

ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ им. НИЗАМИ

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НЕЛИМФОИДНЫХ  
ОРГАНОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В КАЧЕСТВЕ  
ИММУНОАКТИВНЫХ СРЕДСТВ**

Ташкент – 2007

«УТВЕРЖДАЮ»

Председатель

\_\_\_\_\_

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2007г.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НЕЛИМФОИДНЫХ  
ОРГАНОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В КАЧЕСТВЕ  
ИММУНОАКТИВНЫХ СРЕДСТВ**

Ташкент – 2007

**Учреждение разработчиков:****Ташкентский государственный педагогический университет им. Низами**

## Составители:

Шахмурова Г.А.- к.б.н., зав. кафедрой зоологии, анатомии, биологии Ташкентского государственного педагогического университета им. Низами

Эгамбердиева Л.Н.- ассистент кафедры зоологии, анатомии, биологии Ташкентского государственного педагогического университета им. Низами

## Рецензенты:

Заведующий лаборатории Института физиологии и биофизики АН РУз доктор биологических наук, профессор - Б.А.Содиков

Кандидат медицинских наук кафедры зоология, анатомия и физиология ТГПУ им.Низами - Б.Ибрагимходжаев

Методические рекомендации содержат собственные материалы по изучению влияния на тракта почки верблюда у разных видов животных в норме и при вторичных иммунодефицитных состояниях различной этиологии.

Методические рекомендации предназначены для научных сотрудников, магистрантов, студентов биологических и медицинских факультетов.

В настоящее время препараты, предназначенные для восстановления работы иммунитета, получают из представителей разных видов и классов животных и микроорганизмов. Иммунобиологически активные вещества получают из органов крупного и мелкого рогатого скота, птиц, пресмыкающихся (Андо Ю.Т. с соавт., 1996), морских животных (Гажа А.К., 1994), микробов и т.д.

Источником для получения иммуноактивных веществ являются практически все системы организма. Многие иммуностропные вещества получены из органов иммунной системы в частности тимуса (Арион В. Я., 1989; Arion V. Y. et al., 1997; Dardenne M., 1999) и селезенки (Колбаев И.Б. с соавт., 1997; Бородин Ю. И. с соавт., 1999).

Вещества с иммуносупрессивной активностью получены из органов, относящихся к желудочно-кишечного тракта в частности печени (Настоящая Н. Н. с соавт., 1989).

Иммуноактивные вещества выделены из органов мочевыделительной системы в частности почек разных видов животных. Вещества с иммуномодулирующими свойствами получены из почек свиней (Кайдашев И. П., 1998; Веснина Л. Э. с соавт., 1999), почек кур (Примкулов А. Ж. с соавт., 2000).

Источником биологически активных веществ являются органы эндокринной системы. Так, высокоэффективные иммуномодуляторы выделены из гипофиза (Pierpaoly W. et al., 1994; Reiter R. Y., 1995; Anisimov V. N. et al., 1998).

Ряд иммуноактивных веществ получены из клеток костного мозга свиней (Стрелков Л. А. с соавт., 1998; Нестерова И. В. с соавт., 2005). Вещество, выделенное из костного мозга, помимо модуляции иммунологических реакций, может оказывать обезболивающее действие (Петров Р. В. с соавт., 1993).

В настоящее время не теряет актуальность разработка новых веществ с целенаправленным воздействием на поврежденные звенья иммунной системы при различных патологических состояниях не только для нужд медицины, но и для применения в животноводстве и птицеводстве. Актуальной задачей является также получение иммуномодуляторов из местной сырьевой базы, которая достаточна для длительного обеспечения медицины и ветеринарии в качественных препаратах, предназначенных для лечения нарушений в иммунологической реактивности при патологиях различной этиологии.

Среди известных иммуномодулирующих веществ большой научный и практический интерес представляют биологически активные вещества, полученные из почки верблюда. В этом направлении проведены лишь единичные работы. Ранее были изучены иммуностимулирующие свойства экстракта почки верблюда (ЭПВ) только у одного вида экспериментальных животных – мышей. В настоящих методических рекомендациях приведены сведения о том, какое действие оказывает ЭПВ на иммуногенез у разных видов животных в норме и при патологиях и какое действие он оказывает функции одной

из важнейших популяций иммунной и кроветворения - кроветворные стволовые клетки.

### **1. Эффект вещества на иммунный ответ к эритроцитам барана у разных видов животных**

Мы провели сравнительные исследования по оценке иммуотропного эффекта ЭПВ на разных видах животных. Активность ЭПВ сопоставляли с широко применяемым в практической медицине препаратом, полученным из тимусов крупного рогатого скота Тактивинном.

Объектом исследования служили два вида млекопитающих (крысы, хомяки) и один представитель класса птиц – цыплята.

Результаты по изучению иммуномодулирующего эффекта биопрепаратов у крыс, хомяков и цыплят приведены на таблице 1. Как видно у крыс контрольной группы, иммунизированных ЭБ, но не получавших иммуномодулятор, общее число АОК в селезенках составляет в среднем  $993,8 \pm 75,9$ . Однократное введение ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг стимулирует иммунный ответ к ЭБ, о чем свидетельствует повышение числа АОК до  $1500,0 \pm 111,8$ . Данный показатель достоверно в 1,5 раза выше контрольных показателей. В группе крыс, получивших ЭПВ в дозе 0,25 мг/кг, число АОК повышается в 1,8 раза и составляет  $1787,3 \pm 134,2$ .

Более выраженная иммуностимуляция выявлена при введении крысам ЭВП в дозе 1,0 мг/кг: число АОК в селезенках крыс равно  $2981,3 \pm 225,0$ , что в 3 раза превышает контрольный уровень.

Полученные результаты свидетельствуют о способности ЭПВ повышать первичный иммунный ответ к ЭБ у крыс. При этом обнаружена прямая зависимость иммуностимуляции от дозы вещества: с повышением дозы стимулирующий эффект ЭПВ усиливается.

У крыс, получивших Тактивин, в селезенках образуется  $2150,0 \pm 164,8$ , что в 2,2 раза выше контроля. Иными словами, иммуностимулирующая активность Тактивина соответствует таковой ЭПВ в дозе 0,25 мг/кг. Таким образом, у крыс иммуотропная активность ЭПВ проявляется в большей степени, чем у Тактивина.

Одновременно с подсчетом общего количества АОК мы подсчитывали число ядросодержащих клеток селезенки (ЯСКС). Введение крысам ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг достоверно не изменяло общее число клеток в селезенках крыс. Однако при введении ЭПВ в дозах 0,25 и 1,0 мг/кг количество ЯСКС достоверно в 1,2 и 1,3 раза соответственно увеличилось. Такие же результаты получены при введении крысам Тактивина: число ЯСКС достоверно повышалось в 1,2 раза. Отсюда следует заключить, что изученные вещества обладают способностью стимулировать в селезенках не только популяцию АОК, синтезирующих антитела против ЭБ, но и другие типы клеток, возможно макрофаги, Т- и В- лимфоциты, моноциты, лейкоциты и т.д.

Таблица 1.

Влияние экстракта почки верблюда (ЭПВ) на иммунный ответ к эритроцитам барана у крыс, хомяков и цыплят

Группа	Доза вещества мг/кг	Кол-во ядросодержащих клеток в селезенках крыс $\times 10^6$		Число антителообразующих клеток в селезенках крыс	
		М $\pm$ m	ИС	М $\pm$ m	ИС
<b>КРЫСЫ</b>					
1. контроль (8)		750,0 $\pm$ 27,0	-	993,8 $\pm$ 75,9	-
2. ЭПВ (8)	0,05	819,7 $\pm$ 31,1	+1,1	1500,0 $\pm$ 111,8*	+1,5
3. ЭПВ (8)	0,25	894,6 $\pm$ 33,3*	+1,2	1787,5 $\pm$ 134,2*	+1,8
4. ЭПВ (8)	1,0	969,6 $\pm$ 36,4*	+1,3	2981,3 $\pm$ 225,0*	+3,0
5. Тактивин (8)	0,5	932,6 $\pm$ 35,4	+1,2	2150,0 $\pm$ 164,8*	+2,2
<b>ХОМЯКИ</b>					
1. контроль (8)		197,0 $\pm$ 6,7	-	612,5 $\pm$ 36,2	-
2. ЭПВ (8)	0,05	202,8 $\pm$ 7,2	1,0	1350,0 $\pm$ 76,8*	+2,2
3. ЭПВ (8)	0,25	190,5 $\pm$ 6,8	1,0	1550,0 $\pm$ 77,9*	+2,5
4. ЭПВ (8)	1,0	220,6 $\pm$ 8,2*	+1,12	1750,0 $\pm$ 92,6*	+2,9
5. Тактивин (8)	0,5	205,3 $\pm$ 8,2	+1,04	1487,5 $\pm$ 82,0*	+2,4
<b>ЦЫПЛЯТА</b>					
1. контроль (8)		49,1 $\pm$ 2,1	-	197,0 $\pm$ 21,9	-
2. ЭПВ (8)	0,05	58,8 $\pm$ 2,5*	+1,2	309,4 $\pm$ 35,7*	+1,6
3. ЭПВ (8)	0,25	61,5 $\pm$ 2,6*	+1,3	359,4 $\pm$ 41,7*	+1,8
4. ЭПВ (8)	1,0	64,6 $\pm$ 2,2*	+1,3	534,4 $\pm$ 50,7*	+2,7
5. Тактивин (8)	0,5	59,6 $\pm$ 2,6*	+1,2	397,0 $\pm$ 46,2*	+2,0

Примечание: в скобках – число животных, ИС – индекс соотношения к контролю, \* - достоверные различия к контролю

Таким образом, можно сделать заключение, что по абсолютным показателям активность иммуномодуляторов проявляется в большей степени, чем

по относительным значениям. Это объясняется повышением общего количества клеток в селезенке крыс, получивших иммуноактивные вещества.

Далее были проведены исследования по изучению эффекта ЭПВ в тех же дозах и Тактивина на иммунный ответ к ЭБ у хомяков. У иммунизированных хомяков контрольной группы в селезенках образуется в среднем  $612,5 \pm 36,2$ , а у животных, получивших ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг данный показатель повышается в 2,2 раза и равен  $1350,0 \pm 76,8$  АОК. Как было показано выше, минимальная доза ЭПВ (0,05 мг/кг) у крыс повышала иммунный ответ к ЭБ в 1,5 раза. Следовательно, хомяки оказались более чувствительными к стимулирующему эффекту ЭПВ.

При введении хомякам ЭПВ в дозе 0,25 мг/кг общее число АОК в селезенке повышается в 2,5 раза ( $1550,0 \pm 77,9$ ). У крыс, получивших эту же дозу вещества, иммунный ответ к ЭБ усиливался в 1,8 раза. Другими словами, получена аналогичная картина, как и при введении ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг. Под воздействием ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг общее число АОК в селезенке хомяков повышается в 2,9 раза и составляет  $1750,0 \pm 92,60$ . У хомяков, получивших Тактивин, в селезенке формируется  $1487,5 \pm 75,9$ , что в 2,4 раза выше контроля.

Анализ результатов, полученных у хомяков и крыс, показывает следующее. У обоих видов животных максимальная доза (1,0 мг/кг) ЭПВ повышает иммунный ответ к ЭБ в равной степени (в 2,9 - 3 раза). Вместе с тем, у хомяков ЭПВ в дозах 0,05 и 0,25 мг/кг оказывает более выраженный иммуностимулирующий эффект, чем у крыс. Можно предположить, что на мембране иммунокомпетентных клеток хомяков имеется больше рецепторов, чем у крыс, специфически реагирующих в компонентами, входящими в состав ЭПВ. Не исключено, что у хомяков, в отличие от крыс, минимальные дозы ЭПВ эффективно подавляют супрессорные механизмы, контролирующие высоту иммунного ответа на конкретный антиген (ЭБ).

У хомяков, получивших ЭПВ в дозах 0,05 и 0,25 мг/кг и Тактивин, достоверных изменений со стороны показателя ЯСКС не происходит. Лишь при введении хомякам ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг общее число спленоцитов достоверно повышается в 1,12 раза. В тоже время у крыс ЭПВ в дозах 0,25 и 1,0 мг/кг, а также Тактивин достоверно повышали общее число клеток селезенки. Следовательно, в отличие от крыс, у хомяков ЭПВ избирательно стимулирует в селезенке пролиферацию только АОК и не влияет на другие типы клеток.

Представлял интерес изучить какой эффект могут оказывать ЭПВ и Тактивин на иммуногенез не только у млекопитающих, но и представителей класса птиц, в частности у цыплят. Как видно из таблицы 1 в селезенке иммунизированных цыплят образуется в среднем  $197,0 \pm 21,9$  АОК. У цыплят, получивших ЭПВ в дозе 0,05 и 0,25 мг/кг, общее число АОК повышается соответственно в 1,6 и 1,8 раза и составляет  $309,4 \pm 35,7$  и  $359,4 \pm 41,7$ . Более выраженное повышение иммунного ответа к ЭБ обнаружено при введении ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг: число АОК, по сравнению с контролем, повышалось в 2,7

раза ( $534,4 \pm 50,7$ ). В группе цыплят, получивших Тактивин, общее число АОК в селезенках равнялось  $397,0 \pm 46,2$ , что в 2 раза выше контроля.

Полученная картина иммунологических изменений при введении иммунизированным цыплятам ЭПВ схожа с таковыми, полученными у крыс: наличие зависимости «доза-эффект».

Установлено, что введение ЭПВ в минимальной дозе 0,05 мг/кг и Тактивна достоверно в 1,2 раза повышает общее число ЯСКС у цыплят. В группах цыплят, получивших ЭПВ в дозах 0,25 и 1,0 мг/кг число ЯСКС достоверно повышается в 1,3 раза. Следовательно, у цыплят, также как и у крыс, иммуномодуляторы обладают способностью стимулировать пролиферацию разных типов клеток в селезенках.

Таким образом, можно сделать заключение, что ЭПВ обладает способностью стимулировать иммунный ответ к ЭБ. При этом результаты, полученные у цыплят, схожи с данными, полученными у крыс.

Исследования, проведенные на крысах, хомяках и цыплятах свидетельствует, что вне зависимости от вида животных, ЭПВ способствует повышению иммунологической реактивности организма на антигенные стимулы.

## **2. Влияние экстракта почки верблюда на пролиферацию кроветворных стволовых клеток**

Как известно, кроветворные стволовые клетки являются ключевыми клеточными элементами иммунной и кроветворной систем. Из них в процессе дифференцировки образуются белый и красный росток кроветворения, клетки моноцитарно-макрофагального ряда, различные популяции и субпопуляции лимфоцитов, реализующие иммунные реакции организма. Внутренние и внешние факторы, вызывающие изменения в функционировании стволовых клеток, могут приводить к сдвигам в иммунной и кроветворной системах организма.

Исходя из этого, нами проведены исследования по оценке влияния ЭПВ на одну из функций стволовых клеток, а именно, пролиферативную активность в организме сублетально облученных мышей. По количеству «узелков» на поверхности селезенки, каждая из которых образуется из одной стволовой клетки, можно судить об активности вещества в отношении кроветворных стволовых клеток. Результаты этих исследований приведены в таблице 2.

На 9-е сутки после сублетального (6,5 Гр) облучения, у мышей контрольной группы на поверхности селезенки образуется в среднем  $5,7 \pm 0,4$  эндогенных колоний. При введении ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг происходит стимуляция пролиферации кроветворных стволовых клеток: число колоний, по сравнению с контролем, повышается в 1,7 раза и составляет  $9,8 \pm 0,7$  ( $P < 0,05$ ). Повышение дозы вводимого вещества усиливает пролиферативные свойства стволовых клеток. Так, при дозе ЭПВ 0,25 мг/кг число эндогенных колоний

равно  $12,1 \pm 0,9$ , что в 2,1 раза выше контроля. Еще большая стимуляция процесса колониеобразования обнаружена при введении ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг. В данной группе мышей в среднем образуется  $16,7 \pm 1,1$  колоний, что в 2,9 раза превышает контрольные показатели.

Таблица 2.

Влияние ЭПВ на пролиферацию кроветворных стволовых клеток у сублётально облученных мышей

Группа	Вещество в мг/кг	Количество колоний на селезенку	ИС
1. 6,5 Гр (10)	-	$5,7 \pm 0,4$	
2. 6,5 Гр (10)	0,05	$9,8 \pm 0,7^*$	+1,7
3. 6,5 Гр (10)	0,25	$12,1 \pm 0,9^*$	+2,1
4. 6,5 Гр (10)	1,0	$16,7 \pm 1,1^*$	+2,9

Примечание: ИС – индекс стимуляции, в скобках – число мышей, \* - достоверно по отношению к 1 гр.

На основании проведенных исследований можно прийти к заключению о наличии у ЭПВ способности положительно влиять на пролиферативные свойства эндогенных кроветворных стволовых клеток. ЭПВ вызывает почти 3-х кратное повышение числа колоний на поверхности сублётально облученных мышей.

### **3. Коррекция вторичных иммунодефицитов экстрактом почки верблюда**

#### **3.1. Модели иммунодефицитов у мышей**

В первой модели на мышах иммунодефицит вызывали с помощью гидрокортизона. Известно, что гормоны вызывают тотальное угнетение иммунных реакций организма. Результаты оценки эффекта ЭПВ на иммунный ответ к ЭБ у мышей, обработанных гидрокортизоном, приведены в таблице 3. В селезенках мышей контрольной группы образуется  $3125,0 \pm 179,3$  АОК. Однократное введение мышам гидрокортизона вызывает глубокое угнетение иммунологической реактивности: число АОК в селезенках составляет  $743,8 \pm 79,3$ , что в 4,2 раза меньше от контроля, т. е. развивается глубокий вторичный иммунодефицит.

Если иммунодефицитным мышам однократно ввести ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг, общее число АОК в селезенках, хотя и незначительно, но достоверно в 1,2 раза становится выше в сравнении с группой мышей, обработанных гор-

мон, но не получивших иммунотерапию ( $912,5 \pm 59,6$ ). Повышение дозы ЭПВ до  $0,25$  мг/кг способствует большему стимулированию иммунологической реактивности мышей с иммунодефицитом, индуцированный гормоном.

Таблица 3.

Влияние экстракта почки верблюда (ЭПВ) на иммунный ответ к эритроцитам барана у мышей, обработанных гидрокортизоном (ГК)

Экспериментальная группа	Доза ЭПВ, мг/кг	Кол-во ядросодержащих клеток в селезенках мышей $\times 10^6$		Число антителообразующих клеток в селезенках мышей	
		М $\pm$ m	ИС	М $\pm$ m	ИС
1. контроль (8)	-	168,0 $\pm$ 9,7	-	3125,0 $\pm$ 179,3	-
2. ГК (8)	-	117,1 $\pm$ 8,2*	-1,4	743,8 $\pm$ 79,3*	-4,2
3. ГК (8)	0,05	109,5 $\pm$ 8,0*	-1,5	912,5 $\pm$ 59,6*	+1,2
4. ГК (8)	0,25	121,8 $\pm$ 6,6*	-1,4	1362,5 $\pm$ 98,1**	+1,8
5. ГК (8)	1,0	155,4 $\pm$ 6,4	-1,1	2150,0 $\pm$ 90,1**	+2,9

Примечание: в скобках – число мышей, ИС – индекс соотношения, (-) – по отношению к 1 гр., (+) – по отношению к 2 гр., \* - достоверно к 1 гр., \*\* - достоверно к 2 гр.

В данной группе общее число АОК в селезенках мышей составляло в среднем  $1362,5 \pm 98,1$ , что в 1,8 раза выше, чем у не леченных животных. У иммунодефицитных мышей, получивших ЭПВ в дозе  $1,0$  мг/кг, угнетенная иммунологическая реактивность повышается в 2,9 раза: число АОК равно  $2150,0 \pm 90,1$ . Таким образом, ЭПВ обладает способностью, в определенной степени, корригировать нарушенную иммунологическую реактивность при вторичном иммунодефиците, индуцированном гидрокортизоном.

Установлено, что общее количество клеток в селезенках иммунодефицитных мышей достоверно снижается в 1,4 раза ( $168,0 \pm 9,7 \times 10^6$  - контроль,  $117,1 \pm 8,2 \times 10^6$ ). В группе иммунодефицитных мышей, получивших ЭПВ в дозе  $0,05$  и  $0,25$  мг/кг существенных изменений со стороны общего числа клеток селезенки не происходит. Однако у иммунодефицитных мышей, получивших ЭПВ в дозе  $1,0$  мг/кг, общее количество спленоцитов повышается и достоверно не отличается от контроля. Иными словами, происходит количественное восстановление клеток селезенки.

Таким образом, результаты исследований показывают, что ЭПВ обладает способностью корригировать иммунологические нарушения, возникающие при воздействии на организм гормона.

В следующей модели на мышах моделировали заболевание, которое встречается в хирургической практике, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, а именно, перитонит. В экспериментах у мышей вызывали каловый перитонит, изучали иммунологическую реактивность на антигенный стимул и проводили иммунокоррекцию с помощью ЭПВ. Результаты по оценке ЭПВ на иммунный ответ к ЭБ и общее число клеток селезенки приведены на таблице 4.

Как видно в селезенках мышей контрольной группы формируется  $2471,4 \pm 180,2$  АОК. В процессе развития перитонита происходит формирование вторичного иммунодефицитного состояния, о чем свидетельствует угнетение иммунного ответа на антигенный стимул. Число АОК в селезенках мышей снижается в 3,5 раза и составляет  $700,0 \pm 102,3$  АОК.

При введении мышам с перитонитом ЭПВ в различных дозах происходит восстановление иммунологической реактивности к ЭБ. У мышей с перитонитом, получивших ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг число АОК достоверно возрастает в 1,2 раза и составляет  $814,3 \pm 60,4$ . Повышение дозы вещества до 0,25 мг/кг сопровождается более выраженным приростом количества АОК в селезенках иммунизированных мышей с перитонитом. Их уровень достигает  $1114,3 \pm 108,4$ , что в 1,6 раза выше, чем у не леченых особей.

Таблица 4.

Влияние экстракта почки верблюда (ЭПВ) на иммунный ответ к эритроцитам барана у мышей с каловым перитонитом

Экспериментальная группа	Доза ЭПВ, мг/кг	Кол-во ядросодержащих клеток в селезенках мышей $\times 10^6$		Число антителообразующих клеток в селезенках мышей	
		М $\pm$ m	ИС	М $\pm$ m	ИС
1. контроль (7)	-	152,7 $\pm$ 8,1	-	2471,4 $\pm$ 180,2	-
2. перитонит (7)	-	193,0 $\pm$ 5,2*	+1,3	700,0 $\pm$ 102,3*	-3,5
3. перитонит (7)	0,05	180,3 $\pm$ 9,4*	+1,2	814,3 $\pm$ 60,4*	+1,2
4. перитонит (7)	0,25	190,5 $\pm$ 9,0*	+1,2	1114,3 $\pm$ 108,4**	+1,6
5. перитонит (7)	1,0	163,4 $\pm$ 4,6	1,0	1500,0 $\pm$ 135,4**	+2,1

Примечание: в скобках – число мышей, ИС – индекс соотношения, (-) – по отношению к 1 гр., (+) – по отношению к 2 гр., \* - достоверно к 1 гр., \*\* - достоверно к 2 гр.

ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг в 2,1 раза стимулирует угнетенный иммунный ответ к ЭБ у мышей с каловым перитонитом: общее число АОК в селезенках

равно  $1500,0 \pm 135,4$ . Следовательно, введение ЭПВ мышам с перитонитом в определенной степени корригирует вторичный иммунодефицит, хотя полного восстановления иммунной реактивности не происходит.

Сравнение глубины иммунодефицита при перитоните и при введении мышам гидрокортизона показывает, что в последнем случае иммунодефицит более выражен. Но в обеих моделях иммунодефицитов ЭПВ оказывал заметный иммунокорригирующий эффект.

Как видно из таблицы 4 при воспалительной процессе брюшины наблюдается достоверное повышение общего числа клеток в селезенке иммунизированных мышей ( $152,7 \pm 8,1 \times 10^6$  - контроль,  $193,0 \pm 5,2 \times 10^6$  - перитонит). В группах мышей с перитонитом, получивших ЭПВ в дозах 0,05 и 0,25 мг/кг достоверных изменений в количестве спленоцитов не наблюдается. Вместе с тем, в группе мышей с перитонитом, получивших ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг, происходит снижение общего количества клеток селезенки до контрольных значений.

Таким образом, при вторичном иммунодефиците, формирующийся при перитоните, введение ЭПВ способствует коррекции иммунного ответа к ЭБ и нормализации общего уровня клеток селезенки мышей.

В следующей модели вторичный иммунодефицит вызывали путем алкогольной интоксикации у мышей. Хорошо известно, что длительное применение алкоголя вызывает функциональные и морфологические нарушения во многих жизненно важных системах организма, в том числе и в отношении иммунной реактивности. Исходя из этого, мы попытались провести иммунокоррекцию у мышей с алкогольной интоксикацией.

Установлено, при алкогольной интоксикации количество АОК в селезенках снижается в 3,7 раза ( $6121,4 \pm 243,3$  - контроль,  $1650,0 \pm 156,63$  - алкоголь) (табл.5). Угнетение иммунного ответа к ЭБ в данном случае менее выражено, чем при воздействии гидрокортизоном (ИС= -4,2).

При инъекции мышам с алкогольной интоксикацией ЭПВ в минимальной дозе (0,05 мг/кг) иммунный ответ к ЭБ достоверно не изменяется ( $1828,6 \pm 214,0$ ). С повышением вводимой дозы наблюдается стимуляция ответной реакции мышей с алкогольной интоксикацией на антигенный стимул: число АОК в селезенках в среднем составляет  $2942,9 \pm 2449,4$ , что в 1,8 раза превышает данные, полученные в группе, не получавшей иммунотерапию.

У мышей с алкогольной интоксикацией, получивших ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг общее число АОК в селезенке составляет  $6464,3 \pm 419,6$ , что в 3,9 раза выше, чем у не леченой группы. Иными словами произошло полное восстановление иммунологической реактивности мышей с алкогольной интоксикацией. Напомним, что у мышей, обработанных гидрокортизоном и с перитонитом, полного восстановления иммунного ответа к ЭБ не происходило (см. табл. 4.1 и 4.3). Следовательно, при алкогольной интоксикации сохраняется потенциальная возможность восстановления иммунной системы после соответствующей иммунокоррекции.

Под воздействием алкоголя происходит достоверное (в 1,4 раза) повышение общего количества клеток селезенки, т.е. развивается спленомегалия ( $191,3 \pm 6,1 \times 10^6$  - контроль,  $261,1 \pm 8,6 \times 10^6$  - алкоголь). У мышей с алкогольной интоксикацией, получивших ЭПВ в дозе 0,05 и 0,25 мг/кг уровень ЯСКС существенно снижается, при дозе ЭПВ 1,0 мг/кг происходит нормализация общего количества спленоцитов ( $186,2 \pm 9,8 \times 10^6$ ).

Таблица 5.

Влияние экстракта почки верблюда (ЭПВ) на иммуногенез у мышей с алкогольной интоксикацией

Экспериментальная группа	Доза ЭПВ, мг/кг	Кол-во ядродержащих клеток в селезенках мышей $\times 10^6$		Число антителообразующих клеток в селезенках мышей	
		M $\pm$ m	ИС	M $\pm$ m	ИС
1. контроль (7)	-	191,3 $\pm$ 6,1	-	6121,4 $\pm$ 243,3	-
2. алкоголь (7)	-	261,1 $\pm$ 9,0*	+1,4	1650,0 $\pm$ 156,6*	-3,7
3. алкоголь (7)	0,05	215,1 $\pm$ 8,6**	+1,1	1828,6 $\pm$ 214,0	+1,1
4. алкоголь (7)	0,25	202,8 $\pm$ 7,3**	+1,1	2942,9 $\pm$ 249,4**	+1,8
5. алкоголь (7)	1,0	186,2 $\pm$ 9,8**	1,0	6464,3 $\pm$ 419,6**	+3,9

Примечание: в скобках – число мышей, ИС – индекс соотношения, (-) – по отношению к 1 гр., (+) – по отношению к 2 гр., \* - достоверно к 1 гр., \*\* - достоверно к 2 гр.

Таким образом, ЭПВ у иммунодефицитных мышей с алкогольной интоксикацией способствует восстановлению не только иммунологической реактивности организма, но и восстанавливает общее количество клеток в селезенке.

Исследования, проведенные на трех моделях вторичных иммунодефицитных состояний у мышей - гормоноиндуцированной имундепрессия, каловый перитонит, алкогольная интоксикация, показали, что вне зависимости от этиологических факторов, ЭПВ способствует стабилизации иммунных реакций организма, причем при алкогольной интоксикации происходит полное восстановление нарушенных иммунологических параметров.

### **3.2. Модели иммунодефицитов у цыплят**

Представлял интерес изучить эффект ЭПВ на иммунный статус при вторичных иммунодефицитах на других биологических объектах, в частности у птиц (цыплят). Известно, что глубокие нарушения в иммунной системе про-

исходят при воздействии радиации. Происходят морфо-функциональные нарушения в центральных и периферических органах иммунитета, в различных популяциях иммунокомпетентных клеток, угнетается синтез цитокинов иммунной системы. Все вышесказанное требует проведения адекватной иммунотерапии. Нами в эксперименте апробирован ЭПВ на модели лучевого поражения у цыплят.

Результаты по изучению влияния ЭПВ на иммунный ответ к ЭБ приведены в таблице 6. В селезенках цыплят контрольной группы образуется в среднем  $208,1 \pm 14,6$  АОК. Лучевое воздействие приводит к резкому угнетению иммунного ответа к ЭБ: число АОК в селезенках равно лишь  $24,4 \pm 3,9$ , что в 8,5 раза меньше контрольных значений. В данном случае угнетение иммунного ответа у цыплят более выражено, чем на трех вышеописанных моделях вторичного иммунодефицита у мышей (воздействие гормона, перитонит, алкогольная интоксикация).

Введение ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг цыплятам с лучевой болезнью в 1,9 раза повышает число АОК на селезенку ( $46,9 \pm 6,0$ ). При дозе ЭПВ 0,25 мг/кг уровень АОК в селезенках цыплят повышается до  $78,8 \pm 5,5$ , что в 3,2 раза выше в сравнении с иммунодефицитной группой. Если цыплятам с лучевой болезнью ввести ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг, то число АОК в расчете на всю селезенку повышается в 4,3 раза и составляет  $105,0 \pm 6,9$ . Таким образом, ЭПВ повышает число АОК в селезенках цыплят с лучевой болезнью до половины уровня контроля. Число ЯСКС у цыплят при лучевом воздействии снижается в 4,2 раза ( $48,6 \pm 2,0 \times 10^6$  - контроль,  $11,4 \pm 0,8 \times 10^6$  - облучение).

Таблица 6.

Влияние экстракта почки верблюда (ЭПВ) на иммуногенез у цыплят с лучевой болезнью

Экспериментальная группа	Доза ЭПВ, мг/кг	Кол-во ядросодержащих клеток в селезенках мышей $\times 10^6$		Число антителообразующих клеток в селезенках мышей	
		М $\pm$ m	ИС	М $\pm$ m	ИС
1. контроль (8)	-	$48,6 \pm 2,0$	-	$208,1 \pm 14,6$	-
2. облучение (8)	-	$11,4 \pm 0,8^*$	-4,2	$24,4 \pm 3,9^*$	-8,5
3. облучение (8)	0,05	$22,3 \pm 1,4^{**}$	+2,0	$46,9 \pm 6,0^{**}$	+1,9
4. облучение (8)	0,25	$23,3 \pm 1,6^{**}$	+2,0	$78,8 \pm 5,5^{**}$	+3,2
5. облучение (8)	1,0	$28,8 \pm 1,4^{**}$	+2,5	$105,0 \pm 6,9^{**}$	+4,3

Примечание: в скобках – число мышей, ИС – индекс соотношения, (-) – по отношению к 1 гр., (+) – по отношению к 2 гр., \* - достоверно к 1 гр., \*\* - достоверно к 2 гр.

При введении ЭПВ в дозах 0,05 и 0,25 мг/кг количество спленоцитов в селезенках цыплят повышается в 2 раза, а при дозе 1,0 мг/кг - в 2,5 раза. Таким образом, ЭПВ обладает способностью корригировать иммунологические нарушения у цыплят с лучевой болезнью.

Следует отметить, что, не смотря на развитие при лучевом поражении глубокого иммунодефицита, ЭПВ существенно корригирует иммунологическую реактивность цыплят на антигенное воздействие. При этом наблюдается и нормализация общего количества клеток селезенки цыплят.

Таким образом, можно сделать заключение, что ЭПВ обладает способностью корригировать вторичный иммунодефицит у цыплят с лучевой болезнью.

В следующей модели вторичный иммунодефицит вызывали у цыплят с помощью иммунодепрессанта циклофосфана. Результаты по оценке эффекта ЭПВ на иммунный ответ к ЭБ у цыплят, обработанных циклофосфаном приведены на табл. 4.8. Установлено, что у цыплят, получивших циклофосфан общее число АОК в селезенке, по сравнению с контролем снижается в 4,5 раза ( $370,0 \pm 29,8$  - контроль,  $82,5 \pm 11,0$  - циклофосфан), т.е. формируется выраженный вторичный иммунодефицит.

Таблица 7.

Влияние экстракта почки верблюда (ЭПВ) на иммуногенез у цыплят, обработанных циклофосфаном (ЦФ)

Экспериментальная группа	Доза ЭПВ, мг/кг	Кол-во ядросодержащих клеток в селезенках мышей $\times 10^6$		Число антителообразующих клеток в селезенках мышей	
		М $\pm$ m	ИС	М $\pm$ m	ИС
1. контроль (8)	-	29,9 $\pm$ 3,0	-	370,0 $\pm$ 29,8	-
2. ЦФ (8)	-	14,6 $\pm$ 1,2*	-2,0	82,5 $\pm$ 11,0*	-4,5
3. ЦФ (8)	0,05	16,8 $\pm$ 1,3*	+1,2	125,0 $\pm$ 11,8**	+1,5
4. ЦФ (8)	0,25	22,7 $\pm$ 1,2**	+1,6	245,0 $\pm$ 21,0**	+3,0
5. ЦФ (8)	1,0	28,8 $\pm$ 1,8**	+2,0	345,0 $\pm$ 27,5**	+4,2

Примечание: в скобках – число мышей, ИС – индекс соотношения, (-) – по отношению к 1 гр., (+) – по отношению к 2 гр., \* - достоверно к 1 гр., \*\* - достоверно к 2 гр.

Введение иммунодефицитным цыплятам ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг в достоверно 1,5 раза повышает число АОК в селезенках ( $125,0 \pm 11,8$ ). Более выраженная иммуностимуляция у цыплят обнаружена при инъекции ЭПВ в дозе 0,25 мг/кг: число АОК равняется  $245,0 \pm 21,0$ , что в 3 раза превышает иммунный ответ к ЭБ у не леченых цыплят. Если цыплятам, получивших цикло-

фосфан, ввести ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг, то число АОК в селезенках повышается в 4,2 ( $345,0 \pm 27,5$ ), что достоверно не отличается от контрольных показателей. Иными словами, произошло полное восстановление иммунологической реактивности у цыплят с вторичным иммунодефицитом, индуцированный циклофосфаном.

У цыплят, получавших циклофосфан общее число клеток в селезенках снижается в 2 раза ( $29,9 \pm 3,0 \times 10^6$  - контроль,  $14,6 \pm 1,2 \times 10^6$  - циклофосфан). В группах иммунодефицитных цыплят, получивших ЭПВ в дозах 0,05 и 0,25 мг/кг общее число клеток в селезенках достоверно повышается в 1,2 и 1,6 раза соответственно. При введении ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг происходит полное восстановление общего числа клеток селезенки.

Таким образом, у цыплят с вторичным иммунодефицитом, индуцированный циклофосфаном, под воздействием ЭПВ происходит полное восстановление иммунологической реактивности и уровня клеток в селезенках.

#### **4. Влияние иммуномодуляторов на функцию ЦНС** **(болевая чувствительность)**

Помимо оценки иммуностропных свойств, нами проведены исследования по оценке влияния ЭПВ на одну из функций ЦНС, а именно, болевую чувствительность. Мышам вводили химический раздражитель (3% раствор уксусной кислоты) и подсчитывали количество «корчей» в течение 20 минут. Результаты этих исследований приведены на рис. 1. Как видно в контрольной группе мышей количество «корчей» в среднем составляет  $112,6 \pm 2,9$  в течение 20 минут. Если мышам предварительно за 1 час ввести ЭПВ, то количество «корчей», по сравнению с контролем, снижается. При введении ЭПВ в дозе 0,05 мг/кг, число «корчей» достоверно уменьшается в 1,1 раза и составляет в среднем  $112,6 \pm 2,9$ .

Более выраженное снижение болевой чувствительности на химический раздражитель у мышей обнаружено при введении ЭПВ в дозе 0,25 мг/кг. Число «корчей» составило  $52,7 \pm 3,4$ , что в 1,8 раза ниже контроля. Существенное снижение болевой чувствительности выявлено при введении ЭПВ в дозе 1,0 мг/кг. Число «корчей» по сравнению с контролем уменьшилось в 3,7 раза и равнялось  $30,5 \pm 1,6$ . Тактивин в 1,9 раза ( $57,9 \pm 2,3$ ) снизил число «корчей» у мышей, обработанных уксусной кислотой.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что ЭПВ, помимо иммуномодулирующей активности, обладает также анальгезирующим действием на организм. Результаты говорят о полифункциональной активности ЭПВ.

Рис.1. Изучение противоболевого эффекта экстракта почки верблюда (ЭПВ) у мышей

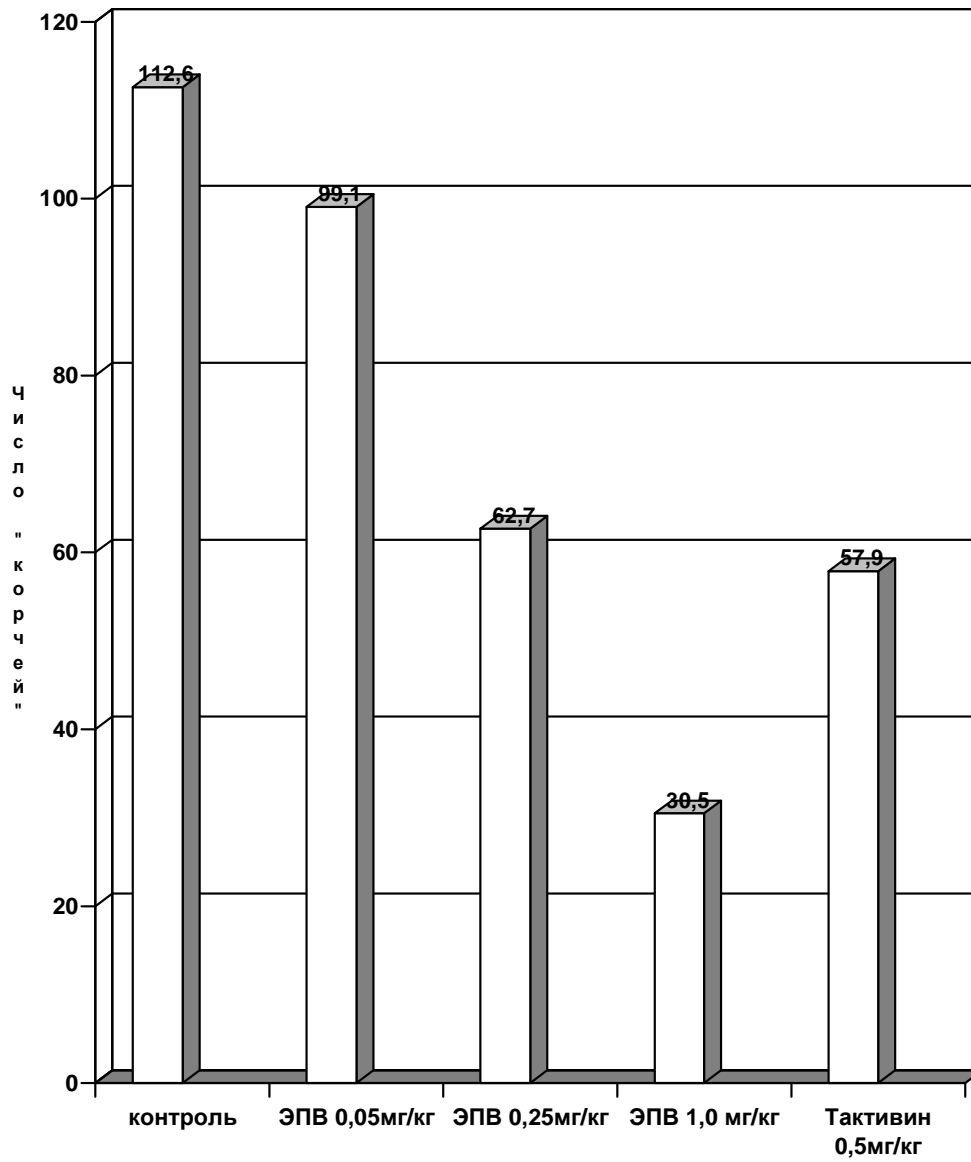


Рис.1. Изучение противоболевого эффекта экстракта почки верблюда у мышей.

**Выводы:**

1. Установлено, что ЭПВ в 1,2-2,9 раза повышает угнетенный иммунный ответ к ЭБ у мышей с гормоноиндуцированным иммунодефицитом, в 1,2-2,1 раза - у мышей с перитонитом и в 1,8-3,9 раза - у мышей с алкогольной интоксикацией.

2. Под воздействием ЭПВ число АОК к ЭБ у цыплят с лучевой болезнью повышается в 1,9-4,3 раза, а у цыплят, с циклофосфаниндуцированным иммунодефицитом - в 1,5-4,2 раза.

3. На модели химического раздражения установлено, что ЭПВ обладает свойством существенно снижать болевую чувствительность мышей, зависящую от дозы вещества.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Арион В. Я. с соавт. Получение и свойства пептидов бурсы Фабрициуса цыплят //Сб. тез. докл.1-го Всесоюз. съезда иммунологов. М. - 1989.- Т1. - С. 12.
2. Веснина Л. Э., Кайдашев И. П. Участие пептидного комплекса почек в регуляции экспрессии некоторых рецепторов лейкоцитов //Иммунология. - 1998. - №4. - С. 13-16.
3. Гажа А. К. Иммуноактивный пептид из оптических ганглиев кальмара: /Автореф. дис. ... канд. мед. наук.- Владивосток, - 1994.- 23 с.
4. Гариб Ф. Ю., Турдыев У. А. Стимуляция иммунного ответа пептидами тимуса при экспериментальном токсическом гепатите: Сб. науч. тр. Актуальные вопросы иммунологии и аллергологии. - Ташкент, - 1996.- С.100-104.
5. Андо Ю. Т., Акбаров С. В., Джахангиров Ф. Н. и др. Изучение иммуномодулирующей активности нового препарата эриксина: Сб. науч. тр. Актуальные вопросы иммунологии и аллергологии. - Ташкент, - 1996. - Т.8. - С. 89-93.
6. Кайдашев И. П. Влияние отдельных пептидных фракций, выделенных из коркового вещества почек, на пролиферативную активность лейкоцитов //Иммунология. –1998.- № 3.- С. 30-32.
7. Колбаев И. Б. Изучение механизма действия на иммунную систему препаратов, полученных из тканей среднеазиатских черепах: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Ташкент. - 1997. - 17 с.
8. Нестерова И. В., Швыдченко И. Н. Влияние миелопептидов на функционирование нейтрофильных гранулоцитов //Аллергология и иммунология, 2005. - т. 6. - № 1. - С. 70 - 80.
9. Петров Р. В., Дуринян Р. А., Василенко А. М. Обезболивающее средство “миелопид”. //АС № 2000789. - Россия. - 1993.
- 10.Примкулов А. Ж. Влияние экстракта из почек кур и селезенки овец на Т-супрессоры и розеткообразующие клетки у мышей-опухоленосителей //Журнал «Аллергология и иммунология».- Матер. II съезда иммунологов и аллергологов СНГ .- Сочи. – Россия. - 2000.- Т.1.- №2.- С.168.
- 11.Настоящая Н. Н., Казанский Д. Б., Матвиенко М. А. и др.Регуляция иммунного ответа растворимыми факторами печени //Сб. тез. докл.1-го Всесоюз. съезда иммунологов. М.,- 1989.- Т.1. - С. 341.
- 12.Бородин Ю. И., Любарский М. С., Смагин А. А. и др. Способ приготовления взвеси ксеноклеток селезенки свиней для применения в лечении больных с патологическими изменениями в иммунной системе //АС № 2126685. – Россия. - 1999.
- 13.Стрелков Л. А., Михайлова А. А. Миелопиды как противоопухолевые агенты //Иммунология. - 1998. - №5. - С. 31-33.

14. Anisimov V. N., Mylnikov S. V., Khavinson V. Kh. Pineal peptide preparation epithalamin increases the lifespan of fruit flies, mice and rat //Mech. Aging Dev.- 1998.- V.103.- P. 123-132.
15. Arion V. Y., Zimina I. V., Lopukhin Y. M. Contemporary views on the nature and clinical application of thymus preparations //Russio J. Immunol.- 1997.- N2.- P. 157-166.
16. Dardenne M. Role of thymic peptides as transmitters between the neuroendocrine and immune systems //Ann. Med. - 1999. - 31. - sup. 2.- P. 34-39.
17. Pierpaoly W., Regelson W. Pineal control of aging: effect of melatonin and pineal grafting on aging mice //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1994.- Vol. 91.- P. 787-791.
18. Reiter R. Y. The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories of the data //Exp. Gerontology.- 1995.- Vol. 30.- N3-4.- P. 199-212.