

## Характеристика иммунологического статуса здоровых и больных актиномикозом коров в условиях Южного Урала

*И.И. Волотко, д.в.н., профессор,  
Т.Н. Шнякина, д.в.н., профессор, Н.И. Бутакова, к.в.н.,  
ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ*

Устойчивость организма к неблагоприятным факторам внешней среды обеспечивают прежде всего неспецифические системы защиты, включающие гуморальные и клеточные факторы. Функциональное состояние защитных сил зависит прежде всего от интенсивности и полноценности обменных процессов (углеводного, белкового, жирового и т.д.), обеспечивающих функционирование всех систем организма, в том числе и иммунобиологической.

Поэтому в целях более глубокого изучения механизма развития актиномикоза были проведены исследования по сравнительной оценке отдельных показателей иммунобиохимического статуса здоровых и больных актиномикозом коров.

**Материалы и методы исследования.** Больных коров (10 гол.) подбирали по принципу пар-аналогов, с подкожно-мышечной формой, так как она встречается наиболее часто (39,9%), и давностью процесса более 30 сут. Контрольными значениями служили показатели здоровых животных. Исследования проводили в совхозе «Пластовский» Челябинской области.

В качестве тестов, характеризующих состояние обменных процессов, были взяты отдельные показатели белкового и углеводного обменов и сопряжённого с ними липидного.

Общее содержание белка оценивали методом рефрактометрии с помощью рефрактометра типа РЛ-2 (Польша), белковых фракций методом электрофореза в 1-процентном агаровом геле на боратно-щелочном буфере при pH-3,6.

Содержание среднемoleкулярных пептидов (СМП) определяли по методу Н.И. Габриелян и соавторов (1983) [1].

Для определения глюкозы крови использовали анализатор «Эксан-1». Содержание пировиноградной кислоты (ПВК) определяли по методу Умбрайт в модификации П.М. Бабаскина [2], молочной кислоты (лактата) – оксидифенилом по цветной реакции с пара по Беркери и Саммерсону, моноовый диальдегид (МДА) – конечный продукт перекисного окисления липидов (ПОЛ) – модифицированным методом Э.И. Коробейниковой [3]. Концентрацию МДА рассчитывали с помощью уровня регрессии,  $C = 0,21 + 26,5 D$ . Церулоплазмин определяли модифицированным С.В. Бестужевой и В.Г. Колоб методом Ревина [4].

Для изучения иммунологического статуса кровь здоровых и больных актиномикозом коров (по  $n = 10$ ) забирали из яремной вены в утренние

часы и доставляли в лабораторию в течение трёх часов после забора. Определение иммунного статуса проводили по тестам 1-го и 2-го уровня.

Нефелометрическим методом, описанным В.Г. Дорофейчуком, определяли активность лизоцима сыворотки крови [5], бактерицидную активность крови в отношении грамотрицательных бактерий – фотонфелометрическим методом С.В. Смирновой и Т.В. Кузьминой [6]. Реакция определения бактерицидной активности крови основана на способности сыворотки подавлять рост микроорганизмов. Для определения реакции пассивной гемагглютинации с антигеном, приготовленным из актиномикомы у здоровых и больных коров, использовали метод С.В. Байдена [7].

**Результаты исследования.** Результаты исследования показали, что общее содержание белка в сыворотке крови больных коров достоверно не отличалось от такового у здоровых коров, в то время как фракционный состав белка в сыворотке крови больных животных претерпел некоторые изменения. Так, у больных животных достоверно повысилось содержание бета- и гамма-глобулинов, что говорит о напряжении защитных сил организма. При этом содержание альбуминов и альфаглобулинов, выполняющих в основном транспортные функции в сыворотке крови коров обеих групп, оставалось практически одинаковым (табл. 1).

При более детальном изучении белкового обмена было выявлено достоверное (более чем 2 раза) увеличение больных животных СМП, которое оказывает токсическое действие, разрушая клеточные мембраны.

Сравнительный анализ показателей углеводного обмена свидетельствовал, что, несмотря на примерно одинаковый уровень глюкозы, при актиномикозе у коров начинает преобладать анаэробный процесс окисления (гликолиз), о чём говорит увеличение молочной кислоты в сыворотке крови больных животных по сравнению со здоровыми на 34,4% ( $P < 0,001$ ). Об этом же свидетельствует и повышенный коэффициент лактат пировинат на 53,94% ( $P < 0,001$ ). Кроме того, несколько пониженное содержание (на 12,5%) пировиноградной кислоты (ПВК) одновременно с высоким содержанием молочной кислоты у больных коров (на 34,4%) приводит к закислению крови. Всё это свидетельствует о развитии ацидоза и гипоксии у больных животных.

Преимущественно анаэробный процесс окисления углеводов, катаболический характер белкового обмена (накопление СМП) должен приводить к стимуляции либо липолиза, либо активации перекисного окисления липидов. Содержание малонового диальдегида (МДА) – конечного про-

дукта перекисного окисления липидов в сыворотке крови больных коров – более чем в 2 раза выше, чем у здоровых.

Следует отметить, что при более высоких цифрах МДА в сыворотке крови больных коров наблюдается снижение у них уровня церулоплазмина в 3 раза по сравнению со здоровыми. Учитывая, что церулоплазмин обладает антиоксидантными свойствами, можно предположить снижение антиоксидантной защиты организма, что отрицательно влияет на состояние защитных сил организма.

Таким образом, исследование показало, что при хроническом течении актиномикоза у коров отмечено наличие эндогенной интоксикации. Об этом свидетельствует увеличение содержания среднемолекулярных пептидов, малонового диальдегида, анаэробного пути гликолиза, что является результатом нарушения метаболизма.

Результаты исследования иммунологических показателей больных и здоровых животных представлены в таблице 2.

Общее количество лейкоцитов периферической крови достоверно не изменено как у больных, так и здоровых животных. Однако количество иммунокомпетентных клеток и фагоцитов претерпело существенные изменения. Число нейтрофилов в группе больных коров достоверно снижалось на 20,9% ( $P < 0,05$ ), а количество лимфоцитов увеличилось на 53,87% ( $P < 0,01$ ), число моноцитов у

больных было более чем в 2,5 раза больше, чем у здоровых. Следует отметить также и снижение числа больших гранулярных лимфоцитов в крови больных, более чем в 2,6 раза, обладающих активностью натуральных киллеров.

Количественная оценка отдельных популяций лимфоцитов периферической крови животных показала статистически достоверное снижение Т-лимфоцитов на 34,8% ( $P < 0,01$ ), тенденцию снижения В-лимфоцитов на 18,8% ( $P < 0,1$ ) на фоне значительного роста 0-популяций лимфоцитов (незрелые формы лимфоцитов) у больных животных по сравнению со здоровыми. Это говорит о напряженности лимфо- и монопоэза у больных коров.

При изучении функциональной активности иммунокомпетентных клеток было установлено снижение фагоцитарной активности нейтрофилов до 29,14% против 40,98% у здоровых, или на 29,0% ( $P < 0,01$ ), снижение секреции лизоцима на 25,4% ( $P < 0,01$ ), активация комплементарной активности в сыворотке крови. Все эти изменения свидетельствуют о развитии иммунодефицита и включении механизмов иммунопатологии при хроническом течении актиномикоза.

Данное предположение подтверждается анализом иммунопатологических реакций у исследуемых групп коров.

Как известно, иммунологические реакции могут быть иммуноглобулинзависимые, антители-

1. Показатели белкового и углеводного обменов у здоровых и больных актиномикозом коров (n = 10;  $X \pm Sx$ )

Показатель	Здоровые коровы	Больные коровы	P
Общий белок, г/л	79,71±1,30	80,32±1,54	<0,05
Альбумины, %	43,72±1,10	38,40±0,68	<0,05
Альфа-глобулины, %	8,12±0,44	75,2±0,32	<0,1
Бета-глобулины, %	8,12±0,57	12,03±0,16	<0,05
Гамма-глобулины, %	20,14±0,32	25,13±0,64	<0,001
СМП, мг/мл	0,32±0,02	0,71±0,04	<0,001
МДА, нмоль/л	2,34±0,07	4,86±0,20	<0,001
Церулоплазмин, мкмоль/л	0,68±0,03	0,21±0,02	<0,001
Глюкоза, ммоль/л	3,49±0,42	3,34±0,21	<0,5
ПВК, ммоль/л	0,16±0,01	0,14±0,02	<0,5
Лактат, ммоль/л	1,22±0,07	1,64±0,06	<0,01
Коэффициент лактат/ПВК	7,6±0,30	11,7±0,42	<0,001

2. Иммунологический статус здоровых и больных актиномикозом коров (n = 10;  $X \pm Sx$ )

Показатель	Здоровые коровы	Больные коровы	P
Общее количество лейкоцитов $10^9$	8,61±0,60	8,19±0,27	<0,5
% нейтрофилов	36,15±1,62	28,62±1,84	<0,05
% лимфоцитов	38,22±1,38	58,81±2,38	<0,01
% больших гранулярных лимфоцитов	8,94±0,77	3,40±0,83	<0,01
% моноцитов	6,70±0,08	16,89±1,84	<0,001
% фагоцитоза	40,98±2,44	29,14±2,20	<0,01
% Т-лимфоцитов	40,12±4,29	26,19±2,60	<0,01
% В-лимфоцитов	17,20±1,64	13,98±1,46	<0,1
% О-лимфоцитов	40,64±3,87	60,13±3,40	<0,05
Количество ЦИК, усл. ед.	90,5±3,40	150,4±9,84	<0,01
Компонент, усл. ед.	7,64±0,53	9,43±0,48	<0,05
Бактерицидная активность сыворотки, %	50,43±2,74	52,84±3,12	<0,5
Активность лизоцима, мкг/мл	22,41±1,64	16,72±0,78	<0,01

3. Постановка РПГА с антигеном, приготовленным из актиномикомы у здоровых и больных коров (n=10)

Группа коров	Количество случаев с различными титрами антител				
	1:6	1:32	1:64	1:128	1:256
Здоровые	9	1	—	—	—
Больные	—	2	5	3	—

лозависимые, иммунокомплексные, связанные с образованием циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и клеточнозависимые цитотоксические реакции.

В связи с этим нами был приготовлен антиген из актиномикомы с целью определения в реакции С.В. Бойдена наличия антител в сыворотке крови и раскрытия роли аутоиммуннопатологии в патогенезе актиномикоза, а точнее, формирования актиномикомы с её мощной соединительнотканной капсулой.

По таблице 3 видно, что у больных актиномикозом коров отмечено значительное увеличение (на 66,2%) концентрации ЦИК, что свидетельствует о развитии иммунокомплексных иммунопатологических реакций: наряду с увеличением ЦИК в сыворотке крови больных животных отмечается наличие антител против соединительной ткани.

Из 10 больных коров 100% дали положительную реакцию (титры антител составили 1:32 и выше), в группе здоровых животных — только одно животное имело положительную реакцию (титр антител 1:32).

Наличие высокого уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и антителозависимых иммунопатологических реакций наглядно свидетельствует о развитии аутоиммунных процессов в организме больных животных.

Можно предположить, что аутоиммунные реакции являются одним из механизмов формирования мощной соединительнотканной капсулы вокруг

грибковой микрофлоры, которая попадает в мягкие ткани и вызывает развитие актиномикомы.

При изучении иммунобиохимического статуса больных актиномикозом коров выявлены следующие нарушения: моноцитов и лимфоцитов на фоне снижения популяций Т- и В-лимфоцитов и резкого увеличения 0-популяций лимфоцитов, что может рассматриваться как рост числа молодых, недифференцированных клеток «сдвиг влево» для лимфоцитов.

**Выводы.** Таким образом, нами установлено, что развитию иммунопатологии в большей степени способствуют биохимические нарушения, обнаруженные у больных коров. В частности, усиление анаэробного окисления углеводов, активация процесса ПОЛ (перекисного окисления липидов), тестируемая по увеличению МДА (малонового диальдегида), снижение антиоксидантной защиты, усиление катаболизма белков, что проявлялось в резком увеличении средних молекулярных пептидов (СМП). Всё это подтверждает положение о том, что местный инфекционный процесс оказывает влияние на многие реакции и системы всего организма животных.

### Литература

1. Габрилян Н.И., Левицкий Э.Р., Щербатова О.И. Гипотеза средних молекул в практике клинической нефрологии // Терапевтический архив. 1983. № 6. С. 76–78.
2. Бабаскин П.М. Методы определения пировиноградной кислоты в крови // Лабораторное дело. 1976. № 3. С. 140.
3. Коробейникова Э.И. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. 1989. № 7. С. 4–8.
4. Бестужева С.В., Колб В.Г. Определение церулоплазмينا в сыворотке крови модифицированным методом Ревина // Клиническая биология. Минск, 1976. С. 219–220.
5. Способы определения естественной резистентности организма животных / В.Г. Дорофейчук [и др.] // Естественная резистентность сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр. Целиноград: Целиногр. СХИ, 1971. Т. 8. Вып. 10. С. 8–10.
6. Смирнова С.В., Кузьмина Т.В. Определение бактериальной активности сыворотки крови методом фотонейтриметрии // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1966. № 4. С. 8–11.
7. Байден С.В. Основы геммунологии. М., 1951. С. 140.