

Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В.П. Филиппова. 2021. № 4(65). С. 109–115.

Vestnik of Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov. 2021;4(65):109–115.

Научная статья

УДК 619:615.357

doi: 10.34655/bgsha.2021.65.4.015

## ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА НА ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Татьяна Валериевна Федоренко<sup>1</sup>, Николай Михайлович Мандро<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Дальневосточный государственный аграрный университет, Благовещенск, Россия

<sup>1</sup>fedorenko-tatyana@yandex.ru

<sup>2</sup>mnm0351@mail.ru

**Аннотация.** В настоящее время фармацевтическая промышленность на рынок выпускает большое количество иммуностимуляторов и иммуномодуляторов с различным механизмом их действия на отдельные звенья иммунитета. При этом разработка новых препаратов остается актуальной, так как иммунодефициты различной этиологии снижают эффективность лечения отдельных болезней и специфической профилактики, в связи с чем ветеринарному врачу всё чаще приходится применять иммуностимуляторы с целью повышения иммунного статуса организма животных. В статье представлены результаты исследования влияния белковых препаратов, изготовленных из клеток костного мозга сибирской косули (ПКМК), изюбря (ПКМИз), лося (ПКМЛ) на иммунобиологические показатели крови белых мышей ( $n=72$ ). Препараты представляют собой водный раствор, содержащий в ПКМК  $14,91 \pm 0,31$  г/л, в ПКМИз -  $15,0 \pm 0,38$  г/л, ПКМЛ -  $13,7 \pm 21$  г/л общего белка. Препараты вводили подкожно в дозе 0,25 мл на одну голову, однократно. Проведенные исследования показали увеличение иммунокомпетентных клеток в крови. Так, количество лейкоцитов увеличилось, в среднем, на 30-33% за счет увеличения содержания лимфоцитов, моноцитов. На фоне применения белковых препаратов увеличились показатели фагоцитарной активности нейтрофилов, тем самым повышая иммунологический статус лабораторных животных. Все применяемые нами белковые препараты практически в равной степени оказывают положительное влияние на показатели клеточного иммунитета лабораторных животных.

**Ключевые слова:** препараты из клеток костного мозга, лабораторные животные, лимфоциты, моноциты, фагоцитарная активность нейтрофилов.

Original article

## INFLUENCE OF PROTEIN MEDICATION FROM MARROW CELLS ON LABORATORY ANIMALS IMMUNITY CELL-MEDIATED INDICES

Tatiana V. Fedorenko<sup>1</sup>, Nikolai M. Mandro<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Far Eastern State Agrarian University, Blagoveshchensk, Amur Region, Russia

<sup>1</sup>fedorenko-tatyana@yandex.ru

<sup>2</sup>mnm0351@mail.ru

**Abstract.** Nowadays a lot of immunostimulants and immunomodulators with different effect on individual components of immune system are brought to the market by pharmaceutical industry. The development of new medication continues to be relevant as immunodeficiency of different etiology decreases effectiveness of individual diseases treatment and specific prophylaxis; with reference of this a veterinarian has to use immunostimulants in order to increase immune status of animals' organism. In this article the research results of influence of protein medication made of Siberian roe deer (PKMK), red deer (PKMIz), elk (PKML) marrow cells on immunobiological blood indices of white mice ( $n = 72$ ) are presented. The preparations are an aqueous solution containing  $14.91 \pm 0.31$  g/l in PKMK,  $15.0 \pm 0.38$  g/l in PKMIz, and  $13.7 \pm 21$  g/l of total protein in PKML. The drugs were injected subcutaneously at a dose of 0.25 ml per head, once. The conducted researches showed the increase of immuno-competent cells in blood as leucocytes quantity rose on average by 30-33% at the expense of content of lymphocytes and monocytes. Due to protein medication usage the indices of neutrophil phagocytal activity have become higher, as a result the laboratory animals' immunological status increased. All used protein medications almost equally give a positive effect on laboratory animals' cell immunity.

**Keywords:** medication from marrow cells, laboratory animals, lymphocytes, monocytes, phagocytal activity of neutrophil.

**Введение.** В настоящее время разрабатывается большое количество иммунокорректирующих и иммуностимулирующих препаратов различной природы [1, 2], при этом многие из них имеют существенные недостатки, но, несмотря на это, интерес ветеринарных специалистов к этим препаратам возрастает, что обусловлено неэффективностью многих традиционных лекарственных средств в связи с увеличением устойчивости патогенов к препаратам, а также увеличением числа вторичных иммунодефицитных состояний на фоне переболевания инфекционными болезнями различной этиологии [2, 3, 4]. Все препараты, отнесенные к иммунокорректорам или иммуностимуляторам, различаются по источнику сырья, методике изготовления, структуре и механизму действия [5, 6]. В связи с ростом количества этих препаратов на рынке, дороговизной иммунодиагностических исследований или невозможностью их проведения практикующему ветеринарному специалисту зачастую не удается подобрать эффективный иммунокорректирующий препарат [1, 7]. Тем не менее список таких препаратов с каждым годом увеличивается, и интерес врачей не угасает, особенно к препаратам эндогенного происхождения [8, 9]. Одними из таких могут выступать препараты из клеток костного мозга диких животных, которые повышают общую резистентность и иммунологическую реактив-

ность организма животных [10]. Вышеизложенное определило **цель исследования** – изучить влияние белковых препаратов из клеток костного мозга на показатели клеточного иммунитета лабораторных животных.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проведены на базе факультета ветеринарной медицины и зоотехнии Дальневосточного ГАУ. Нами был разработан способ выделения белков из клеток костного мозга [11] и получены белковые препараты из клеток костного мозга от различных видов диких жвачных животных (сибирская косуля (ПКМК), изюбрь (ПКМИз), лось (ПКМЛ)), которые представляют собой водный раствор, содержащий в ПКМК  $14,91 \pm 0,31$  г/л, в ПКМИз –  $15,0 \pm 0,38$  г/л, ПКМЛ –  $13,7 \pm 21$  г/л общего белка. Препараты вводили подкожно в дозе 0,25 мл на одну голову, однократно. Влияние препаратов изучали на лабораторных животных (белые мыши) подобранных по возрасту, полу, массе ( $n=72$ ). На 7-й, 14- и 21-й день в крови животных определяли количество эритроцитов, лейкоцитов и лейкоцитарную формулу по общепринятой методике. Изучали фагоцитарную активность нейтрофилов по методу И.В. Нестеровой (1988). Результаты исследований обрабатывали статистически в Microsoft Office Excel.

**Результаты исследований.** Опыты

на мышах показали, что костно-мозговые препараты эндогенного происхождения, полученные из клеток костного мозга диких жвачных животных, не оказывают заметного воздействия на организм лабораторных животных, у мышей сохранен аппетит, подвижность.

В результате проведенных исследований установили, что белковые препараты из клеток костного мозга диких жвачных животных в оптимальной дозе повышают значения эритроцитов и лейкоцитов, при этом не превышая верхней границы нормативных значений (табл. 1).

**Таблица 1** – Показатели крови лабораторных животных

Показатели Схема опыта		Эритроциты		Лейкоциты	
		10 <sup>12</sup> /л	отклонение, %	10 <sup>9</sup> /л	отклонение, %
Контроль	7-й день	8,7±0,16	100	7,0±0,13	100
	14-й день	8,6±0,19	100	7,2±0,14	100
	21-й день	8,6±0,19	100	7,2±0,36	100
Опыт 1 (ПКМК)	7-й день	8,9±0,16	+2,3	9,3±0,38***	+32,9
	14-й день	8,9±0,16	+3,5	9,8±0,16***	+36,1
	21-й день	8,8±0,11	+2,3	9,8±0,18***	+36,1
Опыт 2 (ПКМИз)	7-й день	9,32±0,24	+7,1	9,57±0,16***	+36,7
	14-й день	9,36±0,32	+8,8	9,97±0,28***	+38,5
	21-й день	9,07±0,32	+5,5	9,62±0,19***	+33,6
Опыт 3 (ПКМЛ)	7-й день	9,6±0,32*	+10,4	9,28±0,55**	+32,6
	14-й день	9,1±0,56	+5,8	9,05±0,48**	+25,7
	21-й день	9,15±0,63	+6,4	8,88±0,57**	+23,3

Примечание: \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001

Препарат из клеток костного мозга козули (ПКМК) не оказывает влияния на содержание эритроцитов, тогда как препараты из клеток костного мозга изюбря (ПКМИз) и лося (ПКМЛ) вызывают увеличение количества эритроцитов в среднем на 5-10% по сравнению с показателями контрольной группы животных, данные показатели статистически недостоверны.

Все препараты оказывают существенное влияние на содержание лейкоцитов в крови лабораторных животных, повышая их значение, в среднем, на 30-33%. ПКМК увеличивает количество лейкоцитов на 7-й день наблюдения на 32,9%, к 14-му дню на 36,1%, и данная тенденция сохранена к 21 дню (P<0,001). В большей степени увеличение количества лейкоцитов вызывает ПКМИз. Так, на 7-й день их содержание увеличилось на 36,7%, а к 14-му дню на 38,5%, но к 21-му дню их число уменьшилось и составило 9,62±0,19\*10<sup>9</sup>/л (P<0,001). Несколько меньшее влияние оказывает ПКМЛ. Так, на 7-й день число лейкоцитов увеличилось на 32,6%, но к

14-му и 21-му дню их количество стабильно снижается (P<0,01), что связано с меньшим содержанием общего белка в препарате и однократным его введением.

По данным таблицы 2 можно сделать заключение, что количество лейкоцитов увеличилось за счет увеличения числа иммунокомпетентных клеток (моноцитов, лимфоцитов), при этом показатели находятся в пределах физиологической нормы.

На 7-й день опыта ПКМК увеличил содержание лимфоцитов на 8,8% (P<0,001), при этом было их максимальное количество (60,5±0,61), на 14-й и 21-й день наблюдения их число снизилось несущественно. ПКМЛ увеличил содержание лимфоцитов на 7-й день на 5,8%, а к 14-му и 21-му дню их число снижается и данные статистически недостоверны. ПКМИз вызывает большее увеличение количества лимфоцитов по сравнению с ПКМК и ПКМЛ. Так, на 7-й день вызвал повышение на 12,9% (P<0,001), на 14-й день – 11,1% и на 21-й день – 7%, по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2 – Лейкоцитарная формула

Показатели Схема опыта		Лейкограмма, %				
		палочко- ядерные нейтрофилы	сегменто- ядерные нейтро- филы	эозино- филы	моноциты	лимфоциты
Контроль	7-й день	4,6±0,42	31,3±1,44	3,8±0,45	4,7±0,45	55,6±0,65
	14-й день	4,5±1,0	31,4±1,29	3,4±0,65	4,3±0,45	56,8±2,93
	21-й день	4,4±0,65	31,1±1,08	3,5±0,61	4,3±0,67	56,7±1,15
Опыт 1 (ПКМК)	7-й день	4,8±0,57	26,1±1,19*	3,6±0,42	5,0±0,79	60,5±0,61***
	14-й день	4,5±0,79	26,5±1,9	3,7±0,57	4,9±0,42	60,4±0,96*
	21-й день	4,7±0,76	26,7±1,3*	3,4±0,65	4,9±0,42	60,3±1,56
Опыт 2 (ПКМИз)	7-й день	3,89±0,33	27,44±1,89	0,78±0,30***	5,11±0,21	62,78±1,75***
	14-й день	2,11±0,37	28,89±1,04	0,67±0,40***	5,22±0,43	63,11±1,02
	21-й день	3,1±0,28	31,0±1,75	0,45±0,23***	4,78±0,36	60,67±1,48
Опыт 3 (ПКМЛ)	7-й день	4,0±0,47	30,33±2,52	1,5±0,78**	5,33±0,39	58,83±1,85
	14-й день	3,67±0,9	31,0±2,49	1,5±0,78	5,17±0,56	58,67±1,54
	21-й день	3,67±0,61	29,83±1,1	2,0±0,67	5,83±0,56	58,67±1,22

Примечание: \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001

Содержание моноцитов изменялось в зависимости от применяемого препарата. Так, ПКМК увеличил их содержание максимально к 14-му дню на 14%, и тенденция сохранена до 21-го дня опыта. При применении ПКМИз количество моноцитов увеличилось к 7-му дню на 8,7%, к 14-му дню на 21,4%, но к 21-му дню их количество незначительно снизилось и составило 4,78±0,36%. ПКМЛ по сравнению с другими костно-мозговыми препаратами в большей степени увеличил содержание моноцитов. Так, к 7-му дню их количество возросло на 13,4%, к 14-му дню на 20,2%, и к 21-му дню составило 5,83±0,56, что на 35,6% превышает показатель контрольной группы лабораторных животных.

При применении ПКМИз и ПКМЛ отмечается снижение количества эозинофилов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, но при этом показатели находятся в пределах физиологической нормы, и лабораторные животные были клинически здоровыми, поэтому их снижение

мы связываем с увеличением числа других клеток в лейкоцитарной формуле, и повышение фагоцитарной активности это доказывает.

При определении фагоцитарной активности нейтрофилов (табл. 3) установили, что фагоцитарное число (ФЧ), которое характеризует поглотительную способность нейтрофилов, после применения препаратов из клеток костного мозга достоверно повышается, в среднем, на 31,5% по сравнению с показателями контрольной группы, при этом наибольшее увеличение ФЧ наблюдается при применении ПКМК.

Фагоцитарный индекс в контрольной группе за весь период исследований составлял ниже нормативных значений (6-10 микробов на 100 посчитанных нейтрофилов). При применении ПКМК среднее число фагоцитированных микробов на 100 посчитанных нейтрофилов составило на 7-й день 6,29±0,31, что на 63,38% выше по сравнению с показателями кон-

Таблица 3 – Фагоцитарная активность нейтрофилов

Показатели		Фагоцитарный показатель (ФП), %	Фагоцитарное число (ФЧ), у.е.	Фагоцитарный индекс (ФИ)	Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ)
Схема опыта					
Контроль	7-й день	49,83±1,1	7,73±0,65	3,85±0,31	0,97±0,09
	14-й день	50,0±1,25	7,99±0,23	3,99±0,10	0,99±0,05
	21-й день	50,0±1,63	7,94±0,16	3,97±0,15	0,97±0,04
Опыт 1 (ПКМК)	7-й день	54,83±2,88	11,52±0,85**	6,29±0,31***	1,17±0,12
	14-й день	60,5±1,39***	10,21±0,30***	6,17±0,13***	1,02±0,04
	21-й день	60,5±1,13***	10,08±0,31***	6,09±0,11***	1,03±0,04
Опыт 2 (ПКМИз)	7-й день	58,5±1,39***	10,22±0,23**	5,97±0,09***	1,01±0,03
	14-й день	60,83±1,45***	10,19±0,32***	6,14±0,09***	1,02±0,06
	21-й день	57,33±2,48*	10,12±0,26***	6,04±0,05***	1,03±0,08
Опыт 3 (ПКМЛ)	7-й день	59,17±0,87***	10,40±0,36**	6,15±0,19***	1,01±0,08
	14-й день	58,83±1,19***	10,26±0,29***	6,03±0,11***	1,04±0,05
	21-й день	57,83±2,64*	10,35±0,49***	5,97±0,14***	1,03±0,06

Примечание: \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001

трольной группы лабораторных животных, на 14-й и 21-й день увеличение составило на 56,64 и 53,4% соответственно. При применении ПКМИз и ПКМЛ также отмечено достоверное увеличение ФИ, в среднем, более чем на 50% (P<0,001).

При применении препаратов из клеток костного мозга диких жвачных животных у лабораторных животных было обнаружено увеличение количества активных фагоцитов. Так, фагоцитарный показатель (ФП) при применении ПКМК увеличился на 7-й день на 10,03%, на 14-й день – 21%, и данное увеличение сохранено до 21 дня (P<0,001). Применение ПКМИз увеличило ФП на 7-й день на 21,53% (P<0,001), а применение ПКМЛ – на 18,54% (P<0,001). К 21-му дню наблюдения при применении ПКМК и ПКМИз фагоцитарный показатель не снижался в отличие от ПКМЛ, при применении которого наблюдается незначительное снижение ФП на 2,3%, по сравнению с 7-м днем на-

блюдения, но ФП остается высоким, по сравнению с контрольной группой (P<0,05).

Индекс завершенности фагоцитоза после применения костно-мозговых препаратов увеличился и за весь период наблюдения составлял больше единицы, тем самым улучшив переваривающую способность фагоцитов, тогда как в контрольной группе этот показатель был ниже нормативного значения ( $\geq 1$ ), что объясняется изменением типа иммунологической реакции, переводя реактивность белых мышей на более высокий уровень.

**Заключение.** Таким образом, применение препаратов из клеток костного мозга диких жвачных животных показало стабильное увеличение иммунокомпетентных клеток в крови белых мышей и увеличение показателей фагоцитарной активности нейтрофилов, тем самым повышая неспецифическую резистентность организма лабораторных животных. Следова-

тельно, препараты можно рекомендовать в качестве иммунокорректирующих препаратов.

#### Список источников

1. Иммунология / Р.Г. Госманов, Н.М. Колычев, Р.Х. Равилов [и др.]. Санкт-Петербург : Лань, 2021. 188 с.
2. Khan M.M. Immunopharmacology. Springer, 2008. 266 p.
3. Юшков В.В., Юшкова Т.А., Ларионов А.С. Фармакология иммунокорректоров. Екатеринбург, 2005. 163 с.
4. Асрутдинова, Р.А. Сравнительная эффективность иммулотропных препаратов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2010. № 202. С. 12-16.
5. Nikamp F.P., Parnham M.J. Principles of Immunopharmacology. Springer, 2011. 760 p.
6. Рекомендации по применению белкового препарата из клеток костного мозга / Сост. Н.М. Мандро, Т.В. Федоренко. Благовещенск : Изд-во Дальневосточного ГАУ, 2016. 21с.
7. Janeway Jr.C.A., Medzhitov R. Innate immune recognition // *Annu Rev Immunol.* 2002. Vol. 20. Pp. 197-216.
8. Федоров Ю.Н., Верховский О.А. Иммуномодуляторы в ветеринарии: характеристика и принципы применения // Новые фармакол. средства для животноводства и ветеринарии : Мат-лы конф. Краснодар, 2001. Т. 1. С. 166-168.
9. Доценко Э.А., Рождественский Д.А., Юпатов Г.И. Иммунодефициты и некоторые иммуномодулирующие средства // Вестник ВГМУ. 2014. №3.
10. Стратегия и принципы иммунокоррекции и иммуномодулирующей терапии / Ю.Н. Фёдоров, В.И. Ключкина, М.Н. Романенко, О.А. Богомолова, А.Н. Денисенко // Вестник НовГУ. 2015. № 3-1. С. 86.
11. Патент № 2553334 Российская Федерация, МПК А23J1/10, А61К35/28. Способ выделения белков из клеток костного мозга: № 2013134870 : заявл. 23.07.2013 : опубл. 06.10.2015 / Мандро Н.М., Федоренко Т.В.;

заявитель ФГБОУ ВПО Дальневосточный ГАУ. 4 с.

#### References

1. Gosmanov R.G., Kolichev N.M., Ravilov R.H. [and others]. Immunology. Saint-Petersburg. Lan Publ, 2021. 188 p. (In Russ.).
2. Khan M.M. Immunopharmacology. Springer, 2008. 266 p.
3. Yushkov V.V., Yushkova T.A., Larionov A.S. *Farmakologiya immunokorrektorov.* [Pharmacology of immunocorrectors]. Yekaterinburg, 2005. 163 p. (In Russ.).
4. Asrutdinova R.A. Sravnitel'naya effektivnost immunotropnykh preparatov // [Comparative effectiveness of immunotropic medication]. *Uchenyye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Baumana.* 2010;202:12-16 (In Russ.).
5. Nikamp F.P., Parnham M.J. Principles of Immunopharmacology. Springer, 2011. 760 p.
6. Mandro N.M. Fedorenko T.V. Recommendations of usage of protein medication from marrow cells. Blagoveshchensk. Far Eastern State Agrarian University, 2016. 21p. (In Russ.).
7. Janeway Jr. C. A., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:197-216.
8. Fedorov U.N., Verkhovskiy O.A. Immunomodulators in veterinary: characteristics and appliance. *New pharmacology means for livestock and veterinary.* Krasnodar, 2001. Vol 1. Pp. 166-168 (In Russ.).
9. Dotsenko E. A., Rozhdestvenskiy D.A., Yupatov G.I. Immunodeficiency and some immunomodulators. *Bulletin VSMU.* 2014;3 (In Russ.).
10. Fedorov U.N., Klukina V.I., Romanenko M.N., Bogomolova O.A. , Denisenko A.N. Strategy and principles of immunocorrection and immunomodulating therapy. *Bulletin NovSU.* 2015;3-1:86 (In Russ.).
11. Patent № 2553334 Russian Federation IPC A23J1/10, A61K35/28. Method of protein outflow from marrow cells. Mandro N.M., Fedorenko T.V. 4 p. (In Russ.).

### Информация об авторах

**Татьяна Валериевна Федоренко** – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и микробиологии;

**Николай Михайлович Мандро** – доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и микробиологии.

### Information about the authors

**Tatiana V. Fedorenko** – Candidate of Science (Veterinary), Associate Professor, Veterinary-sanitary expertise, Epizootology and Microbiology Chair;

**Nikolai M. Mandro** – Doctor of Science (Veterinary), Professor, Veterinary-sanitary expertise, Epizootology and Microbiology Chair.

Статья поступила в редакцию 11.10.2021; одобрена после рецензирования 24.11.2021; принята к публикации 26.11.2021.

The article was submitted 11.10.2021; approved after reviewing 24.11.2021; accepted for publication 26.11.2021.