

ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ ПРИ ТУБЕРКУЛЁЗЕ НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА

Е.А. Кособоков, Т.С. Дудолодова

ФГБНУ «Омский аграрный научный центр», г. Омск, Россия, e-mail: vet_nauka@mail.ru

Аннотация. В данной работе приведена сравнительная оценка количества двухъядерных гепатоцитов в печёночной ткани животных, заражённых *Micobacterium bovis*, на фоне применения специфического иммуномодулирующего препарата КИМ-М2. При применении иммуномодулятора КИМ - М2 подтверждено его регенеративное действие на печёночную ткань животных.

Ключевые слова: морская свинка, печень, гепатоциты, туберкулёз, иммуномодулятор.

Введение. Проблема туберкулёза животных до настоящего времени остаётся нерешенной во многих странах мира, в том числе и в России. Данный вид возбудителя, *M. bovis*, представляет повышенный уровень опасности для животных и людей из-за высокой патогенности и летальности. В современном мире практически нет эффективных методов диагностики и лечения туберкулёзной инфекции, из-за чего возникает риск заноса заболевания из других стран, граничащих с Россией. Туберкулёз животных наносит большой экономический ущерб животноводческим комплексам, ввиду высокой патогенности и летальности среди животных, а так же среди людей [1].

Самой распространённой формой болезни является лёгочной туберкулёз, но при переходе инфекции в хроническое состояние инфекция может поражать другие органы животного, особенно печень [5].

Печень - является крупнейшей железой организма животного. Она участвует в пищеварении, в синтезе и отложении гликогена, а также обладает барьерной функцией, в ней задерживаются и нейтрализуются многие токсины. При нарушении гемоциркуляции печень теряет способность нейтрализовать токсины, выделяемые микобактериями в процессе их жизнедеятельности, что приводит к сильной интоксикации организма и поражению тканей всех органов [4].

По результатам исследований многих отечественных и зарубежных авторов, наиболее эффективным методом ликвидации туберкулёзной инфекции, является создание средств специфической иммунопрофилактики. Иммуномодулятор КИМ-М2 приводит к усилению иммуногенеза и способствует более быстрому восстановлению морфогистологической структуры органов и тканей. Препарат изготовлен на основе антигенного комплекса вакцинного штамма БЦЖ, инкубированного с раствором формальдегида и конъюгированного с поливинилпирролидоном и полиэтиленгликолем [2-3].

Материалы и методы. Работа выполнена в отделе ветеринарии (ВНИИБТЖ) ФГБНУ «Омского АНЦ». Исследования проведены на 15 половозрелых беспородных морских свинок, отобранных по гендерному признаку. Сформированы 3 группы животных по 5 голов.

Животным 1 группы вводили иммуномодулятор КИМ-М2 в дозе 500 мкг/мл белка, через 30 дней заражали *Micobacterium bovis* штамм 8, в дозе 0,001 мг/мл подкожно, полученным из биоресурсной коллекции микроорганизмов;

Животным 2 группы (контроль заражения), инфицировали *Micobacterium bovis* штамм 8, в дозе 0,001 мг/мл подкожно;

Контрольным (интактным) животным, инокулировали стерильный физиологический раствор в дозе 1 мл подкожно.

Животных выводили из эксперимента на 60 сутки после начала опыта путём эвтаназии ингаляционным наркозом (парами эфира) и подвергали тотальному обескровливанию. Все действия с лабораторными животными проводились согласно Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.), требованиям Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.) и Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (1986 г.). Перед инфицированием и убоем животных исследовали ППД - туберкулином для млекопитающих в дозе 25 МЕ в 0,1 мл внутрикожно. До заражения все животные реагировали отрицательно, после заражения 1 и 3 группы реагировали отрицательно, а животные 2 группы прореагировали положительно. Все принципы экспериментальной биоэтики соблюдены.

Материалом для гистологических исследований служила печёночная ткань от экспериментальных морских свинок.

Кусочки печени животных фиксировали в 10% забуференном формалине. Проводку материала осуществляли в автомате для гистологической обработки ткани STP-120 (тип карусель, Германия). Заливку парафиновых блоков производили на станции заливки ткани парафином ЕС 350 (Германия). Серийные срезы готовили на микротоме роторного типа НМ - 340Е (Германия), толщиной 5 мкм. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином и заключали в заливочную среду «Витрогель» под покровное стекло.

Микрофотосъёмку гистологических препаратов и их оцифровку проводили на микроскопе Axio-Imager A1 (Zeiss, Германия) с использованием компьютерного программного комплекса AxioVision Ver-4.8. Подсчёт двухъядерных гепатоцитов осуществляли в 10-ти полях зрения на 100 клеток и выражали количественные данные в процентном соотношении.

Результаты исследований. По результатам исследований у животных 1 группы структура печени сохранена, гепатоциты хорошо просматриваются, имеют чёткую структуру, цитоплазма не подвергается кариорексису, не инфильтрирует в межклеточное пространство, кариопикнотических изменений ядра не выявлено. Гепатоциты не округлены. Выявлено увеличение количества двухъядерных гепатоцитов и составляет 25% от количества всех клеток (таблица 1), что свидетельствует о накоплении потенциальных репаративных резервов и увеличении их глубины. Некротических и дистрофических очагов не выявлено.

У животных 2 группы структура печени нарушена, отмечено большое количество безъядерных гепатоцитов. В 50% гепатоцитов наблюдается кариопикноз ядра, клеточная стенка деформирована, цитоплазма вакуолизирована, инфильтрирует в межклеточное пространство. Клетки частично округлены. Количество двухъядерных гепатоцитов составляет 8,3% от количества всех клеток (таблица 1), при норме 17%, что свидетельствует о интенсивном развитии деструктивных процессов в тканях печени, нарушении митотического деления гепатоцитов и отсутствии репаративной регенерации.

Таблица 1. Количество двухъядерных гепатоцитов в печёночной ткани опытных животных, в процентном соотношении.

Группы	Количество двухъядерных гепатоцитов %
1 - Ким М2 + <i>Micobacterium bovis</i> штамм 8)	25%
2 - (<i>Micobacterium bovis</i> штамм 8)	8,3%
3 - (Физиологический раствор, контроль)	17%

Обсуждение результатов и заключение. В результате проведённых исследований установлено, что препарата КИМ - М2 способствовал увеличению количества двухъядерных клеток, что указывает на увеличение репаративного резерва печеночной ткани.

У животных 2 группы отмечается ярко выраженное усиление развития патологического процесса, о чем свидетельствует наличие деструктивных изменений в

тканях печени из-за нарушения митотического деления гепатоцитов и полного отсутствия регенерации.

Данный эксперимент подтверждает, что специфический иммуномодулятор микробного происхождения КИМ-М2, способен оказывать регенеративный эффект на гистологические структуры печени, тем самым стимулирует способность организма противостоять токсинам микобактерий.

Библиографический список

1. Власенко В.С., Кособоков Е.А., Дудолодова Т.С., Гуляева Е.А. Морфометрические параметры печени морских свинок при действии препарата КИМ-М2 на модели экспериментального туберкулеза // Морфология. 2019. Т. 155. № 2. С. 61.
2. Кособоков Е.А., Дудолодова Т.С., Аржаков П.В. Изменения в легких у лабораторных животных после инфицирования микобактериями // Актуальные вопросы иммунологии в разных отраслях агропромышленного комплекса. Сборник материалов конференции (15 декабря 2019 г.). Омск, 2020. С. 84-88.
3. Кошкин И.Н., Власенко В.С., Дудолодова Т.С. Морфологические изменения ткани печени под действием конъюгатов антигенов БЦЖ и производных бетулина при экспериментальном туберкулезе // Пермский аграрный вестник. 2021. № 3 (35). С. 100-109.
4. Травенко Е.Н., Породенко В.А. Оценка морфофункционального состояния печени морфометрическими методами исследования // Судебная медицина. 2019. Т. 5. № 3. С. 19-23.
5. Мяделец О.Д., Лебедева Е.И. Дегенеративные и регенеративные процессы в печени белых крыс при моделировании токсического цирроза изменения овальных клеток // Гродненского государственного медицинского университета. 2017. Т. 15. № 3. С. 294-300.