

# Динамика морфофункционального состояния селезёнки кролика как индикатор стресса и иммунокоррекции препаратом Ронколейкин®

Т.Я. Вишневецкая, к.б.н.,

Л.Л. Абрамова, д.б.н., профессор, Оренбургский ГАУ

В настоящее время успешно развивается промышленное и фермерское кролиководство, которое является наиболее скороспелой и экономически выгодной отраслью животноводства [1]. Кролики крайне чувствительны к нарушениям условий содержания, что вызывает в их организме стрессовую реакцию, на которую в первую очередь реагирует иммунная система, мобилизуя защитные силы организма [2–4].

Стресс непосредственно вызывает иммунодефицитное состояние, снижая резистентность организма животных, ведёт к заболеваемости и падёжу, в конечном итоге значительному экономическому ущербу [5, 6].

Для повышения защитных сил организма в настоящее время используются иммуномодуляторы, воздействующие непосредственно на активизацию адаптационных способностей и иммунобиологического статуса организма животных [7].

**Цель** работы – изучить динамику морфофункционального состояния селезёнки кроликов в условиях стресса и его иммунокоррекции препаратом Ронколейкин®.

**Объект и методы исследования.** Объектом исследования служили 27 половозрелых самцов кроликов породы советская шиншилла в возрасте 8 мес., аналогичных по массе, из которых сформировали три группы: контрольную (I) и две опытных (II и III).

Экспериментальное моделирование стрессового состояния животных производили в течение 14 сут. с использованием уплотнённой посадки и теплового климатического фактора на базе КФХ «Раздолье», Оренбургской области. Для иммунокоррекции организма кроликов, находящихся в стрессе, животным вводили препарат Ронколейкин®.

Животных II гр. подвергали стрессу (n=9). Кроликам III гр. перед постановкой на экспери-

мент вводили Ронколейкин® подкожно, из расчёта 5000 МЕ/кг массы тела, двукратно, один раз в сутки, с интервалом 48 час. Последнюю инъекцию Ронколейкина® производили за 48 час. до начала эксперимента (n=9).

Кролики I гр. служили контролем, содержались отдельно от остальных, им не применяли препараты и не подвергали стрессу (n=9). Все животные находились в одинаковых условиях содержания, их кормление осуществляли по нормам ВИЖа.

Препарат Ронколейкин® получают современными биотехнологическими методами из клеток продуцента рекомбинантного штамма пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, в генетический аппарат которых встроен ген человеческого интерлейкина-2 (pИЛ-2), солибилизатор-додецилсульфат натрия (ДСН), стабилизатор – D-маннит и восстановитель – дитиотреитол (ДТТ). Активная субстанция Ронколейкина® – рекомбинантный дрожжевой интерлейкин-2 человека – является полипептидом, состоящим из 133 аминокислот с молекулярной массой около 15,4 кДа. По внешнему виду препарат представляет собой прозрачную опалесцирующую жидкость.

Для гистологического исследования селезёнки животных забирали пробы объёмом 0,5 см<sup>2</sup>. Полученный материал фиксировали в 10-процентном растворе нейтрального формалина, заключали в парафин и приготавливали срезы толщиной 5–6 мкм, которые окрашивали гематоксилином-эозином и по Романовскому-Гимза. Цифровые версии микрофотографий получали на микроскопе MICROS (Австрия, ув. ×1500) и цифровой видеокамере, подвергали морфометрической обработке программой Test-morfo 2,8. В образце ткани измерения каждого показателя осуществляли не менее чем в 15 полях зрения каждого объекта. Лимфоидные узелки селезёнки распределили на группы по величине их диаметра: крупный – от 500 мкм и выше, средний – 200–500 мкм, мелкий – до 200 мкм.

**Результаты и их обсуждение.** Проведённые исследования показали, что стресс оказал влияние на величину лимфоидных узелков селезёнки кроликов, что выразилось в достоверном уменьшении площади крупного лимфоидного узелка на 29,5%, среднего – на 37,8%, мелкого (первичного) – на 61,9% по сравнению с контролем. Применение Ронколейкина® на фоне стресса достоверно увеличивало площадь лимфоидных узелков по сравнению с животными, находившимися в стрессе, на 54,3, 34,5 и 108,5% соответственно, а по отношению к контролю площадь крупного лимфоидного узелка увеличивалась на 8,8%, среднего и мелкого – достоверно уменьшалась на 16,4 и 20,5% ( $P \leq 0,01$ ) соответственно.

У животных, находящихся в условиях стресса, диаметр центральной артерии крупного лимфоидного узелка в отношении контроля увеличился на 3,6%, тогда как толщина её стенки возросла на 58,4% ( $P \leq 0,001$ ). В среднем лимфоидном узелке диаметр центральной артерии увеличился на 22,4%, ширина стенки – на 49,2% ( $P \leq 0,001$ ), в мелком данные показатели снижались на 19,2 и на 31,8% ( $P \leq 0,001$ ) соответственно.

Применение кроликам препарата Ронколейкин® на фоне стресса (III гр.) инициировало уменьшение диаметра центральной артерии больших и средних лимфоидных узелков по отношению к животным (стресс) II гр на 9,8 и 19,4% ( $P \leq 0,001$ ) соответственно, а у мелких – её увеличение на 26,8% ( $P \leq 0,001$ ). Толщина стенки центральной артерии больших и средних лимфоидных узелков уменьшалась на 49,6, и на 16,6% ( $P \leq 0,001$ ) соответственно, тогда как в малых – увеличилась на 18,8% ( $P \leq 0,001$ ). При сравнении данных показателей экспериментальных животных III гр. с контрольной установлено, что в больших лимфоидных узелках диаметр центральной артерии снижался на 6,5% ( $P \leq 0,05$ ), в средних – на 1,3%, в мелких увеличился на 2,5%, толщина её стенки в больших и в малых узелках уменьшалась на 20,2 и 19,0% соответственно, в средних – увеличилась на 24,4% ( $P \leq 0,001$ ).

В мелких лимфоидных узелках селезёнки животных контрольной и экспериментальных групп зоны реактивного центра, мантийной, маргинальной и периартериальной не выявлены.

Периартериальная зона, окружающая центральную артерию крупного и среднего лимфоидных узелков селезёнки, отдающая гемокapилляры, образована мигрирующими Т-лимфоцитами. У животных, находящихся в условиях стресса, по сравнению с кроликами контрольной гр. периартериальная зона достоверно увеличилась в 2,1 и 2,3 раза ( $P \leq 0,001$ ) соответственно. Использование Ронколейкина® кроликам, находящимся в условиях стресса (III гр.), способствовало увеличению площади периартериальной зоны крупного лимфоидного узелка в 1,1 раза, у среднего – достоверному уменьшению

в 1,7 раза ( $P \leq 0,001$ ) по сравнению с животными (стресс) II гр. По отношению к кроликам контрольной гр. использование Ронколейкина® инициировало увеличение площади периартериальной зоны крупного и среднего лимфоидных узелков в 2,3 и 1,3 раза соответственно.

В реактивном центре лимфоидных узелков селезёнки кроликов всех исследованных групп идентифицируются ретикулярные клетки, макрофаги, В-лимфоциты, плазматические и дендритные клетки. При стрессе площадь реактивного центра крупного лимфоидного узелка достоверно уменьшалась на 40,1%, среднего – на 32,3% ( $P \leq 0,001$ ) по сравнению с контролем. Применение Ронколейкина® способствовало достоверному увеличению площади реактивного центра крупного и среднего лимфоидных узелков селезёнки особей III гр. по отношению к животным II гр. на 90,6 и на 78,4% ( $P \leq 0,001$ ), контрольной гр. – на 14,2 и на 20,7% ( $P \leq 0,05$ ) соответственно.

Площадь мантийной зоны лимфоидных узелков селезёнки кроликов всех исследованных групп образована скоплением малых В-лимфоцитов, макрофагов, плазмоцитов и небольшого количества Т-лимфоцитов. У животных при стрессе площадь мантийной зоны крупного лимфоидного узелка селезёнки уменьшалась на 39,9%, среднего – на 33,6% по сравнению с контрольной группой. Использование Ронколейкина® вызывало достоверное увеличение площади мантийной зоны у кроликов III гр. в 3,3 (228,1%) и 2,2 раза (121,3%) ( $P \leq 0,001$ ) соответственно по отношению к животным II гр. (стресс) и в 2,0 (97,2%) и 1,5 раза (46,9%) соответственно к контролю.

Площадь маргинальной зоны, включающая Т- и В-лимфоциты, в крупном лимфоидном узелке при стрессе уменьшалась на 22,2%, в среднем – на 40,5% ( $P \leq 0,001$ ) по сравнению с контролем. При применении кроликам Ронколейкина® на фоне стресса площадь маргинальной зоны крупного и среднего лимфоидных узелков селезёнки уменьшалась на 1,3, 4,2% соответственно по сравнению с животными II гр. и на 23,2, 42,9% ( $P \leq 0,001$ ) соответственно с контрольной.

Соединительно-тканная капсула селезёнки, представленная коллагеновыми, эластическими волокнами, гладкими мышечными клетками, отдаёт в глубь органа трабекулы: в продольном, косом и поперечном направлениях строму образует ретикулярная ткань. У животных II гр., подвергшихся стрессу, толщина соединительно-тканной капсулы достоверно уменьшалась на 45,7% по сравнению с контрольной группой. Применение животным Ронколейкина® на фоне стресса в III гр. инициировало увеличение толщины соединительно-тканной капсулы на 69,1% ( $P \leq 0,01$ ) по отношению ко II гр. (стресс) и уменьшение на 8,3% – к контрольной.

**Вывод.** Таким образом, иммунокоррекция препаратом Ронколейкин® при продолжительном

комбинированном стрессе у кроликов выявила характерную динамику структурно-функциональных свойств селезёнки. Применение кроликам препарата Ронколейкин® в рекомендованных наставлением дозах способствовало активному формированию мелких лимфоидных узелков, увеличению площади всех лимфоидных узелков, уменьшению диаметра центральных артерий и площади периартериальной зоны крупных и средних лимфоидных узелков, но увеличению площадей реактивного центра и мантийной зоны в них, а также утолщению соединительно-тканной капсулы, что в целом профилактировало развитие стресса.

### **Литература**

1. Зусман Н.С., Лепяшкин В.И. Разведение кроликов. М.: Колос, 1966. 222 с.
2. Ковальчикова М., Ковальчик К. Адаптация и стресс при содержании и разведении сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1978. 240 с.
3. Коплик Е.В., Бахмет А.А. Клеточный состав лимфоидных образований селезёнки крыс при воздействии острого эмоционального стресса // Морфология. 2008. № 4. С. 75.
4. Першин С.Б., Кончугова Т.В. Стресс и иммунитет. М.: Крон-пресс, 1996. 160 с.
5. Зимин Ю.И. Иммунитет и стресс // Итоги науки и техники. Серия «Иммунология». Т. 8. М., 1979. С. 173–199.
6. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. М.: АЛЛ «Джангар», 2000. 184 с.
7. Слободяник В.И., Жуков С.П., Слободяник М.В. и др. Иммуномодуляторы ронколейкин и фоспренил при выращивании кроликов // Кролиководство и звероводство. 2009. № 1. С. 27–28.