, это на 60% меньше контрольных показателей. Достоверно увеличился размер лимфоидного узелка на 36% ($148211,7 \pm 25895,3$ мкм²). В белой пульпе достоверных изменений абсолютного количества лимфоцитов и их популяционного состава не регистрировалось. Просматриваются апоптозные тельца. В белой пульпе, вокруг артериол появляются плазматические клетки. Красная пульпа увеличилась относительно контроля на 9% и составила от общей площади паренхимы селезенки $94,2 \pm 0,6\%$. В красной пульпе преобладают малые лимфоциты, на их долю приходится $71,6 \pm 5,02\%$ клеток белой крови, что на 78% больше показателей контрольных животных. Такого рода увеличение доли малых клеток произошло за счет достоверного 63% снижения доли средних лимфоцитов $25,3 \pm 5,2$. Большие лимфоциты достоверных изменений не показали. Встречаются мегакариоциты. В красной пульпе селезенки ягнят 4 группы, в поле зрения микроскопа, увеличивается количество нейтрофилов и плазматических клеток.

У ягнят пятой группы граница между красной и белой пульпой селезенки хорошо выражена. Площадь белой пульпы занимает $6,7 \pm 0,5\%$ (достоверное снижение на 54%). На 19% уменьшился средний размер лимфоидного узелка $76599,9 \pm 7709,79$ мкм². В белой пульпе $62,7 \pm 5,8\%$ составляют малые лимфоциты, достоверный рост по отношению к показателям контроля составил 50%. Популяция средних и больших лимфоцитов уменьшилась на 35% и 77%, что от общего количества клеток составило $34,2 \pm 5,4\%$ и $2,6 \pm 1,04\%$, соответственно. Абсолютное количество

лимфоцитов в этой группе достоверно не изменилось. В лимфоидном узелке, преимущественно, вокруг артериол увеличивается в поле зрения микроскопа количество плазматических клеток и нейтрофилов. На 8% увеличилась площадь красной пульпы, которая составляет $93,2 \pm 0,5\%$ относительно паренхимы селезенки. В красной пульпе встречаются лимфоциты, с плохо конденсированным хроматином. 50% всех лимфоцитов занимают малые формы ($50,2 \pm 7,1\%$), достоверный рост по отношению к контрольным значениям составил 70%. Популяция средних лимфоцитов потеряла по отношению к контролю 38% клеток белой крови и составила $42,3 \pm 5,6\%$. Абсолютное количество лимфоцитов и процентное содержание больших клеток в красной пульпе селезенки ягнят 5 группы достоверно не изменялось. В красной пульпе селезенки, в поле зрения микроскопа, незначительно увеличивается количество нейтрофилов и плазматических клеток.

3. ВЫВОДЫ.

1. Препараты СВР-2 и СМР-2, наряду с полиоксидонием и ронколейкином, на фоне иммунодефицитов оказывают на организм беременных овец выраженное иммуностимулирующее действие. После применения препарата СВР-2 к концу эксперимента увеличилось количество: лейкоцитов на 43%, лимфоцитов на 37%, Т-лимфоцитов на 58% и В-лимфоцитов на 76%. После применения препарата СМР-2 к 15 дню эксперимента увеличилось количество: лейкоцитов на 46%, лимфоцитов на 38%, Т-лимфоцитов на 62% и В-лимфоцитов на 80%.

2. Иммунодепрессивные состояния беременных овец, при условиях отсутствия иммунокорректирующей терапии, приводят к получению ягнят с атрофическими и гипотрофическими изменениями различных функциональных зон тимуса, лимфатических узлов и селезенки, - уменьшение среднего размера долики, снижение толщины коркового слоя и количества тимоцитов в тимусе; снижение средней площади лимфоидного узелка; слабое развитие лимфоидных узелков, отсутствие плазматических клеток в мозговом веществе лимфатических узлов.

3. Применение полиоксидония, ронколейкина и препаратов СВР-2 и СМР-2 беременным овцам при иммунных дисфункциях повышает уровень естественной резистентности животных. После применения полиоксидония к 15 дню эксперимента увеличилось: ЛАСК на 65%, БАСК на 80% и ФА нейтрофилов на 15%. После применения ронколейкина к 15 дню эксперимента увеличилось: ЛАСК на 60%, БАСК на 81% и ФА нейтрофилов на 27%. После применения препарата СВР-2 к 15 дню эксперимента увеличилось: ЛАСК на 34%, БАСК на 54% и ФА нейтрофилов на 26%. После применения препарата СМР-2 к концу эксперимента увеличилось: ЛАСК на 9%, БАСК на 67% и ФА нейтрофилов на 30%.

4. Иммуномодулирующая терапия иммунодефицитных состояний беременных овец способствует получению потомства, обладающего более развитыми органами как центральной, так и периферической иммунной

системы. В тимусе происходит значительное увеличение средней площади дольки (62-75%), толщины коркового вещества (62-80%), количества тимоцитов в корковом веществе (38-49%). В лимфатических узлах в два раза увеличивается количество лимфоцитов в периферической зоне лимфоидных узелков ягнят второй группы. В паракортикальной зоне увеличивается содержание средних (50-70%) и больших лимфоцитов (10-75%). В селезенке происходит увеличение количества лимфоцитов в периферической зоне лимфоидных узелков (11-50%), более четко выражены зоны узелка.

5. У полученного потомства от животных, в период беременности инъектированных полиоксидонием, в периферических органах иммуногенеза увеличиваются области локализации Т-клеточных популяций.

6. У потомства, полученного от животных, в период беременности инъектированных ронколейкином и препаратами СВР-2 и СМР-2, в периферических органах иммуногенеза стимулируются как Т-, так и В-функциональные зоны иммунокомпетентных органов.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.

1. Целесообразно применять иммуномодулирующие препараты животным в период беременности при иммунодефицитах с целью получения молодняка, с хорошо развитыми органами иммуногенеза, по следующим альтернативным схемам:

- СВР-2, подкожно в дозе 1мл на 25 кг живой массы тела животного, трехкратно через каждые три дня (для оказания краткосрочного действия).
- СМР-2 подкожно из расчета 1 мл на 25 кг живой массы тела животного, трехкратно через каждые три дня (для обеспечения пролонгированного эффекта).

2. Методические рекомендации «Фармакокоррекция дисфункций иммунной системы беременных сельскохозяйственных животных», одобренные методическим советом СтГАУ и научно-техническим советом секции животноводства министерства сельского хозяйства Ставропольского края (26.03.2010 г.).

5. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Матлашов, А.Е. Сравнительная характеристика некоторых гематологических и биохимических показателей сыворотки крови овец с различным содержанием в зимний период / А.Е. Матлашов // Естествензнание и гуманизм: сб. науч. трудов «Современный мир, природа и человек». – Томск, 2008. –Т.–5, №1 – С. 73-74.

2. Матлашов, А.Е. Эффективность влияния препарата СВР-1 на показатели иммунитета овец второй половины суягности / А.Е. Матлашов // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных: сб. науч. статей по мат. 72-й науч.-пр. конф. – Ставрополь : «Агрус», 2008. – С. 79-81.

3. Матлашов, А.Е. Влияние препарата СВР-1 на основе биологически активного вещества (стевиозид) на гематологические показатели сыворотки крови овец второй половины суягности / А.Е. Матлашов, Л.В. Матвеева, Т.И. Лапина // сб. науч. трудов «Проблемы и перспективы современной науки». Томск – 2008. – Вып.-1 – С. 105.

4. Матлашов, А.Е. Изучение иммуномодулирующих свойств полиоксидония при гипер- и гипопластических иммунных нарушениях / А.Е. Матлашов, Т.И. Лапина, М.В. Клименко, Д.Г. Пономаренко // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2008. – № 4(20). – С. 99-101.

5. Матлашов, А.Е. Влияние иммуномодуляторов и препаратов на основе биологически активных веществ на лизоцимную и бактерицидную активность сыворотки крови беременных овец / А.Е. Матлашов // Современные проблемы устойчивого развития агропромышленного комплекса России: материалы шестой Всероссийской науч.-практич. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. – пос.Персиановский, 2009. – С. 62-64.

6. Матлашов, А.Е. Показатели естественной резистентности беременных овец при вторичных дисфункциях иммунной системы / А.Е. Матлашов // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных: сб. науч. статей по мат. 73-й науч.-пр. конф. – Ставрополь : «Агрус», 2009. – С. 56-58.

7. Матлашов, А.Е. Динамика концентрации гемоглобина беременных овец при применении иммуностимуляторов и препаратов СВР-2 и СМР-2 / А.Е. Матлашов, С.И. Любая, // Вавиловские чтения – 2009: материалы Международной науч.-практич. конф. Саратов, 2009. – Часть –1. – С. 279.

8. Лапина, Т.И. Динамика белка и его фракций сыворотки крови беременных овец после применения иммуномодуляторов и препаратов СВР-2 и СМР-2 / Т.И. Лапина, А.Е. Матлашов // Научное обеспечение агропромышленного производства: материалы Международной науч.-практич. конф. Курск, 2010. – Часть –2. С. 130-133.

9. Матлашов, А.Е. Морфофункциональные и цитометрические показатели тимуса ягнят при применении иммуномодуляторов / А.Е. Матлашов // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: труды Международной науч.-практич. конф. Владикавказ : «Издательство полиграфического отдела СОИ ГиСИ ВНЦ РАН и правительства РСО-А» 2010. С. 198-201.

10. Лапина Т.И. Некоторые показатели клеточной популяции в лимфоузлах новорожденных ягнят / Т.И. Лапина, Т.Е. Банкина, А.Е. Матлашов // Актуальные проблемы современной науки и образования: материалы Всероссийской науч.-практич. конф. с международным участием. Уфа : «РицБашГУ», 2010. – Т –2. – С. 591-594.

Подп. в печать 24.05.2010. Бумага офсетная. Формат 60/84 1/16

Зак № 018. Усл. изд. Тираж 150 экз.

ООО «Контекст»

г. Ставрополь, ул. Доваторцев 44, оф. 401.