

Иммунология, токсикология

УДК 619:636.028:612.017

doi: 10.15389/agrobiology.2015.2.245rus

**ИММУННЫЙ СТАТУС БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЗАРАЖЕНИИ
Salmonella cholerae suis НА ФОНЕ ПОДОСТРОГО Т-2 ТОКСИКОЗА****А.Г. ШАХОВ, Л.Ю. САШНИНА, Ю.Н. МАСЬЯНОВ, Г.А. ВОСТРОИЛОВА,
И.Ю. ТАФИНЦЕВА**

Современное животноводство ведется в условиях экологического неблагополучия, вызванного контаминацией кормов микотоксинами, наличием в среде обитания животных потенциально патогенных микроорганизмов (эшерихии, сальмонеллы, кокковая микрофлора и др.) и различных ксенобиотиков физической и химической природы. Особую тревогу вызывает суммарное воздействие иммунопатогенных факторов на животных, регистрируемое в промышленных хозяйствах. В настоящей работе изучено сочетанное воздействие Т-2 токсина и сальмонелл на иммунный статус беспородных белых крыс. Животных содержали в условиях вивария, группы формировали по принципу аналогов, используя в качестве критерия массу тела. Контролем служила I группа. Остальным крысам в течение 6 сут с кормом вводили Т-2 токсин в дозе 140 мкг/кг (II и III группы) и 560 мкг/кг (IV и V группы). Через 1 сут после подострой интоксикации животных заражали внутрибрюшинно суточной культурой сальмонелл *Salmonella cholerae suis* в дозах 1,90 млрд кл. (II и IV группы) и 1,95 млрд кл. (III и V группы). После инфицирования за крысами в течение 6 сут вели клиническое наблюдение, учитывали заболеваемость, симптомокомплекс и падеж. На 7-е сут у инфицированных и интактных животных определяли морфологические показатели крови и иммунный статус. Установлено, что заражение крыс сальмонеллами на фоне Т-2 токсикоза сопровождается существенными изменениями гемоморфологического и иммунного статуса. Появление у животных выраженной нейтрофилии сочеталось с увеличением в крови концентрации IL-1 β . Незначительное повышение гуморального неспецифического иммунитета было обусловлено синергидным действием токсина и возбудителя инфекции. Комплементарная активность сыворотки крови, необходимая для повышения устойчивости организма к интоксикации, возросла пропорционально увеличению доз токсина и сальмонелл. Отмечено повышение титра естественных антител, значительное снижение фагоцитарной активности лейкоцитов, фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса, а также содержания лизоцима, служащих первой линией защиты организма, и выраженным угнетением системы Т-лимфоцитов, особенно у животных, инфицированных более высокой дозой сальмонелл. Уменьшение количества Т-клеток сочеталось с более низкой концентрацией в крови IL-2. Введение крысам сальмонелл на фоне интоксикации способствовало усилению стимуляции гуморального иммунитета, что сочеталось с повышением дифференцировки (доли) В-лимфоцитов, концентрации общих иммуноглобулинов в крови и индукцией противосальмонеллезных антител, а также сопровождалось появлением С-реактивного белка в крови, указывающим на развитие воспалительного процесса. Полученные данные свидетельствуют о дисбалансе между функционированием защитных систем организма животных в условиях смоделированного токсикантом и потенциальным патогеном экологического неблагополучия.

Ключевые слова: белые крысы, Т-2 токсин, сальмонеллы, цитокины, Т- и В-лимфоциты, антитела, фагоцитоз, общий белок, белковые фракции, клетки крови, естественная резистентность, С-реактивный белок.

Современное животноводство ведется в условиях нарушения экологической системы, когда различные техногенные (физические, химические и биологические) факторы оказывают негативное воздействие на организм, что приводит к развитию патологических состояний (1-5).

Существенный вклад в экологическое неблагополучие вносит микотоксикозный фон. Микотоксины — это группа структурно различных вторичных метаболитов грибов, оказывающих выраженный токсический эффект на организм животных и человека через корма и продукты питания. Помимо прямого токсичного действия, микотоксины повышают восприимчивость сельскохозяйственных животных к инфекционным заболеваниям (6-11).

Один из наиболее часто встречающихся ксенобиотиков грибного происхождения — Т-2 токсин. Это трихотеценовый микотоксин типа А,

продуцируемый представителями рода *Fusarium*. В число основных эффектов Т-2 токсина входит выраженная иммуносупрессия, вследствие которой организм становится более уязвимым для различных патогенов (12-14).

Иммунная система животных, содержащихся в промышленных хозяйствах в экологически неблагоприятных зонах, испытывает двойную нагрузку: прямое воздействие загрязняющих факторов и возрастающий персистентный потенциал микроорганизмов, нарушающих доиммунные и иммунные механизмы защиты от инфекций. В этих условиях повышается вероятность снижения неспецифической резистентности организма и иммунитета, возникновения вторичных иммунопатологических состояний и обусловленных ими инфекционных осложнений и заболеваний (15-18). К числу последних следует отнести желудочно-кишечные и респираторные инфекции молодняка сельскохозяйственных животных, одни из возбудителей которых — сальмонеллы, обладающие иммуносупрессивными свойствами (19, 20). Ряд исследователей указывают на широкое носительство патогенных сальмонелл у животных и человека (21, 22).

Цель настоящей работы — изучение влияния заражения *Salmonella cholerae suis* на фоне подострого Т-2 токсикоза на иммунный статус белых крыс в опыте, моделирующем условия экологического неблагополучия, приближенные к наблюдаемым в промышленном свиноводстве.

Методика. Опыты проводили в условиях вивария на половозрелых беспородных белых крысах с массой тела 230-250 г. Животные находились в стандартных пластиковых клетках (по 8-10 особей) на подстилке из опилок лиственных пород деревьев в соответствии с правилами группового содержания. Температуру воздуха поддерживали в пределах 18-23 °С, относительную влажность — 45-60 %. Эти параметры регистрировали ежедневно. Доступ к воде и корму был свободным. В опыт отбирали здоровых животных, группы формировали по принципу аналогов, используя в качестве критерия массу тела (различия по средней массе животных не превышали 10-12 %). Условия содержания, кормление и проводимые манипуляции соответствовали положениям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в эксперименте (Страсбург, 1986), и правилами лабораторной практики в Российской Федерации (ГОСТ Р 53434-2009) (23).

Были сформированы пять групп белых крыс ($n = 12$). В I группу (контроль) входили интактные животные. Остальным крысам в течение 6 сут с кормом вводили Т-2 токсин в дозе 0,05 ЛД₅₀ (140 мкг/кг, II и III группы) и 0,20 ЛД₅₀ (560 мкг/кг, IV и V группы) (подострая интоксикация). Через 1 сут после этого животных заражали внутрибрюшинно суточной культурой сальмонелл *Salmonella cholerae suis* в дозах 1,00 ЛД₅₀ (1,90 млрд кл., II и IV группы) и 1,25 ЛД₅₀ (1,95 млрд кл., III и V группы). После инфицирования за крысами в течение 6 сут вели клиническое наблюдение, учитывали заболеваемость, симптомокомплекс и падеж. На 7-е сут у инфицированных и интактных животных определяли морфологические показатели крови и иммунный статус.

Морфологическое исследование крови проводили на гематологическом анализаторе АВХ Micros 60 («Horiba», Франция). Бактерицидную (БАСК), комплементарную (КАСК) и лизоцимную (ЛАСК) активность сыворотки крови, фагоцитарную активность лейкоцитов (ФАЛ), фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ) и естественные антитела (ЕАТ) определяли в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных» (24), противосальмонеллезные антитела — в реакции агглютинации (РА), абсо-

лютное и относительное число Т-лимфоцитов — методом спонтанного розеткообразования (Е-РО) с эритроцитами морской свинки, В-лимфоцитов — с помощью комплементарного розеткообразования (ЕАС-РО) в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных» (25), количество общих иммуноглобулинов — в реакции преципитации сульфатом цинка (26), С-реактивный белок (СРБ) — с использованием латекс-теста. Концентрацию цитокинов IL-1 β , IL-2 и IL-4 в сыворотке крови оценивали с помощью иммуноферментного анализа согласно утвержденным методикам к соответствующим диагностическим наборам «Вектор-Бест» (Россия).

Бактериологические исследования на специфичность гибели животных проводили общепринятыми методами согласно наставлениям (27).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием программы Statistica v. 6.1, оценку достоверности — по *t*-критерию Стьюдента (28).

Результаты. Клинические признаки сальмонеллезной инфекции на фоне подострой интоксикации у крыс проявлялись в виде угнетения двигательной активности, снижения аппетита, взъерошенности шерстного покрова, снижения реакции на внешние раздражители, гиперемии видимых слизистых оболочек, неоформленных фекалий, у большинства животных отмечали профузный понос.

Масса тела белых крыс через 6 сут после инфицирования на фоне Т-2 токсикога в дозе 140 мкг/кг во II и III группах снизилась по сравнению с контролем соответственно на 13,8 и 17,5 %. Клиническое проявление инфекции регистрировали у 75,0 и 83,3 % крыс, погибли 3 (25,0 %) и 4 (33,3 %) особи.

При подострой интоксикации Т-2 токсином в дозе 560 мкг/кг и инфицировании белых крыс сальмонеллами в дозах 1,9 (IV группа) и 1,95 млрд кл. (V группа) через 6 сут отмечали более значительное по сравнению с контролем дозозависимое снижение массы тела — соответственно на 20,0 и 24,9 %. Клинические признаки инфекции выявляли у 91,6 и 100 % крыс. За указанный период пало 5 (41,7 %) и 6 (50,0 %) животных.

1. Гемоморфологические показатели крови у беспородных белых крыс при заражении *Salmonella cholerae suis* на фоне Т-2 токсикога ($M \pm m$, лабораторный опыт)

Показатель	Группа				
	I (контроль)	II	III	IV	V
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	6,8 \pm 0,05	5,4 \pm 0,11***	5,2 \pm 0,16***	5,5 \pm 0,08***	5,4 \pm 0,17***
Гемоглобин, г/л	153,9 \pm 1,40	106,8 \pm 2,00***	108,5 \pm 4,20***	107,3 \pm 1,80***	107,2 \pm 3,10***
Гематокрит, %	46,8 \pm 0,39	35,0 \pm 0,57***	33,5 \pm 0,99***	33,8 \pm 0,73***	34,0 \pm 1,04***
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	6,5 \pm 0,21	7,6 \pm 0,16***	7,6 \pm 0,71**	8,4 \pm 0,72**	11,8 \pm 1,82**
Нейтрофилы:					
палочкоядерные, %	1,1 \pm 0,07	1,7 \pm 0,32*	1,8 \pm 0,21**	1,5 \pm 0,20*	1,4 \pm 0,25***
сегментоядерные, %	37,1 \pm 2,93	63,9 \pm 4,22***	72,0 \pm 1,62***	63,7 \pm 3,62***	70,6 \pm 3,12***
Эозинофилы, %	3,7 \pm 0,51	0,2 \pm 0,16***	0,4 \pm 0,21***	0,6 \pm 0,33***	-
Моноциты, %	2,8 \pm 0,33	2,4 \pm 0,26	2,2 \pm 0,70	2,0 \pm 0,06**	1,9 \pm 0,05**
Лимфоциты, %	55,6 \pm 2,57	31,8 \pm 1,83***	22,6 \pm 1,65***	30,8 \pm 2,40***	25,8 \pm 2,51***

П р и м е ч а н и е. Описание групп см. в разделе «Методика». Прочерк означает, что такой тип клеток не обнаружили.

*, **, *** Соответственно $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$.

У крыс из II, III, IV и V опытных групп (табл. 1) по сравнению с интактными животными в крови регистрировали существенное, но приблизительно равное снижение количества эритроцитов соответственно на 20,6; 23,5; 19,1 и 20,6 %, гемоглобина — на 30,6; 29,5; 30,3 и 30,0 % и гематокрита — на 21,6; 25,2; 27,8 и 27,4 %, свидетельствующее о синергидном действии Т-2 токсина и экзо- и эндотоксинов сальмонелл на эритро-

циты, угнетении эритропоеза, развитии анемии и нарушении оксигенации тканей (29).

При этом у животных в крови увеличилось количество лейкоцитов на 16,9; 16,9; 29,2 и 81,5 % за счет повышения содержания сегментоядерных (на 72,2; 94,0; 71,7 и 90,3 %) и палочкоядерных (на 54,5; 63,6; 36,3 и 27,3 %) нейтрофилов, что свидетельствует о дозозависимом усилении генерации в костном мозгу и миграции нейтрофильных лейкоцитов в систему циркуляции крови, а затем в ткани слизистых оболочек у особей, подвергшихся интоксикации и антигенному воздействию.

Наличие выраженной нейтрофилии у крыс из II, III, IV, V опытных групп сочеталось с повышением в крови концентрации IL-1 β , стимулирующего выход нейтрофилов из костного мозга, в 2,3; 2,4; 2,3 и 2,37 раза по сравнению с показателями у контрольных животных (табл. 2).

2. Показатели иммунного статуса у беспородных белых крыс при заражении *Salmonella cholerae suis* на фоне T-2 токсикоза ($M \pm m$, лабораторный опыт)

Показатель	Группа				
	I (контроль)	II	III	IV	V
БАСК, %	53,5 \pm 2,83	58,3 \pm 2,62	57,9 \pm 3,75	51,7 \pm 1,58	53,5 \pm 6,65
КАСК, %	6,23 \pm 0,57	16,6 \pm 2,52***	20,8 \pm 2,33***	23,1 \pm 4,07***	23,7 \pm 4,02***
ЛАСК, мг/л	1,80 \pm 0,23	1,48 \pm 0,13	1,49 \pm 0,10	1,45 \pm 0,10	1,56 \pm 0,05
Лимфоциты:					
доля, %	55,6 \pm 2,60	31,8 \pm 1,80***	22,6 \pm 1,70***	30,8 \pm 2,40***	25,8 \pm 2,50***
всего, $\times 10^9$ /л	3,65 \pm 0,21	2,37 \pm 0,22**	1,72 \pm 0,25***	2,55 \pm 0,34**	2,76 \pm 0,50*
T-лимфоциты:					
доля, %	34,7 \pm 0,23	27,6 \pm 3,94*	23,6 \pm 1,18*	17,4 \pm 1,28***	16,5 \pm 1,90***
всего, $\times 10^9$ /л	1,21 \pm 0,17	0,71 \pm 0,10*	0,37 \pm 0,07***	0,43 \pm 0,04***	0,44 \pm 0,08***
V-лимфоциты:					
доля, %	9,3 \pm 0,83	10,4 \pm 1,23	13,0 \pm 1,03**	13,3 \pm 2,70***	14,2 \pm 1,37***
всего, $\times 10^9$ /л	0,41 \pm 0,06	0,27 \pm 0,03**	0,20 \pm 0,02	0,33 \pm 0,07	0,39 \pm 0,07
ФАЛ, %	72,3 \pm 1,16	60,0 \pm 1,37***	60,7 \pm 2,77***	50,3 \pm 2,85***	46,4 \pm 1,47***
ФЧ	5,0 \pm 0,14	3,3 \pm 0,23***	3,5 \pm 0,34***	2,4 \pm 0,10**	2,4 \pm 0,15***
ФИ	7,0 \pm 0,17	5,5 \pm 0,35***	5,8 \pm 0,31**	4,7 \pm 0,23***	5,2 \pm 0,23***
Иммуноглобулины, г/л	20,7 \pm 0,93	15,6 \pm 0,75***	16,4 \pm 1,01***	16,7 \pm 0,99**	19,4 \pm 0,51
Нормальные антитела	1:6,5 \pm 0,73	1:12,7 \pm 1,20***	1:13,1 \pm 0,20***	1:13,3 \pm 1,40***	1:14,0 \pm 1,20***
Титры антител	–	1:167 \pm 21,1	1:171 \pm 18,4	1:140 \pm 24,5	1:160 \pm 24,5
C-реактивный белок	–	1:3,0 \pm 0,50***	1:2,6 \pm 0,30***	1:4,7 \pm 2,30*	1:5,2 \pm 1,20***
IL-1 β , пг/мл	60,8 \pm 8,30	140,0 \pm 9,60***	148,1 \pm 74,60	139,6 \pm 20,30**	143,8 \pm 20,80**
IL-2, пг/мл	249,7 \pm 31,10	185,6 \pm 8,40	188,9 \pm 14,80	223,9 \pm 12,10	195,1 \pm 8,70
IL-4, пг/мл	46,3 \pm 1,40	48,1 \pm 5,80	48,7 \pm 5,30	46,7 \pm 3,90	51,4 \pm 3,70

П р и м е ч а н и е. Описание групп см. в разделе «Методика». БАСК — бактерицидная активность сыворотки крови, КАСК — комплементарная активность сыворотки крови, ЛАСК — лизоцимная активность сыворотки крови, ФАЛ — фагоцитарная активность лейкоцитов, ФЧ — фагоцитарное число, ФИ — фагоцитарный индекс, IL — интерлейкин; «←» — отрицательный результат определения.

*, **, *** Соответственно $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$.

Доля лимфоцитов, напротив, значительно снизилась (соответственно на 42,8; 59,4; 44,6 и 53,6 %), как и число эозинофилов (у крыс из II, III и IV групп — на 94,6, 89,2 и 83,7 %), которые у животных из V группы выявлены не были.

Уменьшение относительного содержания моноцитов, служащих предшественниками тканевых макрофагов, которые выполняют фагоцитарную, антигенпредставляющую и репаративную функции, было дозозависимым и по группам составило 14,3; 21,4; 28,6 и 32,1 % к контролю, что свидетельствовало об ослаблении клеточной защиты и функции кроветворения. Показано, что T-2 токсин обладает цитотоксическим действием на моноциты, а также ингибирует их дифференцировку в дендритные клетки и макрофаги (30).

У крыс из II и III групп на фоне T-2 токсикоза (140 мкг/кг) отмечали развитие выраженного T-дефицита, особенно при заражении более высокой дозой сальмонелл, на что указывало снижение относительного числа T-клеток по сравнению с таковым у интактных животных соответ-

ственно на 20,5 и 32,0 %, абсолютного — на 41,3 и 69,4 %.

Инфицирование животных на фоне подострой интоксикации высокой дозой токсина (560 мкг/кг) сопровождалось наиболее выраженным угнетением системы Т-лимфоцитов, особенно при введении сальмонелл в дозе 1,95 млрд кл.: относительное число Т-клеток в IV и V группах снизилось по сравнению с контролем на 49,9 и 52,4 %, абсолютное — на 64,5 и 63,6 %.

Уменьшение количества Т-клеток у крыс из всех опытных групп сочеталось с более низкой (на 10,3; 21,9; 25,7 и 24,3 %) концентрацией в крови IL-2 — фактора роста Т-лимфоцитов, стимулирующего иммунный ответ за счет активации Т-клеточных популяций. Установлено, что Т- и В-лимфоциты наиболее чувствительны к воздействию Т-2 токсина по сравнению с другими клетками (31).

У крыс из II, III, IV и V опытных групп регистрировали выраженный гуморальный иммунодефицит. Концентрация общих иммуноглобулинов в крови у них была ниже, чем у интактных животных, соответственно на 24,6; 20,8; 19,3 и 6,3 %, что сочеталось с уменьшением абсолютного числа В-лимфоцитов на 34,1; 51,2; 19,5 и 4,9 %.

Как видно, снижение доли иммуноглобулинов находилось в обратной зависимости от увеличения доз токсиканта и сальмонелл, что может свидетельствовать о дозозависимой активации гуморального иммунитета у крыс на фоне более интенсивного катаболизма.

Более выраженная стимуляция гуморального иммунитета у особей из IV и V групп подтверждалась увеличением по сравнению с контролем относительного количества В-клеток соответственно на 43,0 и 52,7 %. У животных из II и III групп этот показатель повышался на 11,8 и 39,8 %.

Титры противосальмонеллезных антител напрямую зависели от количества введенных сальмонелл, однако были несколько ниже у крыс при интоксикации, вызванной дозой токсина 560 мкг/кг, что, вероятно, объясняется значительным угнетением Т-звена иммунной системы.

Кроме того, можно предположить наличие у крыс из IV и особенно V группы выраженной поликлональной стимуляции гуморального иммунитета, которая возникала вследствие повышения антигенного воздействия, сопровождалась увеличением общего количества иммуноглобулинов и конкурировала с клоноспецифическим ответом, направленным на синтез специфических антител.

У животных из опытных групп в целом была отмечена положительная корреляция между содержанием в крови общих иммуноглобулинов, относительным количеством В-лимфоцитов и IL-4 — В-клеточного фактора роста, стимулирующего выработку иммуноглобулинов и продуцируемого главным образом популяцией Т-хелперных лимфоцитов 2-го класса, которые ответственны за развитие гуморального иммунитета.

Заражение сальмонеллой крыс из II и III групп на фоне Т-2 токсикоза (140 мкг/кг) сопровождалось повышением БАСК на 9,0 и 8,2 %, но при увеличении дозы токсина (560 мкг/кг) у животных из IV и V групп этот показатель практически не изменился по сравнению с контролем.

Комплементарная активность сыворотки крови, необходимая для повышения устойчивости организма к интоксикации, напротив, возросла пропорционально увеличению доз токсина и сальмонелл в группах II, III, IV и V соответственно в 2,7; 3,3; 3,7 и 3,8 раза. Можно предположить, что интоксикация оказывала стимулирующее действие на синтез и активацию белков системы комплемента.

Содержание лизоцима в сыворотке крови было ниже контроль-

ного показателя на 17,8 и 17,2 % у крыс из II и III групп и на 19,4 и 13,3 % — у животных из IV и V групп, что связано с уменьшением ФАЛ и поглотительной способности фагоцитов под воздействием токсинов различной природы.

Инфицирование белых крыс сальмонеллами на фоне Т-2 токсикоза сопровождалось снижением количества общего белка в сыворотке крови животных из всех опытных групп на 11,8; 9,4; 13,9 и 11,6 %, альбуминов — на 21,7; 24,5; 19,0 и 20,9 % и увеличением доли α -глобулинов на 80,2; 47,7; 67,4 и 88,4 % и β -глобулинов — на 30,5; 26,9; 24,7 и 22,4 %. Концентрация γ -глобулинов у белых крыс из II, IV и V групп уменьшалась соответственно на 22,8; 18,4 и 19,6 %, у животных из III группы — незначительно повышалась (табл. 3).

3. Содержание общего белка и его фракций у беспородных белых крыс при заражении *Salmonella cholerae suis* на фоне Т-2 токсикоза ($M \pm m$, лабораторный опыт)

Показатель	Группа				
	I (контроль)	II	III	IV	V
Белок г/л	70,5±1,25	62,2±0,95***	63,9±0,77***	60,7±1,17***	62,3±0,77***
Альбумины, %	55,4±1,68	43,4±0,61***	41,8±1,62***	44,9±1,16***	43,8±0,71***
α -Глобулины, %	8,6±0,58	15,5±0,21***	12,7±1,26**	14,4±1,13***	16,2±0,32***
β -Глобулины, %	22,3±0,89	29,1±0,32***	28,3±0,70***	27,8±0,61***	27,3±0,57***
γ -Глобулины, %	15,8±0,84	12,2±0,56**	17,2±0,93	12,9±0,24**	12,7±0,30**
А/Г	1,19	0,76	0,72	0,81	0,78

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика». А/Г — альбумин-глобулиновое соотношение.

*, **, *** Соответственно $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$.

Отмеченное снижение количества общего белка в сыворотке крови у животных из всех опытных групп по сравнению с контролем связано с ослаблением синтетических процессов в печени. Уменьшение содержания альбуминов было вызвано необходимостью использования их в качестве важнейшего фактора плазменной детоксикации, связывания и удаления токсинов.

К α -глобулинам относятся белки острой фазы, к β -глобулинам — большинство белков системы комплемента и часть иммуноглобулинов. Отмеченное нами существенное увеличение содержания α - и β -глобулинов у белых крыс было обусловлено развитием воспалительного процесса.

Почти при всех заболеваниях, особенно воспалительных, содержание γ -глобулинов в сыворотке крови повышается. В наших опытах мы регистрировали понижение концентрации γ -глобулинов, по-видимому, связанное с их использованием для обезвреживания и ослабления совместного патогенного действия сальмонелл и Т-2 токсина.

У животных из опытных групп выявили существенное уменьшение альбумин-глобулинового соотношения (А/Г) — соответственно на 36,1; 39,5; 31,9 и 34,5 % (в контроле А/Г = 1,19), свидетельствующее об ингибирующем действии Т-2 токсина и сальмонелл на биосинтез белка (см. табл. 3) (32).

Во II, III, IV и V опытных группах также отмечали значительное снижение ФАЛ — соответственно на 17,0; 16,1; 30,4 и 35,8 %, ФЧ — на 34,0; 30,0; 52,0 и 52,0 % и ФИ — на 21,4; 17,1; 32,9 и 25,7 %.

Абсолютное количество лизоцима, продуцируемого фагоцитами, соответствовало показателям фагоцитарной емкости нейтрофилов (произведение абсолютного числа сегментоядерных нейтрофилов на ФЧ), которые у крыс из опытных групп составили соответственно 16,0; 19,1; 12,8 и 20,0 тыс. кл/мм³ (у интактных животных 12,1 тыс. кл/мм³). При этом бо-

лее высокие значения фагоцитарной емкости нейтрофилов у животных, подвергнутых интоксикации и заражению, на фоне более низкого содержания в крови лизоцима могут свидетельствовать о повышенном расходе фермента вследствие усиления антигенного воздействия.

Значительное повышение содержания лейкоцитов, нейтрофилов, IL-1 β , общей гемолитической активности комплемента, активация гуморального иммунитета, более высокие титры естественных и специфических антител у крыс из опытных групп могли указывать на развитие воспалительного процесса (33). Это подтверждалось положительной реакцией на С-реактивный белок, служащий маркером острой фазы воспаления, который у крыс из опытных групп был выявлен соответственно в титрах 1:3,0; 1:2,6; 1:4,7 и 1:5,2. При этом установлено, что только заражение крыс на фоне интоксикации инициировало синтез С-реактивного белка, что не наблюдается при введении Т-2 токсина (34) или инфицировании сальмонеллами (35) по отдельности.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что заражение белых крыс сальмонеллами на фоне подострой интоксикации Т-2 токсином сопровождалось существенными изменениями гемоморфологического и иммунного статуса. Появление выраженной нейтрофилии сочеталось с достоверным (в 2,3-2,4 раза) увеличением концентрации IL-1 β в крови. Незначительное повышение у животных гуморального (БАСК) неспецифического иммунитета было обусловлено синергидным действием токсина и возбудителя инфекции.

Возрастание активности КАСК, возможно, было связано с тем, что система комплемента представляет собой сложную многокомпонентную биологическую структуру, способную к саморегуляции в случаях воздействия химических и биологических факторов. Показано, что Т-2 токсин ингибирует неспецифический ответ посредством снижения экспрессии молекул TLR (toll-like receptor) на поверхности иммунокомпетентных клеток (36).

В наших опытах у белых крыс наблюдались повышение титра естественных антител, значительное снижение ФАЛ, ФЧ, ФИ, а также содержания лизоцима, служащих первой линией защиты организма, и выраженное угнетение системы Т-лимфоцитов, особенно у животных, инфицированных более высокой дозой сальмонелл. Уменьшение количества Т-клеток сочеталось с более низкой концентрацией в крови IL-2.

Введение крысам сальмонелл на фоне интоксикации способствовало повышению дифференцировки (доли) В-лимфоцитов, концентрации общих иммуноглобулинов в крови и индукции противосальмонеллезных антител. При высокой дозе токсина у животных была отмечена более выраженная поликлональная стимуляция гуморального иммунитета, однако ухудшалась продукция специфических антител, на что влияло также наличие приобретенного Т-дефицита.

Кроме того, мы отмечали положительную связь между содержанием интерлейкинов (IL-1 β , IL-2 и IL-4) и соответствующими показателями иммунного статуса животных. В крови у подопытных крыс появлялся С-реактивный белок, указывающий на развитие воспалительного процесса.

Таким образом, в условиях смоделированного токсикантом и потенциальным патогеном экологического неблагополучия у белых крыс наблюдается дисбаланс в функционировании защитных систем организма, который характеризуется угнетением синтеза белка, Т-звена иммунной системы, биосинтеза IL-2, фагоцитоза, повышением катаболизма иммуноглобулинов, лизоцима и, напротив, увеличением содержания белков системы комплемента (общая гемолитическая активность комплемента),

IL-1 β , а также активацией гуморального иммунитета, продукцией IL-4, лейкоцитозом, нейтрофилией и биосинтезом острофазных белков — СРБ (С-реактивный белок).

ЛИТЕРАТУРА

1. Смирнов А.М. Экологические проблемы ветеринарной медицины и пути их решения. Мат. Межд. координ. совещ. «Экологические проблемы патологии, фармакологии терапии». Воронеж, 1997: 8-11.
2. Идрисов Г.З. Антропогенные факторы и их влияние на организм. Мат. Всероссийской науч.-практ. конф. «Агроэкологические проблемы сельскохозяйственного производства в условиях техногенного загрязнения агроэкосистем». Казань, 2002, ч. II: 245-248.
3. Грудина Н.В., Бастркова Л.А., Исакова В.Н., Бастркова Л.А., Исакова В.И., Саруханов В.Я., Козлов В.А., Жуков И.В. Оценка состояния здоровья животных, содержащихся на территориях, загрязняемых тяжелыми металлами. Мат. Всероссийской науч.-практ. конф. «Агроэкологические проблемы сельскохозяйственного производства в условиях техногенного загрязнения агроэкосистем». Казань, 2002, ч. II: 248-252.
4. Донник И.М., Исаева А.Г. Оценка здоровья сельскохозяйственных животных при техногенном загрязнении среды. Мат. Всероссийской науч.-практ. конф. «Агроэкологические проблемы сельскохозяйственного производства в условиях техногенного загрязнения агроэкосистем». Казань, 2002, часть II: 253-255.
5. Донник И.М., Мымрин В.С., Лоретц О.Г., Лиходеевская О.Е., Барашкин М.И. Влияние инбридинга на молочную продуктивность, качество молока и воспроизводительную способность коров. Аграрный вестник Урала, 2013, 5(111): 15-19.
6. Oswald I.P., Marin D.E., Bouhet S., Pinton P., Taranu I., Accensi F. Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals. Food Additives & Contaminants, 2005, 22(4): 354-360 (doi: 10.1080/02652030500058320).
7. Vandebroucke V. Double trouble: interactions between deoxynivalenol and the pathogenesis of *Salmonella typhimurium* infections in pigs. Zelzate, 2011.
8. Vandebroucke V., Croubels S., Martel A., Verbrugghe E., Goossens J., Van Deun K., Boyen F., Thompson A., Shearer N., De Backer P., Haesebrouck F., Pasmans F. The mycotoxin deoxynivalenol potentiates intestinal inflammation by *Salmonella typhimurium* in porcine ileal loops. PLoS ONE, 2011, 6(8): 1-8 (doi: 10.1371/journal.pone.0023871).
9. Waldemarson A.H., Hedenqvist P., Salomonsson A.-C., Haggblom P. Mycotoxins in laboratory rodent feed. Laboratory Animals, 2005, 39: 230-235 (doi: 10.1258/0023677053739819).
10. Fung F., Clark R.F. Health effects of mycotoxins: a toxicological overview. J. Toxicol. Clin. Toxicol., 2004, 42(2): 217-234 (doi: 10.1081/clt-120030947).
11. Schothorst R.C., van Egmond H.P. Report from SCOOP task 3.2.10 «collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states»: Subtask: trichothecenes. Toxicol. Lett., 2004, 153: 133-143 (doi: 10.1016/j.toxlet.2004.04.045).
12. Li M., Harkema J.R., Islam Z., Cuff C.F., Pestka J.J. T-2 toxin impairs murine immune response to respiratory reovirus and exacerbates viral bronchiolitis. Toxicol. Appl. Pharmacol., 2006, 217: 76-85 (doi: 10.1016/j.taap.2006.08.007).
13. Kamalavenkatesh P., Vairamuthu S., Balachandran C., Murali Manohar B., Dhinakar Raj G. Immunopathological effect of the mycotoxins cyclopi-azonic acid and T-2 toxin on broiler chicken. Mycopathologia, 2005, 159: 273-279.
14. Meissonnier G.M., Laffite J., Raymond I., Benoit E., Cossalter A.-M., Pinton P., Bertin G., Oswald I.P., Galtier P. Subclinical doses of T-2 toxin impair acquired immune response and liver cytochrome P450 in pigs. Toxicology, 2008, 247: 46-54 (doi: 10.1016/j.tox.2008.02.003).
15. Шахов А.Г., Аргунов М.Н., Бузлама В.С. Экологические проблемы здоровья животных. Ветеринария, 2003, 5: 3-6.
16. Шахов А.Г., Аргунов М.Н., Бузлама В.С. Защита продуктивного здоровья животных в условиях техногенных загрязнений. Зоотехния, 2003, 2: 21-24.
17. Tersago K., De Coen W., Scheirs J., Vermeulen K., Blust R., Van Bockstaele D., Verhagen R. Immunotoxicology in wood mice along a heavy metal pollution gradient. Environ. Pollut., 2004, 132(3): 385-394 (doi: 10.1016/j.envpol.2004.05.029).
18. McManus J., Huebner K. M. Vesicants. Crit. Care Clin., 2005, 21(4): 707-718 (doi: 10.1016/j.ccc.2005.06.005).
19. Gerlach R., Hensel M. Salmonella pathogenicity islands in host specificity, host patho-

- gen-interactions and antibiotics resistance of *Salmonella enterica*. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr, 2007, 120(7-8): 317-327.
20. Чайникова И.Н. Информативность иммунологических показателей и биологических свойств сальмонелл при прогнозировании исхода сальмонеллезной инфекции. Вестник ОГУ (Оренбург), 2005, 12: 58-62.
 21. Lawley T., Bouley D., Hoy Y. Host transmission of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is controlled by virulence factors and indigenous intestinal microbiota. Infect. Immun., 2008, 76(1): 403-416 (doi: 10.1128/IAI.01189-07).
 22. Coburn B., Grassl G., Finlay B. *Sallmonella*, the host and disease: a brief review. Immunol. Cell. Biol., 2007, 85(12): 112-118 (doi: 10.1038/sj.icb.7100007).
 23. ГОСТ Р53434-2009. Принципы надлежащей лабораторной практики. М., 2009.
 24. Шахов А.Г., Бригадиров Ю.Н., Ануфриев А.И., Бирюков М.В., Першина С.И., Кардашов А.М., Петрова М.Г., Батищева Е.В., Бузлама В.С., Беляев В.И., Матюшевский Л.А., Федоров Ю.Н., Аргунов М.Н., Панин А.Н., Калюжный И.И., Донник И.М., Татарчук А.Т., Горлов И.Ф., Балакирев Н.А., Майоров А.И., Емельяненко П.А., Кириллов А.К., Майоров М.А., Горячев А.А., Евдокимов В.В., Воронин Е.С., Мамаев Н.Х., Джамалудинова И.Н., Сисягин П.Н., Исаев В.В., Реджепова Г.Р., Горбунов А.П., Бояринцев Л.Е., Клименко В.В., Топурия Г.М., Топурия Л.Ю., Жуков А.П. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных. В сб.: Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. М., 2007, ч. III: 174-215.
 25. Шахов А.Г., Масьянов Ю.Н., Рецкий М.И., Бригадиров Ю.Н., Ануфриев А.И., Бирюков М.В., Першина С.И., Кардашов А.М., Петрова М.Г., Батищева Е.В., Беляев В.И., Золотарев А.И., Близначева Г.Н., Бузлама В.С., Сулейманов С.М., Федоров Ю.Н., Борзенко Е.В., Ханис А.Ю., Борзенко Т.В., Артемов Б.Т., Ефанова Л.И., Манжурина О.А., Панин А.Н., Макаров Ю.А., Донник И.М., Татарчук А.Т., Горлов И.Ф., Балакирев Н.А., Майоров А.И., Емельяненко П.А., Кириллов А.К., Майоров М.А., Горячев А.А., Евдокимов В.В., Воронин Е.С., Сисягин П.Н., Исаев В.В., Реджепова Г.Р., Каверин Н.Н., Артемьева С.С., Топурия Г.М., Топурия Л.Ю., Жуков А.П., Калюжный И.И., Мамаев Н.Х., Джамалудинова И.Н. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных. В сб.: Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. М., 2007, ч. III: 216-291.
 26. Weaver D.M., Tyler J.W., Van Metre D.C., Hostetler D.E., Barrington G.M. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. J. Vet. Int. Med., 2000, 14: 469-577 (doi: 10.1111/j.1939-1676.2000.tb02278.x).
 27. Сидоров М.А., Скородумов Д.И., Федотов В.Б. Определитель зоопатогенных микроорганизмов. М., 1995.
 28. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. СПб, 2002.
 29. Parent-Massin D. Haematotoxicity of trichothecenes. Toxicol. Lett., 2004, 153: 75-81 (doi: 10.1016/j.toxlet.2004.04.024).
 30. Humery N., Léon K., Carpentier F.-G., Jung J.-L., Parent-Massin D. T-2 toxin inhibits the differentiation of human monocytes into dendritic cells and macrophages. Toxicology in Vitro, 2009, 23: 509-519 (doi: 10.1016/j.tiv.2009.01.003).
 31. Minervini F., Fornelli F., Lucivero G., Romano C., Visconti A. T-2 toxin immunotoxicity on human B and T lymphoid cell lines. Toxicology, 2005, 210: 81-91 (doi: 10.1016/j.tox.2005.01.007).
 32. Rocha O., Ansari K., Doohan F.M. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review. Food Addit. Contam., 2005, 22: 369-378 (doi: 10.1080/02652030500058403).
 33. Ravindrana J., Agrawal M., Guptab N., Lakshmana Rao P.V. Alteration of blood brain barrier permeability by T-2 toxin: Role of MMP-9 and inflammatory cytokines. Toxicology, 2010, 280: 44-52 (doi: 10.1016/j.tox.2010.11.006).
 34. Dyck R.F., Issa M.I.C., Rogers S.L., Murphy F., Khachatourians G.G. The effect of T-2 toxin on the acute phase reaction in mice. Journal of American College of Toxicology, 1985, 4(1): 71-78 (doi: 10.3109/10915818509014506).
 35. Шахов А.Г., Сашнина Л.Ю., Масьянов Ю.Н., Востроилова Г.А., Ерина Т.А. Гемоморфологический и иммунный статус при экспериментальной инфекции белых крыс, вызванной *Salmonella cholerae suis*. В сб. науч. трудов ФГБОУ ВПО НГСХА, представленных на 2-й сессии Межд. науч.-практ. конф. «Популяционное здоровье животных и эмерджентные инфекции в современных условиях» /Под ред. В.В. Сочнева. Н. Новгород, 2015, ч. 1: 499-506.
 36. Seeboth J., Solinhac R., Oswald I.P., Guzylack-Piriou L. The fungal T-2 toxin alters the activation of primary macrophages induced by TLR-agonists resulting in a de-

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский
ветеринарный институт патологии, фармакологии
и терапии Россельхозакадемии,
394087 Россия, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-б,
e-mail: A.G.Shakhov@mail.ru, L.Yu.Sashnina@mail.ru, nivipat@mail.ru,
irentaf@mail.ru

Поступила в редакцию
24 февраля 2015 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya/Agricultural Biology, 2015, V. 50, № 2, pp. 245-254

IMMUNE STATUS OF ALBINO RATS UNDER EXPERIMENTAL INFECTION CAUSED BY *Salmonella cholerae suis* AT SUBACUTE T-2 TOXICOSIS

A.G. Shakhov, L.Yu. Sashnina, Yu.N. Mas'yanov, G.A. Vostroilova, I.Yu. Tafintseva

All-Russian Research Veterinary Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Russian Academy of Agricultural Sciences, 114-b, ul. Lomonosova, Voronezh, 394087 Russia, e-mail A.G.Shakhov@mail.ru, L.Yu.Sashnina@mail.ru, nivipat@mail.ru, irentaf@mail.ru

Received February 24, 2015

doi: 10.15389/agrobiology.2015.2.245eng

Abstract

Modern animal husbandry is faced with ecological problems, caused by micotoxine feed contamination, presence of potentially pathogenic microorganisms (*Escherichia*, *Salmonella*, coccal microflora, etc.) and various xenobiotics of physical and chemical nature in the animal environment. Total impact of commercial farm immunopathogenic factors on the animals is of particular concern. Therefore, combination of T-2 toxin and *Salmonella cholerae suis* impact on the albino rats' immune status was experimentally studied. The researches made stated that salmonella contamination against the background of subacute T-2 toxin was accompanied by significant changes of gemomorphological and immune statuses. Evident neutrophilia onset in animals was accompanied by IL-1 β concentration increase. Insignificant increase of humoral (serum bactericidal activity, SBA) nonspecific immunity was determined by synergistic effect of toxin and infectious agent. Complementary blood serum activity, which was necessary for the increase of organism's resistance to intoxication, increased in proportion to the toxin and salmonella doses increase. Contamination of albino rats by both doses of infectious agent against the background of T-2 toxicosis was accompanied by the increase in preantibodies titer, significant decrease in phagocytic activity of leukocytes (PAL), phagocytic number (PN), phagocytic index (PI), and also in lysozyme content, which were the first line of organism protection, and evident suppression of T-lymphocytes, especially in animals, induced by a higher dose of salmonella. The decrease of T-cells number was accompanied by a lower IL-2 blood concentration. T-2 fed to rats against the background of salmonella intoxication promoted enhancement of humoral immunity stimulation. It was accompanied by the increase of B-lymphocytes (percent) differentiation, blood concentration of common immunoglobulins and induction of anti-salmonella antibodies and was also accompanied by C-reactive protein appearance in blood, which revealed inflammatory process development. The obtained experimental data prove an imbalance between functioning of the animals' protective systems under ecological problems simulated by toxicant and potential pathogen, which are characterized by suppression of protein synthesis, T-link of the immune system, decrease of IL-2 level, phagocytosis, increase of immunoglobulins catabolism, lysozyme and per contra by the increase of complement system proteins content, IL-1 β , activation of humoral immunity, IL-4 production, leukocytosis, neutrophilia and acute-phase protein biosynthesis (APPB).

Keywords: albino rats, T-2 toxin, salmonella, cytokines, T- and B-lymphocytes, antibodies, phagocytosis, whole protein, protein fractions, blood cells, natural resistance, C-reactive protein.

Научные собрания

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

«АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ BIOTEХНОЛОГИИ В АГРАРНО-ПРОМЫШЛЕННОМ КОМПЛЕКСЕ»

(26-27 ноября 2015 года, г. Минск, Республика Беларусь)

Организатор: РУП Институт экспериментальной ветеринарии
им. С.Н. Вышелесского

Контакты и информация: bievmtut@tut.by

