

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



РУСАКОВА ЯНИНА ЛЕОНИДОВНА

ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЫШЕЙ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВИРУСНОМ ЛЕЙКОЗЕ

06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,
микология с микотоксикологией и иммунология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель –
доктор биологических
наук, профессор
Магер Сергей Николаевич

Новосибирск - 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Модель ретровирусного лейкоза.....	13
1.2. Вирусный лейкомогенез.....	14
1.3. Теоретическое обоснование применения препарата субалин для лечения вирусного лейкоза.....	20
1.4. Теоретическое обоснование применения мезенхимальных стволовых клеток.....	25
1.5. Строение лимфатической системы у мышей. Периферические органы иммунной системы.....	28
1.6. Строение и функции лимфоузла у мышей.....	29
1.7. Строение и функция селезенки у мышей.....	33
1.8. Резюме.....	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	39
2.1. Объект исследования.....	39
2.2. Методика заражения мышей вирусом лейкоза Раушера.....	42
2.3. Методика получения мезенхимальных стволовых клеток.....	43
2.4. Методика оценки пролиферативной активности спленоцитов у мышей.....	45
2.5. Гематологические исследования.....	46
2.6. Морфометрия и световая микроскопия.....	49
2.7. Статистическая обработка.....	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	53
3.1. Динамика изменений гематологических, иммунологических и морфологических показателей при экспериментальном лейкозе Раушера у мышей BALB/c.....	53

3.1.1. Изменение гематологических показателей при введении антигена – вируса лейкоза Раушера.....	54
3.1.2. Морфофункциональное исследование медиального подвздошного лимфатического узла у контрольной группы животных. Динамика морфологических изменений лимфоузла при экспериментальном лейкозе Раушера.....	56
3.1.3. Динамика морфологических изменений селезенки при экспериментальном лейкозе Раушера.....	65
3.1.4. Резюме.....	76
3.2. Изменение иммунологических, гематологических и морфологических показателей на введение препарата субалин при экспериментальном лейкозе Раушера у мышей BALB/c.....	79
3.2.1. Изменение гематологических показателей в группах Субалин и Антиген + Субалин.....	80
3.2.2. Морфофункциональное исследование медиального подвздошного лимфатического узла у животных опытной группы Субалин и Антиген + Субалин. Динамика морфологических изменений этих групп...83	83
3.2.3. Морфофункциональное исследование селезенки у животных опытных групп Субалин и Антиген + Субалин.....	90
3.2.4. Резюме.....	101
3.3. Изменение иммунологических, гематологических и морфологических показателей на введение мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальном лейкозе Раушера у мышей BALB/c	103
3.3.1. Изменение гематологических показателей в группах Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки.....	104
3.3.2. Морфофункциональное исследование медиального подвздошного лимфатического узла у животных опытной группы Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки	107

3.3.3. Морфофункциональное исследование селезенки у животных опытных групп Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки.....	115
3.3.4. Резюме.....	126
3.4. Применение биологически активных препаратов в борьбе с лейкозом крупного рогатого скота.....	129
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	132
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	137
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	161
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	165
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	187

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Экспериментальная модель ретровирусного лейкоза является рабочей моделью для изучения общих механизмов персистенции ретровируса и потенциальных новых методов лечения и профилактики ассоциированных с вирусами опухолевых заболеваний (Allen L. B., Quenelle D. C., Westbrook L. et al, 1995; Butenko Z. A., Naumenko O. I., 1993; Chau F., Levacher-Clergeot M., Desforges B. et al, 1993). Воспроизведенное на экспериментальных животных заболевание позволяет изучать все новые аспекты вирусного канцерогенеза, выявлять особенности взаимодействия между иммунокомпетентными клетками животных и вирусами, разрабатывать эффективные средства профилактики и лечения.

Одно из направлений в лечении вирусных иммунодефицитов и гемобластозов человека и животных – это исследования воздействия биологически активных препаратов, в том числе пробиотиков. Спорные микроорганизмы, такие как *Bacillus subtilis*, остаются в зоне интереса исследователей разных стран (Бельтюкова З. Н., Окулова И. И., Березина Ю. А. и др., 2018; Белявская В. А., Игнатъев Г. Г., Чердынцева Н. В. и др., 2001; Литвяков, Н. В., 2002; Смирнов В. В., Коваленко Н. К., 2002; Чудновская Н. В., Рыбалко С. Л., Сорокулова И. Б. и др., 1995; Eid P., Meritet J. F., Maury C., 1999). Эти бактерии используют как систему доставки в макроорганизм профилактических и лечебных субстанций различного происхождения. Большой интерес из них вызывает пробиотик субалин. Другое перспективное направление исследования – клеточная терапия гемобластозов и вирусных заболеваний (Афанасьев Б. Ф., Зубаровская Л. С., Моисеев И. С., 2015; Aggarwal S., Pittenger M. F., 2005; Carlo-Stella C., Nicola M. Di, Gianni M. A., 2002). Наиболее сложными в плане изучения и, как следствие, спорными являются вопросы исследования роли стволовых клеток при использовании их *in vivo*. Чтобы оценить иммуномодулирующий потенциал препарата субалин и мезенхимальных стволовых клеток при ретровирусной инфекции, актуальным для изучения являются изменения, происходящие в крови,

лимфатических узлах и в селезенке инфицированных вирусом лейкоза мышей при введении им указанных препаратов. Безусловно, гаммаретровирусы, к которым относится вирус мышинного лейкоза, отличаются от наиболее интересующих нас дельтаретровирусов (*Bovine leukemia virus (BLV)*) в последовательности вирусного генома и вирусных онкогенов, диапазоне естественных хозяев, антигенных свойствах. Тем не менее, модель экспериментального ретровирусного лейкоза мышей позволяет изучать патогенез этого заболевания *in vivo*, реакцию иммунной системы животных в ответ на вирусное воздействие, помогает понять развитие инфекционного процесса при лейкозе крупного рогатого скота и способах воздействия на него.

При изучении литературы по данной тематике мы не нашли опубликованных в доступных источниках информации об изменениях, происходящих в крови и лимфоидных органах у животных, отражающих иммунопатологические процессы при длительном течении экспериментального ретровирусного лейкоза. Так же нам не встретилось сообщений, о применении мезенхимальных стволовых клеток или субалина на модели ретровирусного лейкоза мышей. Мы полагаем, что наше исследование поможет в изучении иммунного ответа организма животных при развитии вирусного лейкоза. На основании полученных данных мы сможем на модели экспериментального лейкоза оценить иммуномодулирующий потенциал препарата субалин и мезенхимальных стволовых клеток.

Степень разработанности темы. Интерес к экспериментальной модели ретровирусных заболеваний животных с целью изучения механизмов вирусного канцерогенеза, а также для разработки и применения препаратов различного происхождения в борьбе с лейкозом нашел свое отражение в многочисленных исследованиях российских и зарубежных авторов. Значительное число научных работ, связанных с экспериментальным лейкозом Раушера направлено на исследование таких ретровирусных заболеваний как Human immunodeficiency virus types 1 (HIV-1), Human immunodeficiency virus types 2 (HIV-2) (Allen L. B., Quenelle D. C., Westbrook L. et al., 1995). Несмотря на то, что в семействе ретровирусов вирус иммунодефицита человека (HIV), вирус лейкоза крупного

рогатого скота (BLV), вирус лейкоза кошек (Feline Leukemia virus (FeLV)) и мышинные лейкозы относятся к разным родам, в многочисленных работах исследователей отмечается сходство происходящих иммунопатологических процессов, а некоторые авторы (Генджиева О. Б., 2012) указывают на их прямое филогенетическое сходство.

Изучение отечественной и зарубежной научной литературы по теме диссертации показало, что большинство трудов, описывающих изменения при вирусном лейкозе Раушера относятся к 60 – 80-м годам прошлого столетия (Околелов В. И., Зорина Н. Р., Капочкин В. Ф., 2005; Lobue J., 1984; Umar M. H., 1977). Между тем, к настоящему времени появились новые аспекты, возможности и методы исследования этой экспериментальной модели.

Постоянно совершенствуются иммуномодуляторы, содержащие живые культуры клеток; активно исследуется возможность их применения для улучшения статуса инфицированных вирусными иммунодефицитами и гемобластозами (людей и животных) (Чердынцева Н. В., Литвяков Н. В., Смольянинов Е. С. и др., 1999; Happel A. U., Barnabas S. L., Froissart R. et al., 2018; Kazemi A., Djafarian K., Speakman J. R. et al., 2018; Medaglini D., Pozzi G., King T. P. et al., 1995; Scheri G. C., Fard S. N., Schietroma I. et al., 2017). Много научных трудов посвящено изучению биологической безопасности при применении препарата субалин® (Белявская В. А., Игнатъев Г. Г., Чердынцева Н. В. и др., 2001; Белявская В. А., Чердынцева Н. В., Бондаренко В. М. и др., 2003; Литвяков Н. В., Чердынцева Н. В., Белявская В. А. и др., 2001). При работе над диссертацией мною изучены коллективные труды и отдельные монографии ученых. В них освещаются вопросы безвредности при разных способах введения и иммуномодулирующее действие рекомбинантного пробиотического штамма *Bacillus subtilis* (B. Subtilis) (Смирнов В. В., Белявская В. А., Ильичев А. А. и др., 1994; Чердынцева Н. В., Литвяков Н. В., Смольянинов Е. С. и др., 1999; Чудновская Н. В., Рыбалко С. Л., Сорокулова И. Б. и др., 1995).

Мнения отечественных и зарубежных исследователей относительно применения клеточной терапии (эффект воздействия клеток-предшественников) в

борьбе с лейкозом очень различны. Известно, что в гуманной медицине для лечения апластических анемий у детей до пятнадцатилетнего возраста, а также наследственных заболеваний крови, иммунной системы применяют пересадку гемопоэтических стволовых клеток костного мозга (она является основным методом лечения подобных патологий (Позднякова О. О., Петере К., Скоробогатова Е. В., 1997; Румянцев А. Г., Масчан А. А., 2003). В экспериментальных работах Iwai H. (Iwai H., Day N. K., Hamada N., et al., 1994) показано, что при трансплантации костного мозга от устойчивых линий мышей-доноров восприимчивым мышам-реципиентам (предварительно инфицированным вирусом лейкоза Раушера) ретровирусная инфекция развивалась медленнее, срок жизни таких мышей увеличивался.

Дискуссионность проблематики, недостаточная исследованность возможности применения этих биологически активных препаратов для стимуляции иммунной системы животных при ретровирусном лейкозе, предопределили цель, задачи, объект и предмет данного диссертационного исследования.

Цель и задачи исследования. Оценить влияние пробиотика субалина и мезенхимальных стволовых клеток на иммунный статус мышей с экспериментальным лейкозом Раушера.

В соответствии с целью работы были поставлены следующие задачи:

1. Изучить динамику гематологических, иммунологических показателей и морфофункциональных изменений лимфоидных органов у мышей BALB/c при длительном течении экспериментального вирусного лейкоза.
2. Изучить влияние пробиотика субалина на морфологические показатели крови и морфофункциональные изменения органов периферической иммунной системы у интактных и инфицированных вирусом лейкоза Раушера мышей.
3. Изучить воздействие мезенхимальных стволовых клеток на показатели крови, а также на морфофункциональные изменения лимфатических узлов и селезенки при развитии вирусного лейкоза Раушера у мышей BALB/c.

Научная новизна. Научная новизна исследования определяется недостаточной изученностью процессов взаимодействия ретровирусов с организмом животных на клеточном, тканевом уровне и при применении биологически активных иммуномодулирующих препаратов (субалина и мезенхимальных стволовых клеток). Наиболее существенные результаты исследования, обладающие научной новизной и полученные лично соискателем, касаются следующих вопросов:

1) впервые выявлены закономерности гематологических изменений в гиперпластическом и терминальном периоде длительно протекающего вирусного лейкоза (нарастающая эритропения и лейкопения, появление юных клеток в раннем периоде; нейтропения, увеличение дегенеративного сдвига, лимфоцитопения, эозинофилия и моноцитоз в терминальном периоде); изучены морфофункциональные изменения лимфоузлов и селезенки; исследована пролиферативная активность спленоцитов у инфицированных мышей;

2) впервые исследована терапевтическая эффективность при парентеральном применении препарата субалин в условиях ретровирусного лейкоза Раушера (RLV), включающая оценку морфофункциональных изменений органов периферической иммунной системы. Выявлено повышение спонтанной, Con A и PWM пролиферативной активности спленоцитов, выравнивание гематологических показателей и лейкопоза, усиление лимфоцитпродуцирующей функции лимфатических узлов.

3) впервые проанализирован иммуномодулирующий потенциал мезенхимальных стволовых клеток, оценена возможность применения их иммуномодулирующего эффекта у животных (на модели мышей BALB/c) в условиях вирусного лейкоза. На основании морфофункциональных исследований лимфоидных органов выявлено отсутствие выраженного иммуностимулирующего действия мезенхимальных стволовых клеток в условиях вирусного лейкоза Раушера, при этом показан явный сдерживающий эффект развития заболевания, что подтверждается достоверными различиями в гиперпластическом и

терминальном периоде массы селезенки инфицированных мышей, получавших и не получавших клеточный препарат.

Показано иммуностимулирующее действие стволовых клеток на интактных животных, что проявлялось активизацией герминативных центров селезенки, увеличением Т-зависимых зон лимфоидных органов и количества клеток плазматического ряда, усилением пролиферации спленоцитов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Получены новые научные знания о гематологических, иммунологических и морфофункциональных изменениях, происходящих в лимфоидных органах у мышей BALB/c при длительно протекающем экспериментальном вирусном лейкозе.

Результаты, полученные при изучении влияния иммуномодулирующего препарата субалин и мезенхимальных стволовых клеток на иммунную систему мышей BALB/c при экспериментальном вирусном лейкозе Раушера, могут служить морфологической основой для дальнейших теоретических и клинических исследований функционального состояния иммунной системы и корректировки иммунодефицитных состояний при ретровирусных инфекциях животных.

Результаты, полученные на экспериментальной модели, могут быть использованы для определения направлений научных исследований по патогенезу развития ретровирусных инфекций, при которых основной мишенью является иммунная система животных.

Разработаны рекомендации «Применение препарата Субалин для повышения иммунного статуса телят в хозяйствах неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота», внедрены в производственную деятельность ЗАО «Озёрское», ОАО «Решетовское» и ООО «Ярковское» Новосибирской области.

Методология и методы исследования. При проведении исследований автором были применены известные клинические методы: рутинные методы общего клинического анализа крови, морфометрическое исследование лимфоидных органов. Также были использованы вирусологические методы (эпизоотологический эксперимент), иммунологический метод (исследование

функциональной активности спленоцитов) и статистические методы (кривая выживаемости, метод доверительных интервалов).

Положения, выносимые на защиту.

1. Вирус лейкоза Раушера может вызывать длительное течение заболевания с прогрессирующей иммуносупрессией, которая подтверждается изменениями гематологических, иммунологических показателей и морфофункциональной перестройкой лимфоидных органов у мышей BALB/c .
2. Иммуномодулирующее действие препарата субалин у интактных мышей и мышей, зараженных вирусом лейкоза Раушера, подтверждается морфофункциональной перестройкой лимфоидных органов и крови животных.
3. Смесь клеток костного мозга, содержащая мезенхимальные стволовые клетки, ингибирует развитие RLV у мышей, при этом по-разному влияет на иммунную систему организма у интактных и инфицированных вирусом экспериментального лейкоза животных. Это различное влияние отражается в изменениях морфологических и иммунологических показателей мышей.

Вклад автора. Диссертационная работа была выполнена автором на кафедре хирургии и внутренних незаразных болезней Новосибирского государственного аграрного университета (НГАУ) в соответствии с планом научно-исследовательской работы. Часть исследований проводили на базе Лаборатории лейкозов института экспериментальной ветеринарии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского федерального научного центра агробιοтехнологий Российской академии наук (ФГБУ СФНЦА РАН) и лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии (ЛЭХиМ ФГБУ «НМИЦ им.ак. Е.Н. Мешалкина» МЗ РФ) Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр им. ак. Е. Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (заведующий лабораторией – кандидат биологических наук (к.б.н.) Сергеевичев Д.С.). Основные результаты получены автором самостоятельно. Автор лично принимал активное участие на всех этапах исследования. Препарат субалин был

любезно предоставлен доктором биологических наук (д.б.н.), профессором Белявской В. А.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов, полученных в диссертационной работе, обоснована применением актуальной научно-методической базы, использованием современных методов исследования и сертифицированного оборудования. Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на международной научно-практической конференции «Кормопроизводство, продуктивность, долголетие и благополучие животных» (Новосибирск, 2018г.), на XIV международной научно-практической конференции «Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям» памяти академика Ю. И. Бородина (Новосибирск, 2021 г.), на конкурсе-конференции на лучшую работу среди аспирантов и молодых ученых факультета ветеринарной медицины НГАУ (Новосибирск, 2021г). По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, в том числе 10 из них в журналах из списка, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка иллюстративного материала и приложения. Работа изложена на 193 страницах, содержит 20 рисунков и 26 таблиц. Список литературы содержит 182 источника, в том числе 120 иностранных.

Автор выражает искреннюю признательность научному руководителю д.б.н., профессору Магеру С. Н. Выполнение диссертационной работы была бы невозможно без профессиональной поддержки и активного участия в исследовании пролиферативной активности спленоцитов кандидата медицинских наук (к.м.н.) Колесниковой О. П., в морфологическом исследовании лимфоидных органов к.б.н. Казакова О. В., а также без всесторонней поддержки сотрудников ЛЭХиМ (Подхватилиной Н. А., Васильевой М. Б., Чепелевой Е. В., Костиной Р. Н.). Всем им автор выражает искреннюю признательность и благодарность.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Модель ретровирусного лейкоза

Для изучения особенностей развития иммунологических, гематологических и морфофункциональных изменений после инфицирования организма ретровирусами очень удобной моделью являются мыши чувствительных линий (Roberts M. S., Harvey J. J., Macatonia S. E. et al., 1993). Преимущество модели вирусного лейкоза мышей для изучения ретровирусной инфекции человека и животных очевидно, так как позволяет в быстрые сроки и на большом количестве животных изучать иммунологические изменения на протяжении всего периода развития заболевания. Нельзя отрицать ценность данной модели для понимания ретровирусных инфекций, а также для поиска и разработки наиболее эффективных методов терапевтического вмешательства или коррективки иммунных нарушений у животных и человека (Roberts M. S., Harvey J. J., Macatonia S. E. et al., 1993; Ruprecht R. M., 1989 и др.). Модель вирусного лейкоза Раушера широко используется для этих целей исследователями разных стран (Allen L. B., Quenelle D. C., Westbrook L., 1995; Okunewick P., Kociban D. L., Machen L. L., 1994; Ruprecht, R. M. 1989 и др.) для изучения ретровирусных заболеваний человека (Black P. L., McKinnon K. M., Wooden S. L. et al., 1996; Okunewick J. P., Meredith R. F., Brozovich B. J., et al., 1980) и животных (Glasgow L. A., Friedman S. B., 1969; Scheinberg D. A., Strand M., 1982), в том числе, для изучения клеточной терапии лейкозов (Okunewick J. P., Meredith R. F., Brozovich B. J. et al., 1979).

Вирус лейкоза Раушера (RLV) принадлежит семейству Retroviridae (порядок Orthovirales), подсемейству Orthoretrovirinae, роду Gammaretrovirus, вид Murine leukemia virus (по данным ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses). Как новый вид RLV был зарегистрирован в 1971 году и вместе с вновь открытыми вирусами Молони, Френда, Гросса, Граффи был включен в группу Leukovirus. Затем, на протяжении десятилетий, вирус лейкоза

Раушера несколько раз перемещали внутри семейства Retroviridae. Так в 1975 году голосованием на пленарном заседании ICTV вирус лейкоза Раушера включили в Тип C oncovirus group вместе с другими вирусами мышинных лейкозов. В 1976 году его переименовали в Murine sarcoma and leukemia virus, а в 1990 году название Тип C oncovirus group изменилось на Mammalian type C retrovirus group. С 1995 года вирус лейкоза Раушера стал называться Murine leukemia virus, а в 1998 году ввели название рода Gammaretrovirus. Историю таксономических преобразований RLV легко проследить на сайте Международного комитета по таксономии вирусов – International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV).

1.2. Вирусный лейкемогенез

Заболевание, вызываемое вирусным лейкозом Раушера у чувствительных мышей, характеризуется резкой стимуляцией кроветворения с массивной пролиферацией клеток красной пульпы селезенки с сопутствующим кровотечением, которое приводит к разрыву селезенки и смерти хозяина на ранней стадии развития заболевания (Rauscher, F. J., 1962; Siegler R., Rich M. A., 1964). Есть морфологические и химические исследования, доказывающие, что вирусы животных проникают в клетки-хозяева через виропексис (Dales S., Silverberg H., 1969; Koppenheffer T. L., Jr. Phillips J. H., Vankin G. L., 1978; Seman G., Dmochowski L., 1973). Ученые активно изучали связь процесса проникновения вируса с развитием самой инфекции в 60–70-е годы прошлого века, однако до конца это так и осталось не ясным (Morgan C., Rose H. M., Mednis B., 1968). Электронной микроскопией установлено, что через 8 часов после инфицирования RLV внутри или рядом с тромбоцитами в синусоидах и в вакуолях набухших выстилающих клеток печени обнаруживаются вирусные частицы С-типа. Затем, в период 8–72 часа, вирусные частицы не могут быть обнаружены. А с 3-го дня после инфицирования вновь образующиеся вирусные частицы лейкоза Раушера опять обнаруживаются в клетках печени (Umar M. H.,

1977). Аналогично присутствие вирионов С-типа обнаруживается в крови в тромбоцитах и свободных вирусных частиц в плазме через 8 ч. В период 8-72 часа вирионы не обнаруживаются, а через 72 ч вновь наблюдается появление вирионов в плазме. По данным ряда исследователей инфекция RLV во многом сходна с вирусной инфекцией Friend [92, 125]. Однако, в случае с лейкозом Раушера, клетками-мишенями для вируса (во всяком случае, в начальной фазе) являются клетки селезенки (Fink M. A., Malmgren R. A., 1963; Metcalf D., Furth J., Buffett R. F., 1959; Mirand E. A., Hoffman J. G., Grace J. T. Jr. et al., 1961; Rauscher, F. J., 1962; Siegler R., Rich M. A., 1964). Ультроструктурное изучение вирусной локализации показало, что в промежутке 6-24 ч после инъекции вирусосодержащего материала RLV частицы С-типа обнаруживаются в герминативных центрах селезенки и мезентериальных лимфатических узлов (Gabriolovich D. I., Patterson S., Harvey J. J. et al., 1994). Большинство вирусных частиц находятся внеклеточно между инфолдингами цитоплазматической мембраны антиген-удерживающих ретикулярных клеток (antigen-retaining reticular cells) – клеток, составляющих строму герминативного центра. Размножающиеся вирусные частицы С-типа обнаруживали в плазматической мембране иммунобластов через 24 часа после введения RLV, в то время как в других клетках герминативного центра (средних и малых лимфоцитах, ретикулярных клетках, макрофагах) частицы вируса отсутствовали (Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970). На важную роль герминативных центров лимфатической ткани в возникновении и развитии лейкозов указывают исследования многих ученых (Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970; Jerusalem C., 1969; Metcalf D., Furth J., Buffett R. F., 1959). Было продемонстрировано, что антиген-сохраняющие ретикулярные клетки герминативных центров создают микросреду, в которой антигены стимулируют фазу пролиферативного роста иммунобластов. В случае с лейкемогенезом у мышей BALB/c при введении RLV иммунобласты участвуют в вирусной репликации (Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970), могут мигрировать из герминативных центров в красную пульпу селезенки и мозговое вещество

лимфатических узлов (Cottier H., Keiser G., Odartchenko N. et al., 1967; Hanna M. G., 1964). Обнаружение антител в сыворотке и рост герминативных центров (гиперплазия иммунобластов) развиваются одновременно до пиковых уровней (Hanna M.G.Jr., Francis M.W., Peters L.C., 1968; Hanna M. G., Jr., Nettesheim P., Walburg H. E. Jr, 1969). Вирусные частицы С-типа обнаруживаются на всех этапах исследования в герминативных центрах лимфоузлов и селезенки, и количество их увеличивается по мере развития инфекции (Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970). По одним данным доза и штамм вируса играют роль в изменении ответа хозяина в отношении лимфоидной ткани (Yokoro K., Thorell B., 1966), по другим, более поздним, при 10 - и 100 - кратном разведении вируса достоверные отличия гистологической картины отсутствуют (Umar M. H. , 1977).

Можно полностью устранить раннюю летальность от лейкоза Раушера из-за разрыва селезенки с помощью предшествующей заражению спленэктомии, но болезнь будет все равно развиваться из-за наличия восприимчивых к вирусу клеток в других органах. Факт развития пролиферирующих очагов атипичных клеток в первую очередь в костном мозге (в случае отсутствия селезенки) подтверждает, что он и является местом первоначального ответа хозяина на вирусную инфекцию у спленэктомированных мышей (Umar M. H. , 1977). Сама болезнь по синтезу гемоглобина в измененных клетках сравнима с эритролейкемией человека и птиц (Cowles J., Saikkonen J., Thorell B., 1958).

В крови RLV-инфицированных мышей отмечают прогрессирующую анемию (которая начинается на 15-й день заражения), аномалии эритроцитов (полихроматофилия, диффузная базофилия, анизоцитоз, пойкилоцитоз), развитие выраженного эритробластоза (Yokoro K., Thorell B., 1966). Тромбоцитопения развивается уже через 8 часов после заражения (Umar M. H., 1977). При этом уровень лимфоцитов и гранулоцитов сохраняется в течение всего периода наблюдения. В некоторых случаях встречали легкий или умеренный лимфоцитоз, незрелые или атипичные лимфоидные клетки (Yokoro K., Thorell B., 1966).

Первые гистологические изменения связаны с гиперплазией паренхиматозных иммунобластов в герминативных центрах селезенки через 24 часа после введения RLV (Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970). Наибольшую гиперплазию герминативных центров Hanna, M. G. отмечает на 4-й день развития инфекции. А к 7-му дню гиперплазия герминативных центров достигает такой стадии, что фолликул разрушается. О таком диссоциативном росте герминативных центров все исследователи сообщают, как о характерных иммунных реакциях (Congdon C. C., Makinodan T., 1961; Frost S. D., McLean A. R., 1994; Hanna M. G., Jr., 1965). Появление иммунобластоподобных клеток, связанных с предшественниками эритроцитов, в красной пульпе селезенки, увеличение насыщенности клетками синусоидов отмечают на 3-й (Umar, M. H., 1977) или 7-й день (Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970). Масса селезенки увеличивается в 2 раза к 7-му дню, к 10-му дню в 3 раза, к 19-му в 10 раз, в терминальной стадии – в 30-50 раз (Dunn, T. V., 1963; Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970; Rauscher, F. J., 1962; Siegler R., Rich M. A., 1964; Umar, M. H., 1977). Увеличение происходит из-за гиперплазии кроветворных клеток, особенно под капсулой и вдоль перегородок, а также из-за застоя крови. В печени обнаруживаются интрасинусоидальные фокусы, состоящие главным образом из недифференцированных клеток, которые увеличиваются в количестве и размере. В период с 12-го по 19-й день наблюдения эти изменения продолжают усугубляться (Umar, M. H., 1977). Примечательно, что у мышей, которых инфицировали вирусом лейкоза Раушера после спленэктомии, к 20-му дню наблюдения развивалась гепатомегалия, экстрамедуллярное кроветворение вдоль воротных вен, накопление мегалобластоподобных и созревающих эритроидных клеток в синусоидальных пространствах. Это свидетельствует о наличии печеночного эритропоэза у таких мышей (по типу эмбрионального) (Otsuka H., Yagi H., Endo Y., 2011; Potter E. L., 1961; Yokoro K., Thorell B., 1966).

Гиперплазия герминативных центров с признаками диссоциативного роста в мозговой слой была отмечена и в мезентериальных лимфоузлах (Dunn, T. V.,

1963; Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970; Rauscher, F. J., 1962; Umar, M. H., 1977).

При RLV костный мозг является основной мишенью вируса, и изменения его ультраструктуры происходят уже в первые дни после инфицирования (Butenko Z. A., Naumenko O. I., 1993). Количество стволовых клеток (CFU-S, CFU-C, CFU-MK, CFU-E, BFU-E) уменьшается в костном мозге по невыясненным причинам (Lobue, J., 1984). Вирусные частицы С-типа обнаруживаются в костном мозге на 7-й день (Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970). Гистологические изменения в костном мозге становятся очевидными с 10-го дня после инфицирования: происходит инфильтрация базофильными лимфоидными клетками, гиперплазия гемопоэтических предшественников (Hanna M. G., Szakal A. K., Tyndall R. L., 1970; Umar, M. H., 1977).

Вирус-индуцированный лейкомогенез вызывает угнетение клеточного и гуморального иммунного ответа (Friedman H., Ceglowsky W. S., 1968; Millian S. J., Schaeffer M., 1968; Peterson R. D. A., Hendricson R., Good R. A., 1963; Salaman M. N., Wedderburn N., 1966; Siegel B. V., Morton J. I., 1966). D. Nanche (Nanche D., Oldstone M. B., 2000) в своем исследовании прослеживает сходство процессов угнетения иммунного ответа у восприимчивых к ретровирусному лейкозу видов мышей с иммунодепрессией, вызванной цитомегаловирусами, вирусами кори или иммунодефицита человека. Так, было выявлено, что вирусы RLV, которые заражают клетки костного мозга, находят специфически дифференцированные клетки-предшественники и выборочно разрушают гемопоэтические линии. На какой стадии дифференциации в костном мозге происходит заражение дендритных клеток-предшественников – не известно. Разрушение дендритных клеток начинается с ранних стадий инфицирования и играет существенную роль в угнетении иммунного ответа (так же как при LCMV- lymphocytic choriomeningitis virus). Ослабляется стимуляция Т-лимфоцитов (Gabriolovich D. I., Roberts M. S., Harvey J. J. et al., 1993; Gabriolovich D. I., Patterson S., Harvey J. J. et al., 1994). Вирус лейкоза Раушера инфицирует также периферические дендритные клетки.

При этом экспрессия адгезивных молекул последних снижается и миграция к лимфатическим узлам от резидентской ткани уменьшается (Gabriolovich D. I., Patterson S., Harvey J. J. et al., 1994; Roberts M. S., Harvey J. J., Macatonia S. E. et al., 1993).

Набор поверхностных антигенов стволовых клеток при эритролейкозе Раушера отличается от здоровых. При иммунологической идентификации зараженные RLV стволовые клетки характеризуются как трансформированные проэритробласты или трансформированные коммитированные эритроидные клетки (Розинова Э. Н., Мечетнер Е. Б., Иевлева Е. С., 1984). Есть данные, что впервые специфический поверхностный антиген у мышей BALB/c, зараженных вирусом Раушера, можно обнаружить на 7-й день после инфицирования (Гурцевич, В. Э., 1970). При этом в начале заболевания антиген обнаруживается в спленоцитах, затем, спустя несколько дней, в клетках костного мозга, и только при развернутом заболевании – в клетках тимуса и в лимфоузлах. В развитии регрессии лейкоза Раушера у мышей обсуждается возможная роль естественных киллеров (Хрусталева С. А., Клепиков Н. Н., Шевякова Л. Я., 1984).

Таким образом, обобщая результаты предыдущих исследований патогенеза и морфологических изменений, можно выделить 3 стадии развития вирусного лейкоза: латентный период, гиперпластический и неопластический. Латентный период – первые три дня после инфицирования, когда вирусные частицы появляются в синусоидах печени и в селезенке.

После этого наступает гиперпластический период, который длится приблизительно до 26-го дня после инфицирования. Различные авторы характеризуют эту стадию спленомегалией, миелоидной гиперплазией, селезеночным и печеночным эритробластозом, а также отсутствием ретикулиновых волокон в недавно сформированных тканях.

Далее развивается последняя, неопластическая стадия. В периферической крови развивается эритролейкемия, гистологические структурные нарушения всех тканей, особенно гемопоэтических. Неопластическая природа вирусного лейкоза мышей подтверждается инфильтрирующим инвазивным ростом заново

сформированных тканей и трансплантабельностью гемопоэтических клеток измененных вирусом лейкоза Раушера в лимфоидные органы, костный мозг и печень.

1.3. Теоретическое обоснование применения препарата субалин для лечения вирусного лейкоза

Одно из перспективных направлений в борьбе с вирусным лейкозом – это применение пробиотиков в качестве живых систем доставки в макроорганизм таких иммуномодуляторов, как интерферон α . Большой интерес вызывает биологически активный препарат субалин. Он был разработан учеными «Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор»» (ГНЦ ВБ «Вектор», г. Новосибирск) в 80-е годы прошлого столетия. Данный пробиотик содержит рекомбинантный штамм *B.subtilis*, в геном которого встроена плаزمиды pВМВ 105. Споры *B.subtilis*, попадая в организм, переходят в вегетативную форму и, благодаря содержанию плазмиды, начинают продуцировать интерферон – α , являясь, таким образом, «живой биофабрикой» (Смирнов В. В., Белявская В. А., Ильичев А. А. и др., 1994). Препарат субалин активно применяется в гуманной медицине, звероводстве, в рыбных хозяйствах. Изучению его терапевтических и профилактических свойств посвящено много работ (Бельтюкова З. Н., Окулова И. И., Березина Ю. А., 2018; Белявская В. А., Игнатъев Г. Г., Чердынцева Н. В., 2001; Белявская В. А., Чердынцева Н. В., Бондаренко В. М., 2003; Белявская В. А., Кашперова Т. А., Бондаренко В. М., 2001; Грачев А. Ю., Адов С. А., Васильев А. Н., 1999; Жданов, П. И. , 1994; Литвяков Н. В., Чердынцева Н. В., Белявская В. А. и др., 2001; Мирошников С. А., Сипайлова О. Ю., 2006).

Официальное применение препарата пероральное. Доказано, что 90% спор *B.subtilis* при попадании в желудочно-кишечный тракт животных в первые сто минут после введения начинают стремительно расти и делиться. В процессе их вегитации выделяются биологически активные вещества. Клетки *B.subtilis*

продуцируют витамины, ферменты, аминокислоты, антибиотические вещества, которые оказывают прямое действие на патогенные микроорганизмы, а также активируют специфическую и неспецифическую системы иммунной защиты организма. Количество антибактериальных веществ, синтезируемых этими микроорганизмами приближается к 200 (Жданов, П. И., 1995; Литвяков Н. В., Чердынцева Н. В., Белявская В. А., 2003). *B.subtilis* обладает высокой антагонистической активностью к таким микроорганизмам как *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Esherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* и др. Исследователи сообщают о способности пробиотика подавлять, в том числе, и антибиотикорезистентные штаммы (Феоктистова Н. В., Марданова А. М., Хадиева Г. Ф. и др., 2017). Спектр применения препарата очень широк: его успешно применяют при заболеваниях желудочно-кишечного тракта (язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, хеликобактериоз, неспецифический язвенный колит). *B.Subtilis* может применяться местно (дополнительно к основной терапии), в хирургии, гинекологии, уменьшая воспалительные процессы и сокращая сроки выздоровления пациентов (Смирнов В. В., Коваленко Н. К., 2002; Спасская Т. А., 1998). В инструкции к препарату Субалин, а также в работах исследователей, изучающих механизм действия данного пробиотика, доказано, что рекомбинантный штамм *B.Subtilis* самостоятельно выделяет противомикробные вещества широкого спектра, образуя зону торможения роста патогенных тест-культур. При пероральном применении, попадая в желудочно-кишечный тракт, он дополнительно продуцирует улучшающие пищеварение ферменты, при этом рост нормальной микрофлоры кишечника субалин не угнетает. Смирнов В. В. с соавторами в своем исследовании подробно освещает механизм лечебно-профилактического действия штамма *B.subtilis* (В. В. Смирнов, С. Р. Резник, В. А. Вьюницкая и др., 1993).

Разработчики препарата отмечают возможность применения субалина совместно с антибиотиками или после антибиотикотерапии (Белявская В. А., Игнатьев Г. Г., Чердынцева Н. В. и др., 2001; Белявская В. А., Чердынцева Н. В.,

Бондаренко В. М. и др., 2003; Белявская В. А., Кашперова Т. А., Бондаренко В. М., Ильичев А. А. и др., 2001). Авторы отмечают мягкое действие пробиотика, отсутствие побочных эффектов в виде иммуносупрессий, дисбактериозов либо образований устойчивых штаммов патогенных бактерий (что бывает при использовании антибиотиков). Кроме того, применение субалина совместно с антибиотиками не является противопоказанием, а, наоборот, позволяет быстро стабилизировать нормальную микрофлору кишечника и сократить сроки выздоровления.

Доказана противовирусная активность препарата субалин (Чудновская Н. В., Рыбалко С. Л., Сорокулова И. Б. и др., 1995). Механизм противовирусного действия его обусловлен содержанием в *B. Subtilis* плазмидной ДНК рВМВ 105, которая кодирует ген человеческого лейкоцитарного интерферона (IFN-альфа). Содержание плазмидной ДНК передается при размножении штамма *B. subtilis* от материнской клетки к дочерним и, таким образом, увеличивает содержание экзогенного интерферона в организме животного. IFN-альфа играет ведущую роль в неспецифической резистентности организма при вирусных заболеваниях. Относясь к белкам, наравне с системой комплемента и фагоцитирующими клетками, он противостоит вирусным агентам, подавляя их синтез в клетках. Исследователи оценивают противовирусное действие субалина как высокое, причем в отношении многих вирусов (Чудновская Н. В., Рыбалко С. Л., Сорокулова И. Б. и др., 1995). В экспериментальном исследовании было продемонстрировано, что субалин активизирует натуральные киллеры, ограничивает вирусную инфекцию, оказывает адьювантный эффект при вакцинации (Белявская В. А., Игнатьев Г. Г., Чердынцева Н. В., 2001). Важно отметить, что препарат субалин при пероральном введении способен не только продуцировать экзогенный, но и индуцировать эндогенный интерферон. Peterson R. с соавторами показали терапевтическую эффективность субалина при его местном применении (введение спор *B. Subtilis* под мозговые оболочки при вирусном энцефалите у человека или аэрозольно при заболеваниях легочных путей инфекционной и неинфекционной патологии)

(Peterson R. D. A., Hendricson R., Good R. A., 1963). Также авторы утверждают, что культуру *B. Subtilis*, кроме энтерального введения, с успехом можно применять внутривнутрибрюшинно и парентерально. Выбор пути введения препарата определяется особенностями патологического процесса. Важно отметить, что введение спорного препарата Субалин в организм безопасно, т.к. споры культуры полностью выводятся из организма через несколько часов после применения его (Rocchietta, J., 1969). Ранее нами были получены данные положительного влияния спорных клеток *B.Subtilis* на иммунные клетки и органы мыши при внутривнутрибрюшинном введении субалина (Русакова Я. Л., Магер С. Н., Храмцов В. В., 2012; Русакова Я. Л., Магер С. Н., Храмцов В. В., 2015).

В публикациях исследователей показана эффективность Субалина при лечении разных вирусных инфекций: гриппа, герпеса, венесуэльского энцефаломиелиита и др. (Литвяков, Н. В. , 2002). Препарат сочетает в себе противовирусные и антибактериальные свойства (чем отличается от других противовирусных препаратов). Использование субалина в лечении вирусных заболеваний профилактирует бактериальные осложнения. Доказано, что субалин стимулирует клеточный и гуморальный ответ, оказывая выраженное влияние на иммунную систему организма (Чердынцева Н. В., Литвяков Н. В., Смольянинов Е. С. и др., 1999). Механизм действия интерферона сложен, цитокин действует в нескольких направлениях. В результате активизируются иммунокомпетентные клетки, иммунный статус организма нормализуется, устойчивость его к заболеваниям повышается. В доступных нам источниках мы не встретили ни одного сообщения, указывающего на непереносимость препарата субалин или побочные аллергические реакции на продуцируемый бактериальными клетками интерферон, не смотря на то, что все время пока пробиотик находится в организме, бактерии его вырабатывают (Бельтюкова З. Н., Окулова И. И., Березина Ю. А., и др., 2018). При пероральном применении субалина вырабатываемый интерферон может поступать непосредственно в лимфоидную систему или в кровоток из кишечника. По способности поддерживать иммунную систему организма субалин сравним с другими

индукторами интерферона (Белявская В. А., Чердынцева Н. В., Бондаренко В. М. и др., 2003; Eid P., Meritet J. F., Maury C. et al., 1999). Отмечается, что терапевтическое и иммуностимулирующее действие орально вводимого интерферона оказывают именно низкие, а не высокие дозы препарата (Литвяков, Н. В., 2002). Они способны стимулировать иммунокомпетентные клетки (около 80% которых локализуется в слизистой оболочке кишечника) и периферические лимфоидные органы (Пейеровы бляшки, миндалины, лимфатические узлы). Вслед за этой активацией происходит иммунный ответ организма (Феоктистова Н. В., Марданова А. М., Хадиева Г. Ф. и др., 2017).

Установлено, что интерферон, синтезируемый *B.subtilis*, стимулирует Т-клеточный иммунный ответ; под действием субалина также происходит активация цитолиза вирус-инфицированных клеток макрофагами (Чудновская Н. В., Рыбалко С. Л., Сорокулова И. Б. и др., 1995).

Субалин обладает способностью сдерживать опухолевый рост тканей, в частности метастазов саркомы Льюиса, что подтверждается экспериментальными работами Н.В.Литвякова с соавторами (Литвяков Н. В., Чердынцева Н. В., Белявская В. А., 2003; Чердынцева Н. В., Литвяков Н. В., Смольянинов Е. С. и др., 1999). Одним из возможных механизмов этого воздействия предполагают подавление экспрессии некоторых протоонкогенов. В экспериментальных исследованиях противоопухолевых препаратов на животных было выявлено, что интерферон подавляет рост опухолей и метастазов, увеличивает антибластомную активность 5-фторурацила и циклофосфана. Противоопухолевое действие субалина связано с активацией макрофагов и естественных киллерных (ЕК) клеток и невозможно без участия системы Т-лимфоцитов. Под действием пробиотика повышается чувствительность опухолевых клеток к цитостатикам (Литвяков Н. В., Чердынцева Н. В., Белявская В. А., 2003).

Таким образом, мы посчитали, что подтвержденное антивирусное действие препарата субалин, его противоопухолевые и иммуностимулирующие эффекты, а также безопасность применения при парентеральном введении дает нам основание для оценки действия этого препарата на иммунную систему животных,

инфицированных вирусным лейкозом. Мы исходили из предположения, что введение субалина может восстановить, хотя бы частично, функциональную активность иммунных клеток и снизить репликацию вируса в органах-мишенях.

1.4. Теоретическое обоснование применения мезенхимальных стволовых клеток

Одним из интенсивно изучаемых направлений в терапии лейкозов является применение стволовых клеток. Доказано, что мезенхимальные стволовые клетки поддерживают гемопоэз (Le Blanc K., Samuelsson H., Gustafsson B. et al., 2007; Scheinberg D. A., Strand M., 1982), снижают риск возникновения отторжения трансплантата (GvHD) (Balan A., Lucchini G., Schmidt S., et al., 2014; Hermann R. P., Sturm M. J., 2014), эффективно используются для лечения гемотоксических злокачественных новообразований. В гуманной медицине клеточная терапия, трансплантация костного мозга является основным методом лечения заболеваний крови у детей (Афанасьев Б. Ф., Зубаровская Л. С., Моисеев И. С., 2015; Скоробогатова Е. В., Балашов Д. Н., Трахтман П. Е. и др., 2011). Полученные результаты свидетельствуют о том, что ауотрансплантация стволовых клеток (СК) способна улучшить прогноз больных хронической лимфоцитарной лейкемией, особенно с плохим прогнозом (Dreger P., Montserrat E., 2002).

Есть экспериментальные данные о том, что трансплантация суспензии аспирата костномозговых клеток от устойчивых к RLV линий мышей восприимчивым линиям мышей сдерживает развитие вирусного лейкоза у последних и задерживает их гибель (Iwai H., Day N. K., Hamada N., et al., 1994). Исследование Song N. с соавторами доказывает, что мезенхимальные стволовые клетки костного мозга мышей ингибируют пролиферацию мышшиной В-лимфомы, мышшиной эритролейкемии и острой лимфоцитарной лейкемии мышшей (Song N., Gao L., Qiu H. et al., 2015).

Международное общество клеточной терапии определило критерии соответствия мезенхимальных стволовых клеток. Такие клетки должны: во-

первых, прикрепляться к пластику при культивировании в стандартных условиях; во-вторых, на поверхности клеток должны содержаться специфические маркерные антигены (CD73, CD90 и CD105), при этом антигены CD14, CD34, CD45 должны отсутствовать, так же не должно содержаться молекул главного комплекса гистосовместимости класса II; в-третьих, такие клетки должны проходить дифференцировку в бластные клетки соединительной ткани (остеобласты, адипоциты и хондробласты) *in vitro* (Balan A., Lucchini G., Schmidt S., et al., 2014).

Кроме того, что мезенхимальные стволовые клетки могут секретировать различные факторы роста, цитокины, биологически активные вещества, которые способствуют регенерации травмированных тканей. Кроме участия в процессах регенерации, МСК могут вызывать иммунодепрессию *in vivo* (Калинина Н. И., Сысоева В. Ю., Рубина К. А. и др., 2011; Uccelli A., Moretta L., Pistoia V., 2008). Противовоспалительный эффект мезенхимальных стволовых клеток связан с их способностью выделять широкий спектр растворимых медиаторов с иммуномодулирующими свойствами, таких как интерлейкин-10, простагландин E2, трансформирующий фактор роста, оксид азота (для МСК мышей) и др., которые могут действовать паракринным или эндокринным способом (Калинина Н. И., Сысоева В. Ю., Рубина К. А. и др., 2011; Murphy M. B., Moncivais K., Caplan A. I., 2013; Zanotti L., Sarukhan A., Dander E. et al., 2013). Мезенхимальные стволовые клетки обладают способностью взаимодействовать в пределах иммунной системы (Aggarwal S., Pittenger M. F., 2005; Bernardo M. E., Fibbe W. E., 2013; Carlo-Stella C., Nicola M. Di, Gianni M. A., 2002; Ramasamy R., Tong C. K., Seow H. F. et al., 2008; Uccelli A., Moretta L., Pistoia V., 2008).

Существуют разные мнения о влиянии мезенхимальных стволовых клеток на процесс канцерогенеза *in vitro* и *in vivo*. Ряд исследователей демонстрируют стимулирующее воздействие мезенхимальных стволовых клеток на рост и прогрессирование опухолей поджелудочной железы (Beckermann V. M., Kallifatidis G., Groth A. et al., 2008), меланомы (Djouad F., Bony C., Apparailly F. et

al., 2006; Djouad F., Plence P., Bony C. Et al., 2003; Kucerova L., Matuskova M., Hlubinova K. et al., 2010), злокачественной опухоли молочной железы (Karnoub A. E., Dash A. B., Vo A. P. et al, 2007), простаты (Prantl L., Muehlberg F., Navone N. M. et al., 2010), кишечника (Torsvik A., Rosland G. V., Svendsen A. et al., 2010; Zhu W., Xu W., Jiang R. et al., 2006), повышают вероятность формирования метастазов (Shinagawa K., Kitadai Y., Tanaka M. et al., 2010). В то же время МСК, выделенные из подкожной жировой клетчатки, ингибируют пролиферацию клеток первичного лейкоза (Zhu Y., Sun Z., Han Q. et al., 2009). В работах этих же и других авторов сообщается также о способности МСК сдерживать и подавлять рост опухоли при определенных условиях (Cousin B., Ravet E., Poqlio S. et al., 2009; Khakoo A. Y., Pati S., Anderson S. A. et al., 2006; Qiao L., Xu Z., Zhao T. et al., 2008; Secchiero P., Zorzet S., Tripodo C. et al., 2010; Torsvik A., Rosland G. V., Svendsen A. et al., 2010; Zhu W., Xu W., Jiang R. et al., 2006). Есть исследование, демонстрирующее, что введение фактора стволовых клеток *in vivo* облегчает тромбоцитопению, вызванную инфекцией вирусом мышиноного лейкоза (MuLV LP-ВМ-5) и оказывает глубокое влияние на пролиферацию предшественников мегакариоцитов и других клеток (Chow F. P., Zsebo K., Hamburger A. W., 1993).

Большое внимание привлекают мезенхимальные стволовые клетки в качестве потенциальных платформ для доставки трансгена и клеточной терапии при заболеваниях человека. Вирусные векторы обеспечивают эффективное средство доставки трансгена в МСК человека (Ricks D. M., Kutner R., Zhang X. Y. et al., 2008; Sinkovics, J. G., 2010). Мезенхимальные стволовые клетки человека легко поддаются трансдукции псевдотипированными лентивирусными частицами. Генно модифицированные МСК сдерживают рост гематологических злокачественных новообразований, экспрессируя мощные противоопухолевые агенты в микроокружение опухоли (Kyriakou C. A., Yong K. L., Benjamin R. et al., 2006).

Между МСК человека и МСК мышей существуют значительные различия и не все мышинные модели *in vivo* достоверны для доклинической оценки МСК человека (Meisel R., Brockers S., Heseler K. et al., 2011). В своем исследовании

Meisel R. и Brockers S. продемонстрировали, что МСК человека проявляют антимикробную эффекторную функцию широкого спектра действия, направленную против ряда клинически значимых бактерий, вирусов и простейших. В моделях *in vivo*, при введении МСК мышам, страдающим полимикробным сепсисом, значительно повышается выживаемость животных, причем независимо от пути введения (внутрибрюшинно или внутривенно), и вне зависимости от того, были ли это МСК человека или мыши (Balan A., Lucchini G., Schmidt S. et al., 2014).

К сожалению, подобных данных о противовирусном эффекте МСК мышей *in vivo* или *in vitro* мы не нашли в доступной литературе, но, принимая во внимание опыт большинства исследователей, предположили возможность благоприятного воздействия мезенхимальных стволовых клеток на организм животных в условиях вирусного лейкоза.

1.5. Строение лимфатической системы у мышей. Периферические органы иммунной системы

Вторичные лимфоидные органы – селезенка и лимфатические узлы – являются важными органами иммунной системы, в которых иммунные клетки могут быстро реагировать на инфекционные агенты в крови и лимфе, благодаря чему создается долгосрочный адаптивный ответ на эти патогены (Turner V. M., Mabbott N. A., 2017). У животных система лимфодренажа состоит из «лимфатических регионов», каждый из которых состоит из трех звеньев (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1990; Бородин, Ю. И., 2000; Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1992). Первое звено – это «прелимфатические пути», образование периферической, предузловой лимфы в интерстициальном пространстве вокруг капиллярных слоев в результате процесса фильтрации тканевой жидкости, вызванного гидростатическим давлением в артериальном конце капилляров (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1990; Бородин, Ю. И., 2000; Cueni L. N., Demtmar M., 2008). Второе звено – это

лимфатические капилляры, которые сливаются в более крупные посткапилляры. Благодаря им лимфа из тканей транспортируется к лимфатическим узлам, расположенным по всему телу (Porova T. G., Espina V., Zhou W. et al., 2014), происходит дренаж межтканевого пространства (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1990; Бородин, Ю. И., 2000). Третье звено – это регионарные лимфатические узлы и скопления лимфоидной ткани в органах. Они выполняют сложные функции – сбор и фильтрацию переносимых лимфатической жидкостью антигенов (механическая и биологическая интракорпоральная лимфодетоксикация) и «осушение» тканей (дренаж). Кроме того, благодаря работе лимфатических узлов, контролируется клеточный состав лимфы и в целом иммунная система организма (Бородин, Ю. И., 2000). Затем лимфа через выносящие сосуды лимфоузла возвращается в кровоток (Cueni L. N., Demtmar M., 2008). Лимфа содержит большое количество белков плазмы (в том числе и те, которые синтезируются и секретируются клетками ткани) и иммунокомпетентных клеток (лимфоцитов, макрофагов, моноцитов). В организме эти клетки распределены неравномерно.

1.6. Строение и функции лимфоузла у мышей

Wim Van den Broeck с соавторами выделяют 22 лимфатических узла (Van den Broeck W., Derore A., Simoens P., 2006), а Sun R. с соавторами – 23 лимфатических узла у мышей (Sun R., Gao B., Gao C. B., 2017). При гистологическом исследовании паренхимы лимфатических узлов животных, согласно Международной гистологической номенклатуре (1980), выделяют следующие структурно-функциональные зоны: кора с лимфоидными узелками, паракортикальная Т-зависимая зона, и мозговое вещество с мягкотными тяжами (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1990; Бородин, Ю. И., 2000; Ve'lisle C., Sainte-Marie G., 1981). Снаружи лимфатический узел покрывает капсула, которая содержит много коллагеновых волокон и гладкие миоциты в области ворот лимфатического узла. От капсулы внутрь лимфатического узла

отходят трабекулы (Сапин М. Р., Юрина Н. А., Этинген Л. Е., 1978; Willard-Mack C. L., 2006). Под капсулой располагается краевой (субкапсульный) синус (Околелов В. И., Зорина Н. Р., Капочкин В. Ф., 2005). Он выстлан эндотелиоподобными клетками. Ширина синуса неодинакова: над узелками она уменьшается, над корковым плато становится больше. В просвете синуса можно увидеть плазматические клетки, макрофаги, тучные клетки (Бородин, Ю. И., 2000; Van den Broeck W., Derore A., Simoens P., 2006).

Под краевым синусом, с внутренней его стороны, располагается корковое вещество лимфоузла (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1990; Бородин, Ю. И., 2000) или «периферическая кора» (Sainte-Marie G., 2010). Оно пронизано вокругузелковыми (промежуточными) корковыми синусами (Петренко В. М., 2016). Кора состоит из межфолликулярной части (которая называется «корковое плато») и маргинальной зоны (это «пограничная зона» или «подсинусный слой»), которая находится между краевым синусом и лимфоидными узелками. К коре также относятся лимфоидные узелки (фолликулы) (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1990; Бородин, Ю. И., 2000; Oort J., Turk J. L., 1965; Sainte-Marie, G., 2010). Лимфоидные узелки состоят из В-клеток, которые окружают герминативный центр (Sainte-Marie, G., 2010). Первичные узелки описывают как округлые скопления преимущественно малых лимфоцитов (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1990; Oort J., Turk J. L., 1965; Sainte-Marie, G., 2010). Первичные лимфатические узелки развиваются спонтанно во время онтогенеза и не зависят от того, было ли воздействие антигена. В составе вторичных лимфоидных узелков выделяют герминативный центр и корону. В герминативном центре (центральная часть узелка) происходит антигензависимая пролиферация В-лимфоцитов и дифференцировка их в предшественники плазматических клеток (Hoshi H., Horie K., Nagata H., 2001). В клеточном составе короны вторичных лимфоидных узелков содержатся преимущественно малые лимфоциты, а также присутствуют макрофаги, лимфобласты и ретикулярные клетки (Бородин Ю. И.,

Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1990; Oort J., Turk J. L., 1965; Sainte-Marie, G., 2010).

На границе между корковым и мозговым веществом лежит паракортикальная зона (Антипов Н. В., 2012) или «глубокая кора» (Sainte-Marie, G., 2010). Паракортекс не похож на периферическую кору. Здесь встречаются все клетки плазматического ряда, ретикулярные клетки, макрофаги, много дендритных клеток, генерируются Т-лимфоциты. Выход иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоцитов) из крови в строму лимфоузла обеспечивают венулы паракортикальной зоны. Их стенки выстланы кубическими эндотелиоцитами, которые облегчают переход клеток из одной среды в другую. (Антипов Н. В., 2012).

Мозговое вещество в лимфатических узлах отличается более светлым окрашиванием. В его составе различают мозговые тяжи и мозговые синусы. В свою очередь в составе мозговых тяжей выделяют ретикулярные клетки и ретикулярные волокна. Клеточный состав представлен В-лимфоцитами, макрофагами, созревающими плазматическими клетками. Мозговые синусы продолжаются от корковых, имеют губчатую структуру и обеспечивают транспорт лимфы. Они достигают ворот лимфатического узла и впадают в воротный синус. Стенки синусов выстланы эндотелиальными клетками (Антипов Н. В., 2012).

Часть лимфатического узла, связанную с открытием каждого афферентного лимфатического сосуда или каждой из его конечных ветвей в субкапсулярный синус называют компартментом (Aijima H., Horie K., Nagata H. et al., 1986; Be'lisle C., Sainte-Marie G., 1981) или долькой (Gretz J. E., Anderson A. O., Shaw S., 1997). Лимфа, притекающая от афферентных лимфатических сосудов, проходит через тот компартмент, с которым связан сосуд, не распределяясь по всему лимфатическому узлу (Sainte-Marie, G., 2010). Через субкапсулярный синус от верхушки дольки лимфа стекает по боковым сторонам компартмента через вокругузелковый корковый синус в мозговой синус. Из всех долек лимфа собирается в один эфферентный лимфатический сосуд, который выходит из ворот

лимфатического узла (Sainte-Marie G., Peng F. S., Be'lisle C., 1982). Так как в каждый компартмент собирается лимфа от разных дренируемых областей, то и набор антигенпредставляющих клеток, медиаторов воспаления и антигенов, приходящих с лимфой, в каждой доле лимфоузла отличается (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1990; Бородин, Ю. И., 2000; Sainte-Marie G., Peng F. S., Be'lisle C., 1982). Этим исследователи объясняют разный вид иммунологической активности в лимфоузле и неоднородный вид его долек.

Строму лимфатического узла представляет ретикулярная ткань, состоящая из «звездчатых, веретенообразных или удлинённых фибробластических ретикулярных клеток и их ретикулярных волокон» (Willard-Mack C. L., 2006). Эта ретикулярная ткань образует каркас долек и пересекает просвет синусов. В образованных ретикулярной тканью множествах каналов содержатся лимфоциты, антигенпредставляющие клетки и макрофаги.

В зависимости от соотношения относительной площади коркового и мозгового слоя известный лимфолог Ю. И. Бородин условно разделил лимфатические узлы три типа (по сторению). Первый тип – это фрагментированные лимфоузлы. Соотношение коркового слоя к мозговому меньше 1 (корково-мозговой индекс (КМИ)). Второй тип – компактные лимфоузлы, у них КМИ колеблется от 1,4 до 4. И третий тип – это промежуточные лимфоузлы, которые похожи как на первые, так и на вторые (Бородин Ю. И., 2000). Фрагментированные лимфатические узлы отличаются максимальной транспортной функцией. Компактные лимфатические узлы, напротив, очень ограничены в транспортных возможностях.

Таким образом, лимфатические узлы выполняют кроме барьерно-защитной функции еще функцию депонирования лимфы, дренажную функцию, участвуют в обмене веществ, осуществляют антигензависимую дифференцировку лимфоцитов.

1.7. Строение и функция селезенки у мышей

Селезенка – непарный орган от темно-красного до сине-черного цвета, располагается в левой краниальной части живота, прилегая к большой кривизне желудка. Она является депо крови и, как вторичный иммунный орган, реагирует на инфекцию организма. Селезенка имеет вытянутую форму, почти треугольную в поперечном сечении (Cesta M. F., 2006). Пурпурный цвет селезенки объясняется большим содержанием в ней крови. От количества содержащейся в ней крови, от активности процессов кроветворения зависят внешний вид, масса и объем этого органа. Отношение в процентном соотношении массы селезенки к массе тела остается довольно постоянным и у крыс составляет около 0,2% (Cesta, M. F., 2006). У мышей BALB/c относительная масса селезенки выше (Каркищенко В. Н., Шмидт Е. Ф., Брайцева Е. В., 2007). Консистенция селезенки более мягкая и рыхлая, чем у других органов. Поверхность селезенки покрыта капсулой, которая состоит из соединительной ткани и гладких мышц. Наружный слой капсулы – серозная оболочка, состоящая из непрерывного однослойного мезотелия. Цитоплазма этих мезотелиальных клеток чаще не видна на обычных срезах, но бывают видны плоские ядра (Хэм А., Кормак Д., 1983). За счет гладких мышечных клеток трабекулы селезенки могут сжиматься и выталкивать в кровотоки депонированную кровь, а большое количество эластина в капсуле позволяет ей растягиваться. На медиальной поверхности селезенки проходит длинная борозда – ворота селезенки. Селезеночная артерия, подходя к воротам селезенки, делится на несколько ветвей. Эти ветви входят в паренхиму селезенки отдельно в разных точках в области удлинённых ворот. Здесь же, рядом с артериями, выходят вены и лимфатические сосуды селезенки. Сливаясь, вены образуют селезеночную вену (Малофеев Ю. М., Чебаков С. Н., 2000; Хэм А., Кормак Д., 1983; Satodate R., Tanaka H., Sasou S., 1986). Из капсулы в паренхиму селезенки выходят нерегулярно расположенные трабекулы фиброэластической ткани и гладких мышц. Эти трабекулы рассеяны по всей паренхиме селезенки, причем в большей степени со стороны ворот, чем со стороны капсулы (Хэм А.,

Кормак Д., 1983). Плотная соединительная ткань трабекул, как и капсула, содержит много эластина и некоторое количество гладкомышечных клеток. В трабекулах, идущих от ворот, проходят кровеносные и лимфатические сосуды и нервы (Cesta M. F., 2006). Гистологически артерию от вены в трабекуле селезенки легко отличить по более толстому слою гладкомышечных клеток вокруг артерии.

Кровь в селезенку поступает через ворота по селезеночной артерии. Далее селезеночная артерия разделяется на трабекулярные артерии, которые, в свою очередь, выходят из трабекул, разветвляются на артериолы и попадают в пульпу (маленькие трабекулы содержат только вены). В пульпе артериолы становятся центральными артериолами (Satodate R., Tanaka H., Sasou S. et al., 1986). Вдоль артерий, вышедших из трабекул, концентрируется лимфоидная ткань – белая пульпа селезенки. Вдоль артерий, больше с одной стороны, группируются ретикулиновые волокна стромы пульпы. Они поддерживают артерии своими прочными волокнистыми оболочками. В некоторых местах оболочки, содержащие лимфоциты, расширяются. Так формируются лимфатические фолликулы (Малофеев Ю. М., Чебаков С. Н., 2000; Хэм А., Кормак Д., 1983). Они могут содержать центры размножения. Там, где оболочка расширяется в лимфатический фолликул, артерия разветвляется на фолликулярные артерии, которые в свою очередь образуют сеть фолликулярных капилляров, которые выходят из фолликула в окружающую красную пульпу. Некоторые артериолы заканчиваются в краевом синусе на стыке белой пульпы и краевой зоны (Cesta M. F., 2006). Попадая в маргинальный синус и краевую зону, кровь просачивается в направлении красной пульпы. Кровь проходит через краевую зону и затем течет по одному из путей: 1) «быстрый путь» – когда кровь течет в соседние венозные синусы, открытые концы которых связаны с краевой зоной или 2) «медленный путь» – когда кровь проходит через ретикулярную сеть красной пульпы. До 90% общего кровотока селезенки проходит через соседние венозные синусы, по «быстрому пути». Из красной пульпы кровь собирается в венозных синусах, которые впадают в трабекулы, сливаются в трабекулярные вены, затем в селезеночную вену. Селезеночная вена выходит из ворот селезенки и впадает в

портальную систему печени (Малофеев Ю. М., Чебаков С. Н., 2000; Хэм А., Кормак Д., 1983; Cesta M. F., 2006).

Помимо капсулы и трабекул, в строении селезенки различают белую и красную пульпу. Белая пульпа определяется как скопление маленьких серых образований среди красной пульпы. Эти мелкие узелки образуют лимфатические фолликулы. Фолликулы – главные места образования лимфоцитов в селезенке, чаще их можно найти в местах бифуркации центральных артериол (Cesta M. F., 2006). Основными клетками, составляющими лимфатические фолликулы, являются В-клетки. Так же здесь присутствуют фолликулярные дендритные клетки, CD4+ Т-клетки. Более крупные лимфоциты располагаются в центре фолликула. Центр фолликула окружен мантийной зоной (коронай), состоящей из малых и средних лимфоцитов. При антигенной стимуляции в фолликулах образуется герминативный центр, который характеризуется менее интенсивной окраской из-за меньшего количества содержащихся клеток (Малофеев Ю. М., Чебаков С. Н., 2000; Хэм А., Кормак Д., 1983).

Красная пульпа селезенки состоит из селезеночных тяжей и венозных синусов. Селезеночные тяжи образуются из ретикулярных волокон, ретикулярных клеток, связанных с ними макрофагов (Qiao L., Xu Z., Zhao T. et al., 2008). В состав ретикулярных волокон входят коллагеновые и эластические волокна, микрофибриллы, базальные пластины ретикулярных клеток и немиелинизированные адренергические нервные волокна. (Cesta M. F., 2006; Saito H., Yokoi Y., Watanabe S. et al., 1988). Ретикулярные волокна непрерывно переходят в коллагеновые волокна трабекул и капсулы (Хэм А., Кормак Д., 1983). Клеточный состав зоны селезеночных тяжей представлен эритроцитами, гранулоцитами, мононуклеарными клетками. Кроме того, в этой зоне можно увидеть мигрирующие из фолликулов и наружных периартериальных муфт плазмобласты и плазматические клетки после антигенспецифической дифференцировки, лимфоциты и гемопоэтические клетки (Matsuno K., Ezaki T., Kotani M., 1989; Meebius R. E., Kraal G., 2005).

Кроме селезеночных тяжей в красной пульпе находятся венозные синусы. Стенки синусов красной пульпы состоят из продольно расположенных узких эндотелиальных клеток, которые лежат на базальной мембране (Cesta M. F., 2006). Селезеночные тяжи между двумя соседними синусоидами также называют тяжами Бильрота (Хэм А., Кормак Д., 1983). В синусах красной пульпы содержатся эритроциты, лейкоциты, макрофаги.

Кроме форменных элементов крови, в селезенке могут содержаться пигменты железа (гемосидерин и ферритин, содержащиеся в макрофагах красной пульпы), цероид и липофусцин (образуются в результате окисления липидов), у черных мышей в селезенке встречаются меланоциты, содержащие меланин (Cesta M. F., 2006).

Маргинальная (краевая) зона располагается на границе белой и красной пульпы (окружает периартериальные муфты и лимфоидные фолликулы). Считается, что здесь происходит скрининг циркулирующей крови на антигены и патогены. В маргинальной зоне проходят кровеносные сосуды, которые затем входят в фолликул, ветвятся в нем и приносят кровь к периферийным участкам фолликула. В-лимфоциты возвращаются в вещество лимфатических фолликулов; Т-лимфоциты скапливаются в периартериальных муфтах (Малофеев Ю. М., Чебаков С. Н., 2000; Хэм А., Кормак Д., 1983). Что касается фенотипа, то у нециркулирующих В-лимфоцитов маргинальной зоны фенотип отличается от фенотипа фолликулярных В-лимфоцитов. У мышей 15% В-клеток селезенки имеют фенотип В-клеток маргинальной зоны (Cesta M. F., 2006). Важную роль для очистки от микроорганизмов и вирусов выполняют макрофаги краевой зоны, они также отличаются от популяций других макрофагов. Т- и В-лимфоциты могут переходить из маргинальной зоны в красную пульпу, снова поступая в кровоток (Хэм А., Кормак Д., 1983). При проникновении антигена в организм с кровью он попадает в маргинальную зону селезенки, обычно около лимфоидных фолликулов. Антиген поглощается макрофагами. Т-хелперы маргинальной зоны активируют антиген-специфические В-клетки. Активированные В-клетки (лимфобласты) мигрируют в лимфоидные фолликулы, где образуется

герминативный центр и начинается быстрая их пролиферация. В-клетки становятся плазматическими клетками, продуцирующими антитела. Антителобразующие плазматические клетки накапливаются в красной пульпе селезенки (Малофеев Ю. М., Чебаков С. Н., 2000; Хэм А., Кормак Д., 1983; Cesta M. F., 2006).

У мышей есть ряд видовых отличий в строении селезенки. В зависимости от структуры и морфологии венозных синусов различают синусовые и несинусовые селезенки у разных видов животных. Синусовые селезенки. Венозные синусы «синусовых» селезенок более развиты, обильны, имеют многочисленные анастомозы. Такой тип селезенок имеют, например, собаки и крысы. У мышей же тип селезенки относится к «несинусовым». Синусы их селезенок насолько малы, что некоторые исследователи описывают их как «венулы» (Cesta M. F., 2006). У мышей чаще, чем у крыс, встречается экстрамедуллярный гемопоэз. С возрастом он уменьшается, но в случае анемии, неоплазии, воспаления, любой подобной стрессовой для организма ситуации, может снова выполнять функцию гемопоэза в любом возрасте животного. Доля белой пульпы у мышей чаще бывает больше, чем у крыс, а фолликулы и краевая зона менее отчетливы; маргинальный синус у мышей менее различим, чем у крыс, но значительно большего размера (в 6 раз) (Schmidt E. E., MacDonald I. C., Groom A. C., 1993). Кроме уничтожения макрофагами отживших эритроцитов и других клеток, кроме образования плазматическими клетками антител, селезенка выполняет функцию депо крови. При этом у мышей капсула и трабекулы селезенки содержат меньше гладких мышц, чем у собак, и селезенка грызунов не способна так быстро сжиматься. К тому же селезеночная артерия у мышей не имеет такого большого ветвления. Насчитывают до 8 ветвей селезеночной артерии у грызунов (у собак эта же артерия ветвится на 25 более мелких до входа в селезенку) (Cesta M. F., 2006).

Таким образом, благодаря своему строению, селезенка выполняет функцию депонирования крови, иммунологической защиты, элиминирует старые поврежденные эритроциты и другие клеточные элементы, участвует в миелопоэзе, содержит пигменты железа и не только.

1.8. Резюме

Очевидно, что многие аспекты воздействия иммуномодуляторов на организм в условиях ретровирусной инфекции требуют более глубокого изучения. Наше исследование заключается: 1) в изучении возможности использования мышей BALB/c, инфицированных RLV, как модели для исследования патогенетического, в том числе инфекционного, процесса ретровирусной инфекции у животных. И 2) в испытании (в условиях эксперимента) иммуномодулирующих биологически активных препаратов (субалин и мезенхимальных стволовых клеток) с последующей оценкой их воздействия на организм, анализируя изменения, происходящие в крови и лимфоидных органах экспериментальных животных.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объект исследования

Для исследования в качестве экспериментальных животных были выбраны инбредные мыши BALB/c, самки с исходной массой тела 18 – 22г. Из всех видов животных в исследованиях мыши, как модель, используются наиболее часто (Begley D. A., Sundberg J. P., Krupke D. M. et al., 2015; Carmona-Mora P., Molina J., Encina C. A., et al., 2009; Chaible L. ;M., Corat M. A., Abdelhay E. et al., 2010; Sorrentino A., Ferracin M., Castelli G. et al., 2008). Малые размеры этих животных, восприимчивость к RLV позволяют использовать их как модель для исследования ретровирусного лейкоза животных. В целом строение иммунной системы мышей, ее функция, имеет определенное сходство с иммунной системой других животных, в том числе крупного рогатого скота (Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., и др., 1983). Эти факты, а также однородность по генотипу и фенотипу большой группы особей, простота их содержания позволили нам выбрать этих животных для своего исследования.

Для оценки иммунологических показателей и морфофункциональных изменений в лимфоидных органах были выбраны селезенка и медиальный подвздошный лимфатический узел. И селезенка, и лимфоузлы являются вторичными иммунными органами. Кроме того, клетки селезенки являются мишенью для вируса лейкоза Рушера. Развитие заболевания сопровождается значительными изменениями, в первую очередь, в селезенке (Dunn T. V. , 1963; Mirand E. A., Hoffman J. G., Jr. Grace J. T. et al. 1961; Rauscher, F. J., 1962; Wang B., San Ch., Wang S., et al., 2018). Также известно, что биологически активные препараты, в том числе препараты на основе клеток костного мозга (таких как дендритные или стволовые клетки), при внутрибрюшинной инъекции активно абсорбируются лимфоидными органами брюшной полости (Wang B., San Ch., Wang S., et al., 2018). У мышей лимфоузлы имеют очень маленький размер (1-2

мм) и не всегда четко выражены. В публикациях разных авторов можно встретить сведения о различиях в анатомическом расположении и названии лимфоузлов (Shao L., Mori Sh., Yagishita Y. et al., 2013; Van den Broeck W., Derore A., Simoens P., 2006). Мы в своей работе использовали номенклатуру, приведенную L. Shao с соавторами (Рисунок 1).

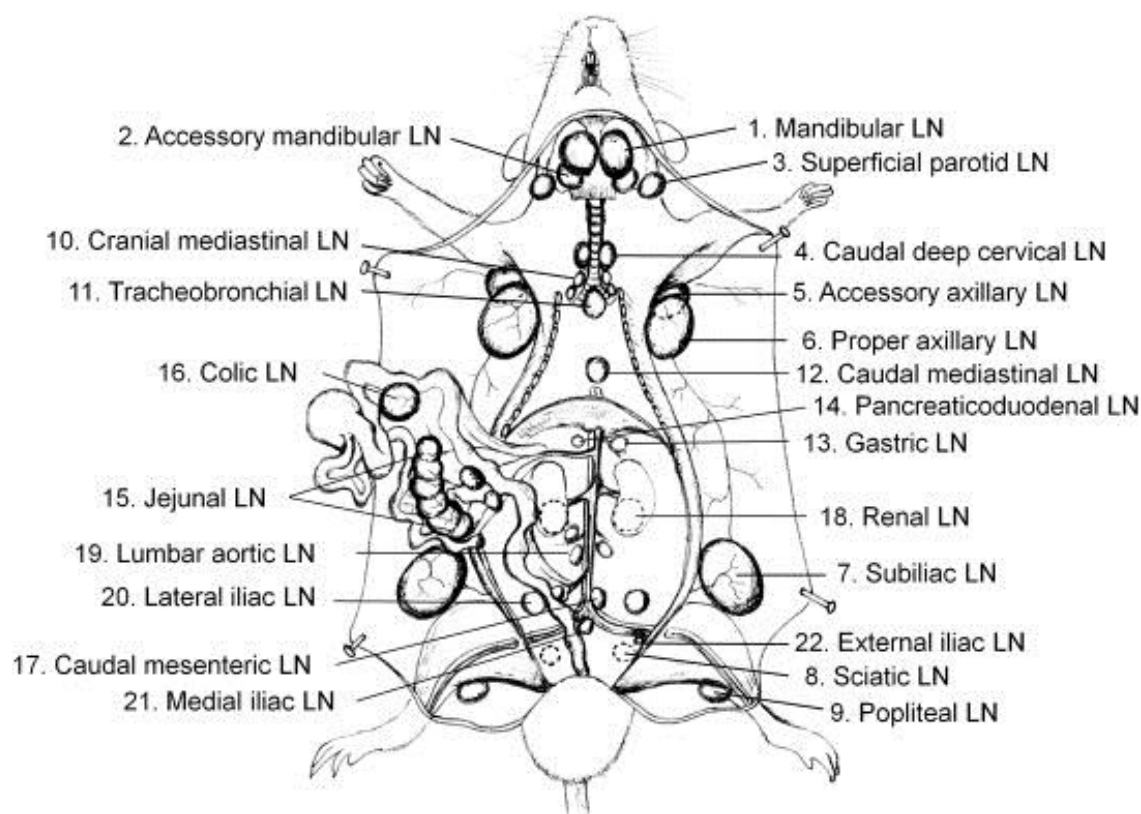


Рисунок 1 – Схематическое изображение расположения лимфатических узлов у мыши (Shao L. et al., 2013)

Медиальный подвздошный лимфатический узел (далее подвздошный лимфатический узел) был выбран для исследования т.к. относится к группе висцеральных лимфатических узлов. Область дренирования – брюшная полость, кроме того, собирает лимфу от подколенного и седалищного лимфатического узла тазовой конечности. Лимфоузел может быть найден по анатомическим ориентирам (между терминальным сегментом брюшной аорты и началом общей подвздошной артерии) (Harrell M. I., Iritani B. M., Ruddell A., 2008; Nakajima Y., Asano K., Mukai K., et al., 2018).

Работу проводили на кафедре хирургии и внутренних незаразных болезней факультета ветеринарной медицины Новосибирского государственного аграрного университета. В исследовании принимала участие лаборатория лейкозов ФГБНУ СФНЦА ИЭВСиДВ Российской Академии сельскохозяйственных наук. Часть исследований осуществляли в Научно-исследовательском институте фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФКИ) и лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии ФГБУ НМИЦ им. ак. Е.Н.Мешалкина МЗ РФ.

Для проведения исследования использовали инбредных мышей в количестве 120 голов. Все исследования проводили согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ МЗ РФ, 2003) и стандартным операционным процедурам лаборатории. Условия содержания соответствовали правилам, принятым Европейской конвенцией по защите животных, используемых в экспериментальных и иных научных целях (Страсбург, 1986г.) и стандартам, указанным в руководстве «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals» (1996). Животных содержали в поликарбонатных клетках на подстилке из древесной стружки; получали стандартный гранулированный корм («Прокорм для лабораторных животных крыс и мышей», БиоПро, Россия) и профильтрованную водопроводную воду.

Животные были распределены случайным образом на 6 экспериментальных групп, в каждой группе по 20 мышей. Все препараты вводили животным внутрибрюшинно:

1) контрольная группа – интактные животные (К). Животным внутрибрюшинно однократно в день начала эксперимента вводили физиологический раствор в количестве 0,5 мл;

2) группа Антиген (АГ) – животных инфицировали вирусом лейкоза Раушера путем однократной внутрибрюшинной инъекции вируссодержащего материала в день начала эксперимента;

3) группа Субалин (Суб) – каждому животному однократно вводили препарат субалин (пробиотик на основе *Bacillus subtilis*) путем внутрибрюшинной

инъекции в количестве $1,5 \times 10^9$ живых микробных клеток в день начала эксперимента (доза определена в предварительных опытах);

4) группа Антиген + Субалин (АГ + Суб) – совместно с вирусом лейкоза Раушера каждому животному вводили препарат субалин в той же дозе ($1,5 \times 10^9$ живых микробных клеток), также внутрибрюшинно, однократно, в день начала эксперимента;

5) группа Стволовые клетки (СК) – каждому животному вводили внутрибрюшинно мезенхимальные стволовые клетки в количестве 750 тыс. клеток на животное, однократно в день начала эксперимента;

6) группа Антиген + Стволовые клетки (АГ + СК) – каждому животному вводили внутрибрюшинно одновременно вирус лейкоза Раушера и стволовые клетки (в количестве 750 тыс. клеток на животное), однократно в день начала эксперимента.

Патматериал (лимфатические узлы, селезенка) забирали после естественной гибели животных или эвтаназии, консервировали и подвергали комплексному иммунологическому и морфологическому исследованию. Гематологические исследования проводили в определенных точках исследования, методика забора крови описана ниже.

2.2. Методика заражения мышей вирусом лейкоза Раушера

Для заражения мышей вирусом лейкоза Раушера использовали методику НИИ Фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, г. Томск. Из их же коллекции брали исходный материал (инфицированных вирусом лейкоза Раушера мышей). Титр вируса считали по доле селезенки зараженной мыши. Так, селезенку массой 200 мг суспендировали с 200 мкл физиологического раствора, центрифугировали при 1000 оборотов 5 минут, собирали надосадок, доводили до начального объема 200 мкл, разводили в 100 мл физиологического раствора. Для заражения одного животного брали 0,1 мл полученной суспензии (1/1000 часть

селезенки), доводили объем до 0,5 мл физиологическим раствором, инъекцию выполняли внутрибрюшинно.

2.3. Методика получения мезенхимальных стволовых клеток

Мезенхимальные стволовые клетки получали в лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е. Н. Мешалкина» МЗ РФ. Для получения стволовых клеток брали интактных мышей (в количестве 2 головы), проводили эвтаназию декапитацией под эфирным наркозом, забирали бедренные кости. Получали костный мозг перфузией физиологического раствора с гепарином (из расчета 5 единиц гепарина на 1 мл раствора) через диафиз бедренной кости. Объем перфузии составлял 40 мл. Далее мононуклеарную фракцию из аспирата костного мозга выделяли в стерильном боксе Па класса защиты путем сепарации по градиенту плотности, соблюдая правила работы в чистых помещениях. Полученную суспензию костного мозга пипеткой наслаивали на градиент плотности фиколл-урографин 1.077 г/мл, который предварительно разливали в стерильные полипропиленовые пробирки объемом 50мл с закрывающимися крышками (Falcon) так, чтобы капли фиколла не оставались на стенках.

Разделяли компоненты аспирата костного мозга центрифугированием в центрифуге 30 минут при $t = 22^{\circ}\text{C}$ с значением g (ускорение) равным 400. При этом скорость разгона и торможения ротора была минимальной (чтобы избежать перемешивания аспирата с фиколлом). Таким образом, получали мононуклеарные клетки, собранные в «интерфазное кольцо». Это «кольцо» клеток снимали с градиента пипеткой так, чтобы оно не перемешалось с другими компонентами и переносили в стерильную пробирку типа Falcon объемом 50 мл. Добавляли физиологический раствор до 50 мл, перемешивали пипетированием 5-6 раз, закрывали пробкой, осаживали клетки центрифугированием в течение 5 мин (ускорение 400g, $t = 22^{\circ}\text{C}$).

В результате центрифугирования получали клеточный осадок. Всплывающую фракцию бесклеточного супернатанта убирали пипеткой. После чего ресуспендировали полученный осадок с физиологическим раствором (1 мл), подсчитывали жизнеспособность клеток в аликвоте 50 мкл. В оставшуюся часть клеточной суспензии добавляли физиологический раствор (до 50 мл), повторяли центрифугирование 5 мин (ускорение 400g, $t = 22^{\circ}\text{C}$). Удаляли всплывающую фракцию, свободную от клеток, пипеткой. К суспензии клеток добавляли питательную среду RPMI-1640 (30 мл), повторно ресуспендировали осажденные клетки и переносили их в два пластиковых культуральных флакона (площадью по 25 см^2).

Инкубирование клеточной суспензии осуществляли в CO_2 -инкубаторе (концентрация CO_2 5%, $t = 37^{\circ}\text{C}$, время 30 мин). Неадгезированные клетки удаляли пипеткой в новую стерильную пробирку на 50 мл, доводили объем до 50 мл физиологическим раствором, центрифугировали 5 мин (ускорение 400g, $t = 22^{\circ}\text{C}$). Наконец, удаляли весь супернатант, осадку клеток ресуспендировали с 1мл физиологического раствора, забирали аликвоту 50 мкл для подсчета жизнеспособности. Повторяли отмывку в 50 мл физиологического раствора. Чистоту клеток подтверждали проточной цитометрией (проточный цитометр Navios Verckman Coulter). Клетки несли маркеры CD^{29} , CD^{44} , CD^{73} , CD^{90} , CD^{105} , CD^{106} и были негативны по маркерам CD^{14} , CD^{34} , CD^{45} , HLA-DR. После чего концентрировали клетки в 0,1 мл физиологического раствора, доводя концентрацию до 7.5×10^6 клеток/мл. Перемещали клеточную суспензию в шприцы и вводили внутрибрюшинно мышам.

Жизнеспособность суспензии клеток после окрашивания 5% раствором трипанового синего, составляла 95-98%.

2.4. Методика оценки пролиферативной активности спленоцитов у мышей

Оценку пролиферативной активности спленоцитов выполняли на базе лаборатории экспериментальной иммунотерапии ФГБУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН. Чтобы оценить функциональную активность лимфоидных клеток *in vitro*, определяли спонтанную, Т- и В-митоген-индуцированную пролиферацию спленоцитов. Селезенки мышей (после эвтаназии животных) забирали с соблюдением правил асептики и антисептики. Из них готовили клеточную суспензию: измельчали ткань ножницами во флаконах со средой, пропускали полученную суспензию неоднократно через шприц с иглами уменьшающегося диаметра, пропускали через фильтр с металлической сеткой. Трехкратно делали отмывку со сменой среды с использованием центрифуги (при 1000 об/мин в течение десяти минут). Убирали надосадочную жидкость, а оставшийся осадок спленоцитов ресуспендировали в полной среде RPMI – 1640 (содержащей 10% эмбриональной сыворотки телят, 10 мМ HEPES, 4×10^{-5} М 2-меркаптоэтанола, 2 мМ L-глутамина, 50 мкг/мл гентамицина) и подсчитывали их общее количество. Полученную клеточную суспензию доводили до концентрации $0,7 \times 10^6$ клеток/мл полной среды и помещали в 96-луночные круглодонные планшеты для культивирования по 100×10^3 клеток/лунку в объеме 150 мкл/лунку. В лунки добавляли оптимальные дозы митогенов Con A и PWM, (2 мкг/мл и 1 мкг/мл, соответственно, – в объеме 10 мкл). Для оценки спонтанной пролиферации в лунки добавляли 10 мкл среды RPMI – 1640. Все пробы выполняли в триплетах. Инкубацию клеточной культуры проводили при $+37^{\circ}\text{C}$ в атмосфере, содержащей 5% CO_2 , в течение 72 ч. Пролиферативную активность клеток оценивали по включению H^3 -тимидина в ДНК делящихся клеток. Метку вносили за 16 ч до конца культивирования по 1 мкКи в каждую лунку планшета. Для этого основной раствор H^3 -тимидина сначала растворяли в среде RPMI – 1640 до концентрации 100 мкКи/мл, а затем по 10 мкл раствора добавляли в каждую лунку планшета. По окончании инкубации клетки собирали на стеклян-

волоконистые фильтры Flow Lab с помощью аппарата «Harvester» (TITERTEK, Англия). Фильтры помещали во флаконы для сцинтилляционного счёта и радиоактивность определяли в сцинтилляторе (4 г дифенилоксазола и 0,1 г дифенил-оксазолилбензола на 1 л толуола) с использованием жидкостного сцинтилляционного счётчика «Delta» (США). Результаты оценивали в имп/мин. на 100×10^3 клеток, подсчитывали средние значения по триплету. Оценку данных проводили в абсолютных значениях.

2.5. Гематологические исследования

Забор крови у животных выполняли в утренние часы по методике, разработанной авторами Nemas A., Smith A.J., Solberg P., сотрудниками Forsoksdyrveterinar-tjeneste Laboratory Animal Veterinary Services Vivarium Universitet, Bergen в 1998г, в русскоязычной литературе описанной Степеновой О.И. (Степенова О. И., 2006). Пользуясь данной методикой можно многократно, без применения анестезии, без вреда для здоровья животных получать до 140 мкл крови из малой подкожной вены голени. Кровь набирали в микропипетки, стабилизировали гепарином. Гематологические показатели, подсчет лейкоцитарной формулы на окрашенных мазках крови определяли по стандартным методикам (В. В. Меньшикова, 1987).

Метод подсчета эритроцитов в счетной камере Горяева.

Оборудование: микроскоп, микропипетка, микропробирка Эпандорфа, счетная камера Горяева.

Реактивы: 0,85% раствор хлорида натрия (физиологический раствор).

Последовательность действий: в чистые сухие микропробирки эпандорфа набирали по 1 мл физиологического раствора (количество пробирок по количеству исследуемых проб крови). Затем, с помощью автопипетки, набирали 5 мкл крови и вносили их в подготовленную микропробирку с физиологическим раствором. Не вынимая пипетки, несколько раз плавно набирали и выпускали пробу крови, как бы промывая микропипетку и перемешивая жидкости. Таким

образом получали разведение крови 1:200. Подсчитывали эритроциты в камере Горяева в пяти больших квадратах, начиная в верхнем левом и заканчивая в нижнем правом. Подсчет эритроцитов проводили в затемненном поле (прикрытом диафрагмой микроскопа).

Расчет: количество эритроцитов определяли по следующей формуле:

$$X = \frac{A \times B}{B \times \Gamma} = \frac{A \times 200}{80 \times 1/4000} = A \times 1000 \quad (1).$$

Где X – количество эритроцитов в 1 мкл крови;

A – количество эритроцитов в пяти больших квадратах;

B – степень разведения крови (200);

B – количество маленьких квадратов (16x5=80);

Г – объём счетной камеры над малым квадратом (1/4000).

Метод подсчета лейкоцитов в счетной камере Горяева.

Для подсчета лейкоцитов использовали меланжерный способ разведения крови жидкостью Тюрка.

Принцип данного метода основан на том, что входящая в состав жидкости уксусная кислота разрушает эритроциты, а генцианвиолет окрашивает лейкоциты.

Оборудование: микропробирка эппендорфа, автопипетка, микроскоп, счетная камера Горяева, фильтровальная бумага.

Реактивы: Жидкость Тюрка (смесь 3% раствора уксусной кислоты с 1% раствором генцианвиолета) в соотношении 10:1).

Последовательность действий: в микропробирки набирали по 100 мкл жидкости Тюрка, добавляли 5 мкл крови. Не вынимая пипетки, несколько раз плавно набирали и выпускали пробу крови, как бы промывая микропипетку и перемешивая жидкости. Получали разведение крови 1:20. Первую каплю разведенной пробы крови выпускали на фильтровальную бумагу, а следующей заполняли счетную камеру. Начинали подсчет клеток через 2–3 минуты, когда лейкоциты осядут на дно камеры. Подсчет лейкоцитов производили под микроскопом при объективе x8 и окуляре x15 в 100 больших квадратах.

Использовали 25 (5x5) групп квадратов, каждая из которых состоит из четырех квадратов.

Расчет количества лейкоцитов производили по формуле:

$$X = \frac{A \times B}{B \times \Gamma} = \frac{A \times 20}{1600 \times 1/4000} = A \times 50 \quad (2).$$

Где X – количество лейкоцитов в 1 мкл крови;

A – количество лейкоцитов, в 100 больших квадратах;

B – степень разведения крови (20);

B – количество маленьких квадратов в 100 больших квадратах (100x16=1600);

Г – объем счетной камеры (1/4000) [45].

Техника приготовления и фиксации мазка крови.

Кожу в месте прокола предварительно обрабатывали спиртом, шерсть сбрасывали.

Мазок крови готовили из свежей крови по общепринятой методике. 2–3 капли крови брали из подкожной вены голени и помещали на предметное стекло (обработанное спирт-эфиром). Затем шлифованным покровным стеклом готовили мазок, растирая каплю крови по предметному стеклу. Перед фиксацией мазок крови сушили на воздухе. Фиксировали мазки метиловым спиртом в течение 5 минут.

Окрашивали мазки крови по Романовскому-Гимза, коммерческим красителем («Гемстандарт», Россия). Для окраски мазков крови данным методом используют готовый маточный раствор краски Романовского, который разводят дистиллированной водой в соотношении 1:1. Для выведения лейкоцитарной формулы (лейкограммы) использовали однопольный метод. Исследование окрашенных мазков крови проводили под микроскопом с объективом x 90 и иммерсионным маслом. Лейкоцитарную формулу определяли в средней части мазка, проходя его поперек от одного края до другого и обратно. Подсчитывали 100 клеток. Для регистрации каждого вида лейкоцитов использовали

одиннадцатиклавишные счетчики, на восьми клавишах которого имеются буквенные обозначения, соответствующие наименованию клеток.

2.6. Морфометрия и световая микроскопия

Гистологическое исследование выполняли в лаборатории экспериментальной хирургии и морфологии ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е. Н. Мешалкина» МЗ РФ. Для гистологического исследования забирали селезенку и медиальные подвздошные лимфатические узлы после естественной гибели или после декапитации животных под эфирным наркозом. Приготовление срезов лимфатических узлов и селезенки проводили традиционным способом подготовки материала для получения гистологического препарата: материал фиксировали, затем промывали, на третьем этапе подготовки материал обезвоживали и уплотняли. Далее готовили блоки, из которых получали срезы, окрашивали их, делали заключение и маркировали. Материал фиксировали раствором забуференного формалина 10%. Лимфатические узлы и селезенку мышей погружали в раствор целиком, при этом соотношение объема формалина к фиксируемому материалу составляло 100 : 1. Промывка материала в водопроводной проточной воде продолжалась 18–24 ч. Затем фиксированные органы подготавливали для получения парафиновых срезов (попытка получить замороженные срезы не удалась из-за повышенной хрупкости лимфоидной ткани). Перед тем как залить материал в парафин мы, согласно гистологической технике, удаляли воду из препаратов и уплотняли их. Проводка материала по спиртам возрастающей концентрации – очень важный этап в подготовке гистологического препарата, особенно учитывая маленькие размеры мышинных лимфоузлов и нежную структуру лимфоидной ткани. Материал обезвоживали постепенно, в чисто вымытых и высушенных склянках с притертыми пробками. Кусочки ткани последовательно переносили в спирты начиная с 70%, постепенно повышая его концентрацию до абсолютного (100%) включительно, каждый раз

при переносе материала из одного спирта в другой осушали препарат фильтровальной бумагой (чтобы не снижать концентрацию последующего спирта). В каждом спирте препараты находились от 4 до 14 ч в зависимости от размера кусочка. Далее материал помещали в смесь абсолютного спирта и ксилола 1:1. Через час кусочки переносили в первый чистый ксилол еще на один час, потом во второй чистый ксилол на один час, и, наконец, в насыщенный раствор легкоплавкого парафина в ксилоле в термостате при температуре 37°C на 2 ч. Чтобы избежать неравномерного затвердевания парафина (и материала в нем), препараты переносили в термостате ($t = 54-57\text{ C}$) в чистый тугоплавкий парафин на 1,5–2 ч, затем во второй чистый парафин ($t = 54-57\text{ C}$) на 1,5–2 ч. После чего кусочки ткани заливали расплавленным парафином в бумажные формочки и охлаждали водой низкой температуры в холодильнике. Добивались равномерного затвердевания парафина и тканей в нем. После полного затвердевания парафиновые комплексы извлекали из формочек, скальпелем вырезали блоки с материалом таким образом, чтобы вокруг кусочка оставалась парафиновая кайма 2 мм с каждой стороны. Чтобы прикрепить блоки к деревянным кубикам, обезжиренным эфиром, касались нагретым на спиртовке шпателем поверхности препарата и крепили к верхней поверхности деревянного кубика. Срезы тканей толщиной 5 мкм изготавливали с использованием микротомы. С микротомного ножа с помощью препаровальной иглы срезы переносили в кристаллизационную чашку с водопроводной водой (температура воды 35–40°C) на несколько секунд для их распрямления. Затем переносили срез на предметное стекло, обработанное яичным белком с глицерином. Срез извлекали из воды на середину стекла, удерживая его там препаровальной иглой. Затем срезы осушали и помещали в термостат с температурой 37°C до следующего дня. Для гистологического исследования из каждого образца готовили не менее трех срезов. Приготовление реактивов и красителей проводили по общепринятым методикам.

Перед тем как приступить к окрашиванию срезы депарафинировали. Для этого их помещали сначала в ксилол-1 на одну минуту, затем в ксилол-2 на одну

минуту, в спирты нисходящей концентрации и, наконец, помещали в чашку Петри с дистиллированной водой. После каждого кювета стекло промакивали фильтровальной бумагой. Затем проводили стандартную окраску гематоксилином-эозином по Майеру и аzur-эозином по Нохт-Максимову (Волкова С. В., Елецкий Б. К., 1971; Горчакова О. В., Горчакова В. Н., 2013).

Окрашенные срезы заключали в полистирол. Постоянные препараты маркировали в соответствии с группой эксперимента, видом ткани и датой забора материала. Для морфометрического изучения лимфоузлов и селезенки использовали алгоритм сотрудников НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН (г.Новосибирск) (Анцырева Ю. А., Асташов В. В., Казаков О. В. и др., 2007; Горчакова О. В., Горчакова В. Н., 2013), основанный на известном принципе стереологии (когда предполагается, что часть среза, занятая сечением того или иного компонента, соответствует части объема, занимаемого этим компонентом).

Используя принципы стереометрии и метод наложения точечных морфометрических сеток, определяли объемную плотность структур селезенки и лимфоузлов (Стефанов С. Б., 1985). При увеличении в 16, 32, 200 и 1000 раз методом точечного счета производили морфометрию срезов и подсчет клеточных элементов в структурных компонентах селезенки и лимфатических узлов. Если на структуру, занимающую наименьшую площадь среза, приходилось не менее двух точек, выбор сетки-теста считали достаточным. При наложении сетки считали точки, выпадающие на профили структур селезенки.

В селезенке определяли площади белой и красной пульпы и площади их отдельных структур: герминативных центров, маргинальной зоны, периартериальной муфты, тяжей и синусов красной пульпы.

В лимфатических узлах подсчитывали абсолютное количество клеток на стандартной площади 2025 мкм^2 . В лимфатическом узле определялись площади коркового (первичные и вторичные лимфоидные узелки + паракортикальная (Т-зависимая) зона + корковое плато) и мозгового вещества (мозговые тяжжи + мозговые синусы) и площади их отдельных структур: капсулы, трабекул,

краевого синусов, первичных и вторичных лимфатических узелков, коркового плато (межузелковая зона) и паракортикальной зоны, мозговых синусов и мозговых тяжей. Соотношение удельной площади коркового вещества к удельной площади мозгового (корково-мозговой индекс – КМИ) рассчитывали для лимфатических узлов в каждой экспериментальной группе.

Выделение структурных компонентов и дифференцировку клеточных форм в селезенке и лимфоузлах производили с учетом Международной гистологической номенклатуры (Афанасьева Ю. И., Юрина Н. А., Алешин Б. В. и др., 1989). Клетки лимфоидных органов распознавали, используя имеющиеся рекомендации (Афанасьева Ю. И., Юрина Н. А., Алешин Б. В. и др., 1989; Малофеев Ю. М., Чебаков С. Н., 2000; Раковщик А. Л., Гриф С. Л., Чурилова Н. И., 2002).

2.7. Статистическая обработка

Статистическую обработку полученных данных проводили методом расчета средних арифметических величин (M) и стандартных ошибок (m) с использованием программы Microsoft Office Профессиональный Плюс 2007 (Excel), версия 12.0.6612.1000 (издатель Microsoft Corporation, США). В таблицах информация представлена в виде $M \pm m$. Уровень значимости различий вариационных рядов оценивали параметрическим t -критерием Стьюдента. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Динамика изменений гематологических, иммунологических и морфологических показателей при экспериментальном лейкозе Раушера у мышей BALB/c

Экспериментальное наблюдение длилось 11 месяцев. Дважды в неделю проводили клинический осмотр животных, пальпировали у них селезенку для определения размеров органа. У мышей группы АГ увеличение размеров селезенки выявили на 21-й – 28-й день после инфицирования. Гибель животных из этой группы началась с 25-го дня после заражения и шла постепенно в течение всех 11 месяцев наблюдения (Рисунок 2).

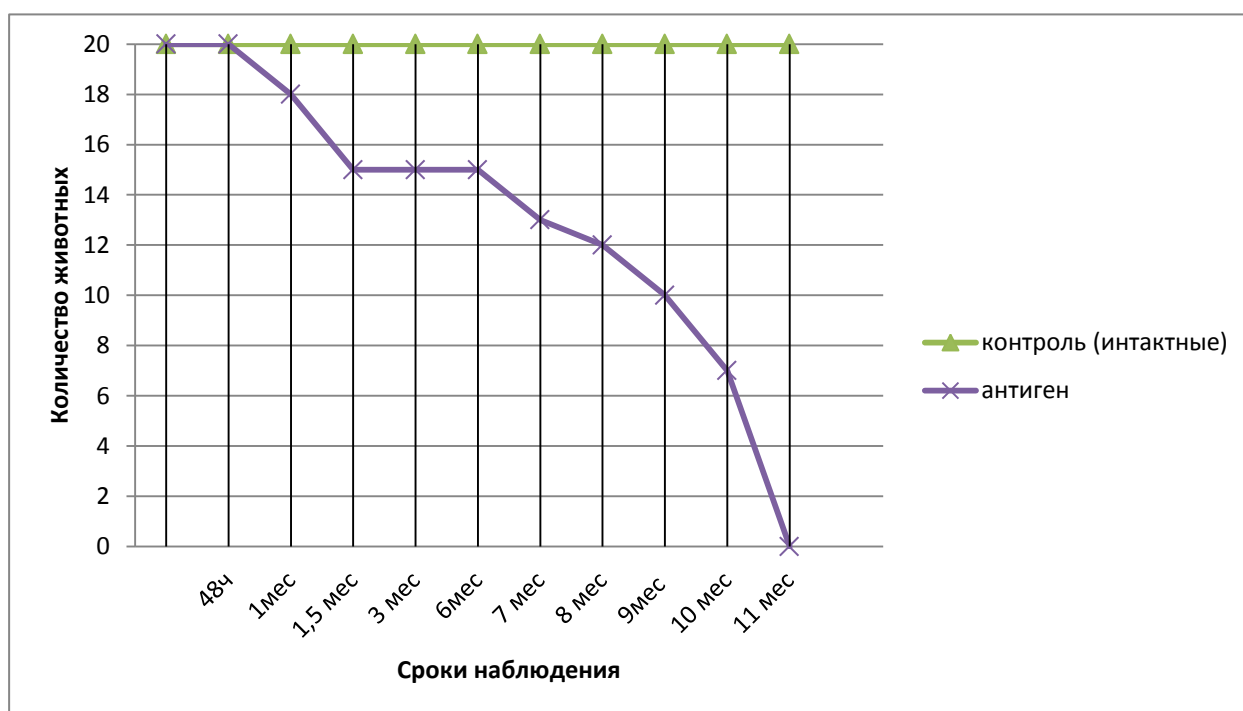


Рисунок 2 – Кривая выживаемости мышей опытной и контрольной групп

25% животных погибло в течение первых 3-х месяцев. В период 3 – 7 мес. пало 10% группы; летальность 7 – 10-й мес наблюдения была от 5% до 15% каждый

месяц; и в течение последних двух месяцев (10-11-й) погибло последние 35% мышей группы АГ.

3.1.1. Изменение гематологических показателей при введении антигена – вируса лейкоза Раушера

Изменения гемопоэтической системы влияют на работу кроветворных органов. Эти изменения отражаются в клиническом анализе крови. (Кравченко И. Н., Хохлова О. Н., Кравченко Н. Н., 2008). Чем больше изменен обмен веществ в организме, тем сильнее и глубже изменения в крови (Околелов В. И., Зорина Н. Р., Капочкин В. Ф., 2005; Chau F., Levacher-Clergeot M., Desforges B., 1993; Jacobs A., 1985; Sun D., Wang J., Yao W., 2004). По литературным данным (Umar M. H., 1977) известно, что вирусные частицы обнаруживаются через 8 ч после инфицирования мышей вирусом лейкоза Раушера в тромбоцитах и в плазме. Затем вирусные частицы пропадают из крови и вновь появляются через 72 ч после инфицирования. Большинство исследователей эритробластозов отмечают стойкую анемию, анизоцитоз эритроцитов, пойкилоцитоз, полихромазию и гиперхромиию. Часто отмечают лейкопению (иногда умеренное увеличение лейкоцитов до 20-30 г/л). По мере развития болезни всегда отмечают появление бластных форм (Калуйна, В. А., 1967; Косых, В. П., 1983; Palmieri S., 1985).

В нашем исследовании в гиперпластическом периоде болезни мы наблюдали достоверное уменьшение количества эритроцитов в группе АГ – в 1,86 раз по сравнению с контрольной группой (К) (Таблица 1). В терминальном периоде количество эритроцитов в группе АГ уменьшилось в 2,49 раз по сравнению с контролем и в 1,45 раз по сравнению с группой АГ гиперпластического периода.

Количество лейкоцитов в группе АГ в гиперпластическом периоде

Таблица 1 – Изменение гематологических показателей контрольной группы животных (К) и группы Антигена (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни ($M \pm m$), $n=9$

Количество в 1 мкл крови	К		АГ	
	I	II	I	II
Эритроциты, $\times 10^6$	$10,03 \pm 0,4$	$9,29 \pm 0,35$	$5,39 \pm 0,43^*$	$3,73 \pm 0,15^* \Delta$
Лейкоциты, $\times 10^3$	$8,17 \pm 1,2$	$7,78 \pm 0,94$	$4,19 \pm 0,68^*$	$5,12 \pm 0,74$

Примечание: * различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с группой АГ ($P \leq 0,05$).

уменьшилась в 1,95 раз по сравнению с контролем и составило $4,19 \times 10^3 \pm 0,68$ в 1 мкл.

При исследовании в терминальном периоде болезни количество белых клеток крови увеличилось до $5,12 \times 10^3 \pm 0,74$, и различия с контрольными значениями перестали быть достоверными. В лейкоцитарной формуле в группе АГ появились юные клетки (Таблица 2).

Таблица 2 – Лейкоцитарная формула контрольной группы мышей BALB/c (К) и группы Антигена (АГ) в гиперпластическом (I) и терминальном (II) периодах болезни (расчет в % от 100 клеток), ($M \pm m$), $n=9$

Формы лейкоцитов		АГ		К	
		I	II	I	II
Базофилы		$0,11 \pm 0,11$	$0,11 \pm 0,11$	-	-
Эозинофилы		$0,33 \pm 0,17^*$	$15,0 \pm 0,5^*$	$0,44 \pm 0,24$	$0,44 \pm 0,29$
Нейтрофилы	юные	$1,22 \pm 0,23^*$	$0,78 \pm 0,52^*$	-	-
	палочкодерные	$14,67 \pm 0,42^*$	$16,93 \pm 1,21^* \Delta$	$0,33 \pm 0,18$	$0,44 \pm 0,24$
	сегментоядерные	$54,0 \pm 2,99^*$	$14,11 \pm 1,87 \Delta^*$	$35,89 \pm 3,22$	$39,0 \pm 2,27$
Лимфоциты		$28,78 \pm 2,90^*$	$39,78 \pm 2,04^* \Delta$	$62,67 \pm 3,38$	$59,11 \pm 2,16$
Моноциты		$0,89 \pm 0,26$	$13,29 \pm 0,71^* \Delta$	$0,67 \pm 0,24$	$1,0 \pm 0,17$

Примечание: * различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с группой АГ ($P \leq 0,05$).

В (I) гиперпластическом периоде их количество юных клеток составляло 1,22%. Количество нейтрофилов увеличилось в 2 раза по сравнению с контролем, при этом отмечался дегенеративный сдвиг влево (индекс сдвига 0,3) и лимфоцитопения (количество лимфоцитов уменьшилось в 2,2 раза по сравнению с контрольными значениями). В терминальном периоде (II) количество юных клеток уменьшилось до 0,78%. Была отмечена нейтропения, дегенеративный сдвиг увеличился до 1,3. Осталась лимфоцитопения, наблюдали моноцитоз и эозинофилию.

3.1.2. Морфофункциональное исследование медиального подвздошного лимфатического узла у контрольной группы животных. Динамика морфологических изменений лимфоузла при экспериментальном лейкозе Раушера

При морфологическом исследовании медиальный подвздошный лимфоузел контрольной группы животных имел правильную округлую форму. Выраженный корковый слой с лимфоидными узелками располагался по периферии. Мозговая зона образована мозговыми тяжами и мозговыми синусами; между корковым и мозговым слоем диффузно располагалась паракортикальная зона (Рисунок 3 (а,б)).

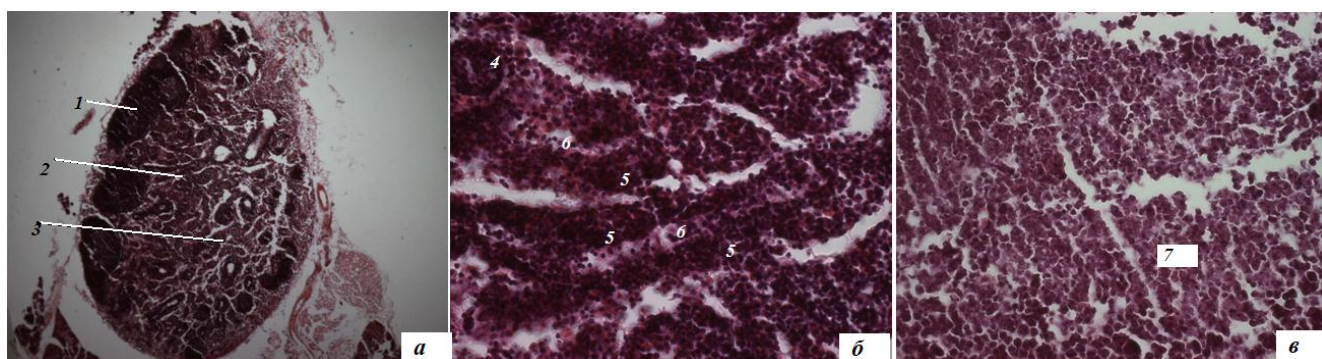


Рисунок 3 – Подвздошный медиальный лимфоузел животных контрольной группы (а, б) и группы Антиген (в) в гиперпластический период развития болезни,

окраска гематоксилином и эозином; а) увеличение X 10, б), в) увеличение X 100; 1- корковое вещество, 2- паракортикальная зона, 3- мозговое вещество, 4 вторичный лимфоидный узелок, 5- мозговые тяжи, 6- мозговые синусы, 7- очаг некроза

В группе АГ в гиперпластическом периоде наблюдения структура исследуемых лимфоузлов была, в целом, сохранена, однако на некоторых участках паренхимы встречали очаги некроза (Рисунок 3, (в)).

В гиперпластическом периоде развития вирусного лейкоза у животных в группе АГ площадь коркового и мозгового вещества практически не отличалась от таковых у контрольных животных и составляла 33,3% и 64,5% соответственно (Таблица 3). Тем не менее, мы наблюдали перестройку структуры лимфатического узла. Уменьшилась площадь первичных и вторичных лимфоидных узелков (на 0,68% и на 4,27% соответственно) в сравнении с контрольной группой (контрольные значения коркового вещества – первичные и вторичные лимфоидные узелки – составляли, соответственно, 1,83% и 6,21%). Причем уменьшение размеров вторичных лимфоидных узелков произошло как за счет уменьшения герминативных центров (в 3,5 раза), так и за счет уменьшения мантии (в 3 раза); а относительная площадь паракортекса, наоборот, увеличилась на 5,59%. Размеры коркового плато меньше по сравнению с контрольными показателями почти в 2 раза (0,9% в группе АГ и 1,75% в контрольной группе от общей площади медиального подвздошного лимфатического узла). Мозговые тяжи у животных экспериментальной группы увеличились на 3,05%, а размеры мозговых синусов уменьшились на 2,48% (относительные размеры мозговых тяжей контрольной группы животных в этот период наблюдения составляли 40,1%, синусов – 23,83%). Площадь краевого синуса увеличилась на 0,24% (размеры краевого синуса контрольной группы животных в это же время составили 0,65%), размеры трабекул достоверно не изменились. Кортиково-мозговой индекс составил 0,52 у животных группы АГ и 0,53 у контрольной группы животных (фрагментированный тип).

Таблица 3 – Относительные площади структурно-функциональных зон лимфоузлов животных контрольной группы (К) и группы Антигена (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни ($M \pm m$) (%)

Структурно-функциональные зоны	К (I)	АГ (I)	К (II)	АГ (II)
Герминативный центр вторичных лимфоидных узелков	2,86 ± 0,11	0,81 ± 0,07*	1,04 ± 0,07*	0,15 ± 0,03* Δ
Мантий вторичных лимфоидных узелков	3,41 ± 0,07	1,13 ± 0,11*	2,82 ± 0,2*	0,37 ± 0,04* Δ
Вторичные лимфоидные узелки	6,21 ± 0,11	1,94 ± 0,19*	3,86 ± 0,23*	0,52 ± 0,08* Δ
Первичные лимфоидные узелки	1,83 ± 0,15	1,15 ± 0,07*	2,29 ± 0,18	0,41 ± 0,06* Δ
Корковое плато	1,75 ± 0,1	0,9 ± 0,09*	3,34 ± 0,17*	0,63 ± 0,07*
Паракортикальная зона	23,71 ± 1,1	29,3 ± 1,15 *	40,1 ± 1,63*	21,76 ± 0,92 * Δ
Мозговые тяжи	40,1 ± 0,37	43,15 ± 1,21	31,79 ± 1,08*	48,72 ± 1,44* Δ
Мозговые синусы	23,83 ± 0,67	21,35 ± 0,42*	16,5 ± 0,42*	26,81 ± 1,3* Δ
Краевой синус	0,65 ± 0,1	0,89 ± 0,07	0,54 ± 0,05	0,11 ± 0,02* Δ
Капсула	1,82 ± 0,06	1,27 ± 0,09*	1,39 ± 0,08*	0,53 ± 0,05* Δ
Трабекулы	0,05 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,21 ± 0,06	0,5 ± 0,07
В-зона	49,93 ± 1,95	47,15 ± 2,3	41,28 ± 2,51	50,28 ± 2,75*
Корковое вещество	33,57 ± 1,37	33,3 ± 2,32	49,56 ± 2,33*	23,32 ± 1,56* Δ
Мозговое вещество	63,89 ± 1,32	64,5 ± 3,5	48,3 ± 1,53*	75,53 ± 4,28*
Корково-мозговой индекс	0,53 ± 0,02	0,52 ± 0,03	1,03 ± 0,05*	0,31 ± 0,02* Δ

Примечание: * различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с группой АГ ($P \leq 0,05$).

В терминальном периоде развития вирусного лейкоза (RLV) в группе Антиген отмечали уменьшение относительной площади коркового вещества в 2,1 раза при увеличении мозгового на 27,2% по отношению к контрольной группе (относительная площадь коркового и мозгового вещества исследуемого лимфатического узла контрольной группы животных в этот период наблюдения составила соответственно 49,56% и 48,3%) (Таблица 3). По сравнению с предыдущими результатами этой же группы (АГ гиперпластический период) корковое вещество уменьшилось в 1,4 раза, а мозговое увеличилось на 11,03%.

В структуре коркового вещества группы АГ уменьшилась площадь первичных узелков в 5,6 раз и вторичных узелков в 7,4 раза (по сравнению с контрольными значениями, которые составили 2,29 и 3,86% соответственно). По сравнению с АГ гиперпластического периода площадь первичных узелков уменьшилась в 2,8 раза, вторичных узелков – 3,7 раза, причем уменьшение вторичных лимфоидных узелков происходило и за счет уменьшения площади, герминативных центров (в 6,9 раз), и за счет уменьшения мантии в 7,6 раз (в контрольной группе животных в этот период относительная площадь герминативных центров составила 1,04%, а площадь мантии – 2,82%). Размеры коркового плато уменьшились в 5,3 раза в сравнении с контрольными показателями этого периода (3,34%) и не имели достоверных различий с группой АГ гиперпластического периода. Площадь паракортикальной зоны уменьшилась в 1,8 раза по сравнению с контролем и на 7,54% при сопоставлении с аналогичными значениями группы АГ гиперпластического периода (I). Мозговые тяжи у животных экспериментальной группы увеличились на 16,9% по сравнению с контрольными значениями и на 5,57% по отношению к значениям АГ гиперпластического периода; величина мозговых синусов возрасла на 10,3% (при сравнении с группой контроля) и на 5,46% по сравнению с группой АГ гиперпластического периода. Площадь краевого синуса уменьшилась в 4,9 раза, капсулы – в 2,6 раза (по сравнению с контролем). По сравнению с АГ гиперпластического периода эти же показатели уменьшились в 8,1 раз и в 2,4 раза соответственно. Размеры трабекул увеличились в 2,4 раза по сравнению с контролем. Корово-мозговой индекс составил 0,31 (фрагментированный тип). В контрольной группе животных в этот период структура медиального подвздошного лимфоузла была промежуточного типа (по Ю. И. Бородину), т.е. корково-мозговой индекс был равен 1,03 (Таблица 3).

Изменение клеточного состава структурно-функциональных зон подвздошного медиального лимфоузла группы АГ. Клеточный состав герминативных центров вторичных лимфоидных узелков группы АГ в гиперпластическом периоде (I) представлены, в большей степени, лимфоцитами

(средними и малыми) и лимфобластами (в контрольной группе в этот период основными клетками герминативных центров вторичных лимфоидных узелков были средние и малые лимфоциты, которые составляли 16,0% и 73,87% соответственно) (Таблица 4).

Таблица 4 – Клеточный состав структурно-функциональных зон лимфоузлов животных контрольной группы и группы Антиген в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни ($M \pm m$) (%)

Клеточные элементы	К (I)	К (II)	АГ (I)	АГ (II)
1. Герминативный центр вторичных лимфоидных узелков				
Лимфоциты средние	16,0 ± 0,94	13,13 ± 0,3*	20,95 ± 0,5*	27,5 ± 0,62*Δ
Лимфобласты	3,77 ± 0,17	6,82 ± 0,16*	10,14 ± 0,34*	9,6 ± 0,53*
Лимфоциты малые	73,87 ± 1,12	72,44 ± 1,5	60,51 ± 2,0*	48,57 ± 1,47*Δ
Ретикулярные клетки	3,3 ± 0,15	3,15 ± 0,16	2,7 ± 0,13*	3,1 ± 0,14
Макрофаги	1,8 ± 0,11	1,85 ± 0,08	2,21 ± 0,13	5,5 ± 0,15*Δ
Нейтрофилы	0,21 ± 0,05	0,36 ± 0,07	0,68 ± 0,08*	0,74 ± 0,08*
Митотически делящ. клетки	1,06 ± 0,07	2,24 ± 0,16*	2,81 ± 0,17*	4,9 ± 0,31*Δ
2. Паракортикальная зона				
Лимфоциты средние	10,1 ± 0,43	2,39 ± 0,09*	15,8 ± 0,62*	18,44 ± 0,9*
Лимфобласты	2,26 ± 0,13	0,24 ± 0,05*	5,88 ± 0,5*	3,49 ± 0,11*Δ
Лимфоциты малые	84,3 ± 1,87	94,43 ± 1,14*	74,37 ± 1,98*	68,6 ± 0,86*Δ
Ретикулярные клетки	2,5 ± 0,15	1,81 ± 0,06*	2,56 ± 0,08	3,76 ± 0,12*Δ
Макрофаги	0,69 ± 0,08	0,97 ± 0,07	1,13 ± 0,07*	5,3 ± 0,14*Δ
Нейтрофилы	0,16 ± 0,04	0,17 ± 0,04	0,26 ± 0,03	0,41 ± 0,07*
3. Мозговые тяжи				
Лимфоциты малые	20,82 ± 1,13	32,0 ± 0,94*	20,3 ± 1,0	15,32 ± 0,74*Δ
Лимфоциты средние	6,8 ± 0,37	6,85 ± 0,48	9,08 ± 0,45*	13,0 ± 0,63*Δ
Плазмобласты	2,94 ± 0,2	3,48 ± 0,15	4,27 ± 0,19*	4,97 ± 0,42*
Плазмобласты незрелые	15,1 ± 0,78	11,2 ± 0,64*	21,12 ± 0,51*	20,3 ± 1,03*
Плазмобласты зрелые	48,0 ± 1,91	38,82 ± 1,0*	36,82 ± 0,96*	32,55 ± 1,13*Δ

Продолжение Таблицы 4

Клеточные элементы	К (I)	К (II)	АГ (I)	АГ (II)
3.Мозговые тужи				
Ретикулярные клетки	3,26 ± 0,21	3,84 ± 0,17	3,52 ± 0,11	4,86 ± 0,3*Δ
Макрофаги	1,77 ± 0,16	2,1 ± 0,1	2,12 ± 0,09	5,56 ± 0,43*Δ
Нейтрофилы	0,65 ± 0,13	0,33 ± 0,06	0,97 ± 0,11	1,07 ± 0,1*
Митотически делящ.клетки	0,61 ± 0,1	1,38 ± 0,09*	1,8 ± 0,11*	2,39 ± 0,31*
4.Мозговые синусы				
Лимфоциты малые	39,56 ± 2,78	31,18 ± 1,2*	25,22 ± 0,66*	17,6 ± 0,78*Δ
Лимфоциты средние	12,03 ± 0,39	15,06 ± 0,68*	15,07 ± 0,46*	11,24 ± 0,54*Δ
Плазмобласты	0,98 ± 0,19	1,16 ± 0,12	1,92 ± 0,18*	2,67 ± 0,09*Δ
Плазмоциты незрелые	8,84 ± 0,45	12,53 ± 0,62*	14,96 ± 0,58*	17,5 ± 0,65*
Плазмоциты зрелые	25,88 ± 1,84	30,22 ± 1,14	36,78 ± 1,1*	36,6 ± 1,19*
Макрофаги	5,16 ± 0,19	4,3 ± 0,23	2,32 ± 0,15*	7,86 ± 0,52*Δ
Ретикулярные клетки	5,9 ± 0,26	4,7 ± 0,36	3,02 ± 0,15*	4,14 ± 0,24Δ
Тучные клетки	0,57 ± 0,15	0,35 ± 0,09	0,15 ± 0,05*	0,57 ± 0,06Δ
Нейтрофилы	1,06 ± 0,24	0,51 ± 0,07	0,55 ± 0,04	1,86 ± 0,15*Δ

Примечание: * различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с группой АГ ($P \leq 0,05$).

Количество бластных форм в герминативных центрах группы АГ гиперпластического периода увеличилось в 2,7 раз, средних лимфоцитов – в 1,3 раза по сравнению с контролем (число бластных форм контрольной группы равнялось 3,77%). Как видно из таблицы, количество макрофагов увеличилось в 1,2 раза, митотически делящихся клеток – в 2,7 раз, нейтрофилов – в 3,2 раза. Количество же таких клеток как малые лимфоциты и ретикулярные клетки уменьшилось в 1,2 раза (при сравнении с контрольной группой). Для сравнения количество макрофагов и ретикулярных клеток в герминативных центрах в контрольной группе в это время было, соответственно, 1,8% и 3,3% (от общего числа клеток); количество митотически делящихся клеток составляло 1,06%.

Наиболее часто встречаемыми клетками **паракортекса** инфицированных животных были средние и малые лимфоциты (как и в контрольной группе), хотя количество их уменьшилось, по сравнению с контрольной группой. Так же, как и в герминативном центре, по отношению к контрольным значениям, увеличилось количество лимфобластов в 2,6 раз. Увеличилось количество средних лимфоцитов, макрофагов и нейтрофилов в 1,6 раз. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 9,9%. Содержание ретикулярных клеток в этой зоне по отношению к группе контроля достоверно не изменилось.

В **мозговых тяжах** у животных группы АГ в гиперпластическом периоде отмечалось увеличение митотически делящихся клеток почти в 3 раза (в контрольной группе число митозов было равно 0,61%). Увеличилось количество плазмобластов и нейтрофилов – в 1,5 раза, незрелых плазмобластов – в 1,4 раза, средних лимфоцитов – в 1,3 раза, макрофагов – в 1,2 раза. Количество зрелых плазмобластов уменьшилось в 1,3 раза по сравнению с контрольной группой. Количество малых лимфоцитов и ретикулярных клеток достоверно не изменилось относительно контрольных значений. В контрольной группе в этот период клеточный состав мозговых тяжей отличался большим количеством зрелых плазмобластов (48,0%), малых лимфоцитов (20,82%) и незрелых плазмобластов (15,1%). Ретикулярные клетки, плазмобласты и макрофаги составляли, соответственно, 3,26%, 2,94% и 1,77%. Средних лимфоцитов в мозговых тяжах контрольной группы было 6,8%, нейтрофилов – 0,65%.

В зоне **мозговых синусов** медиального подвздошного лимфоузла животных группы АГ (как и контрольной группы) в гиперпластическом периоде содержали, в основном, малые и средние лимфоциты и зрелые плазмоциты. Отмечалось увеличение количества следующих клеток: зрелые и незрелые плазмоциты (на 10,9% и 6,12% соответственно), средние лимфоциты (на 3,04%), плазмобласты (почти в 2 раза). У мышей контрольной группы в этот период зрелые плазмоциты зоны мозговых синусов составили 25,88%, незрелые плазмоциты – 8,84%, средние лимфоциты – 12,03%, плазмобласты – 0,98%.

У инфицированных мышей в мозговых синусах лимфоузла сократилось количество малых лимфоцитов на 14,34% (у мышей контрольной группы этот показатель равнялся 39,56%), тучных клеток в 3,8 раз (сравниваемый показатель контрольной группы 0,57%), макрофагов, ретикулярных клеток, нейтрофилов в среднем в 2 раза (контрольные значения: макрофагов – 5,16%, ретикулярных клеток – 5,9%, нейтрофилов – 1,06%)(Таблица 4).

В терминальный период заболевания в синусах медиального подвздошного лимфоузла **животных группы АГ** мы наблюдали диапедезные кровоизлияния в паренхиму (Рисунок 4 (в)).

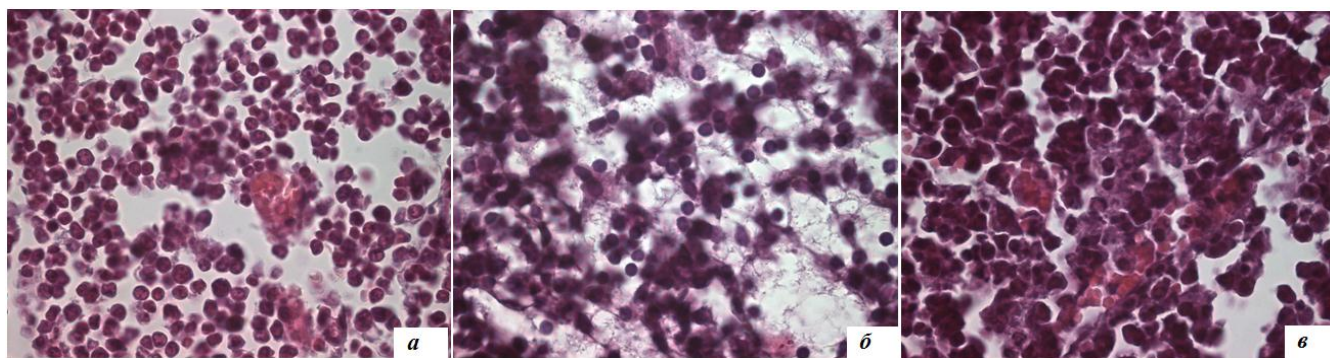


Рисунок 4 – Подвздошный медиальный лимфоузел животных контрольной группы (а, б) и группы Антиген (в) в терминальном периоде развития болезни, окраска гематоксилином и эозином; а). в) увеличение X400, б) увеличение X 1000. На рисунке (а) представлен клеточный состав мозговой зоны (основные клетки – малые лимфоциты и зрелые плазмобласты); на рисунке (б) – клеточный состав паракортикальной зоны (главным образом, малые лимфоциты); на рисунке (в) показаны кровоизлияния в синусах, где определялись эритроциты, что характерно при воспалительных процессах

Малые и средние лимфоциты были самыми встречаемыми клетками в **герминативных центрах** вторичных лимфоидных узелков и в группе АГ, и в контрольной группе. У инфицированных животных отмечалось увеличение бластных форм клеток (на 2,8%). В 2 раза увеличилось количество средних лимфоцитов; количество макрофагов, митозов и нейтрофилов увеличилось в

3 раза, 2,2 раза и 2,1 раза соответственно (если сравнивать с интактными животными). При сравнении с группой АГ гиперпластического периода количество средних лимфоцитов увеличилось на 6,55%, а малых лимфоцитов уменьшилось на 11,94%. Так же по сравнению с группой АГ гиперпластического периода в терминальном периоде увеличилось количество макрофагов в 2,5 раза и митозов в 1,7 раз (Таблица 4).

Структуру **паракортикальной зоны** в терминальном периоде в группе АГ составляли, в основном, малые и средние лимфоциты (в контрольной группе животных наиболее встречаемыми клетками паракортикальной зоны в этот же период наблюдения были малые лимфоциты – Рисунок 4(б)). При этом, сравнивая с группой контроля, количество средних лимфоцитов увеличилось в 7,7 раз, а малых лимфоцитов уменьшилось на 25,8%. Количество лимфобластов паракортекса группы АГ значительно увеличилось (в 14,5 раз), что похоже на изменения, происходящие в герминативных центрах. Также увеличилось количество макрофагов (в 5,5 раз) и нейтрофилов (в 2,4 раза) в этой зоне лимфоузла. Количество ретикулярных клеток (по сравнению с контрольной группой) увеличилось в 2,1 раз. Если сравнивать клеточный состав этой зоны группы АГ терминального периода (II) с группой АГ раннего периода (I), отмечалось уменьшение количества лимфобластов (в 1,7 раз) в терминальном периоде и достоверное увеличение количества макрофагов и ретикулярных клеток (в 4,7 раз и в 1,5 раза соответственно).

В зоне **мозговых тяжей** (терминальный период болезни (II)) в группе АГ увеличилось количество средних лимфоцитов (в 1,9 раз), незрелых плазмоцитов (в 1,8 раз) и плазмобластов (на 1,5%) при сравнении с интактными животными. Как видно на Рисунке 4(а), в мозговой зоне лимфоузла контрольных животных наиболее часто встречались такие клетки как малые лимфоциты и зрелые плазмобласты. В группе АГ в мозговых тяжях, как и в паракортексе, увеличилось количество макрофагов (в 2,6 раз) и нейтрофилов (в 3,2 раза). Количество ретикулярных клеток и митозов увеличилось на 1,02% и 1,01% соответственно. Уменьшилось количество малых лимфоцитов (в 2,1 раз) и зрелых плазмобластов

(на 6,3%) по сравнению с контролем. При сравнении клеточного состава мозговых тяжей группы АГ (I) и АГ (II) периодов на более поздних сроках наблюдалось увеличение количества средних лимфоцитов (на 3,92%), макрофагов (в 2,6 раз), ретикулярных клеток (в 1,4 раза). И уменьшение количества малых лимфоцитов (на 4,98%) и зрелых плазмобластов (на 4,27%).

Зона мозговых синусов группы АГ терминального периода содержали, в основном, малые лимфоциты и зрелые плазмоциты (как и в контрольной группе животных этого периода наблюдения) и незрелые плазмоциты. Причем количество зрелых плазмоцитов увеличилось на 6,4% по сравнению с контролем, количество незрелых плазмоцитов увеличилось на 5%, а количество малых лимфоцитов уменьшилось на 13,6%. Отмечалось увеличение плазмобластов (в 2,3 раза), макрофагов (в 1,8 раз) и нейтрофилов (в 3,6 раз) по сравнению с контрольной группой. В этой же зоне увеличилось количество тучных клеток (на 0,22%). Отмечали уменьшение количества средних лимфоцитов (на 3,8%). При сравнении показателей группы АГ раннего периода (I) и терминального периода (II) отмечали достоверное уменьшение количества средних (на 3,83%) и малых лимфоцитов (7,62%), возрастание количества плазмобластов (в 1,4 раза), макрофагов (в 3,4 раза), ретикулярных клеток (на 1,12%). Так же, по сравнению с группой АГ гиперпластического периода, в группе АГ (II) увеличилось количество нейтрофилов (в 3,38 раз) и тучных клеток (в 3,8 раз) (Таблица 4).

3.1.3. Динамика морфологических изменений селезенки при экспериментальном лейкозе Раушера

В гиперпластический период болезни **масса селезенки группы АГ** увеличилась в 5,3 раза по сравнению с контролем и составила 708 мг (масса селезенки контрольной группы животных в этот период наблюдения составила в среднем 134 мг, при этом доля белой и красной пульпы была 41% и 59% соответственно) (Рисунок 5, Рисунок 6).



Рисунок 5 – Изменение массы селезенки (мг) контрольной группы животных (К) и группы антигена (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) периоды наблюдения

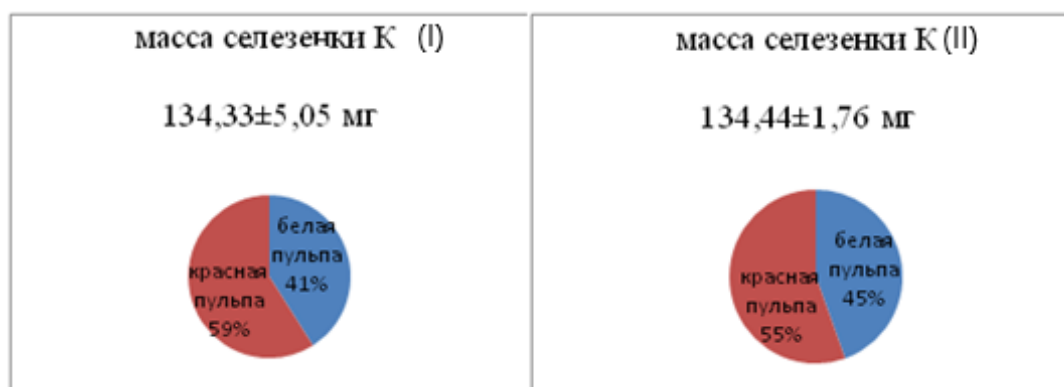


Рисунок 6 – Изменение соотношения белой и красной пульпы селезенки контрольной группы животных (К) гиперпластический (I) и терминальный (II) периоды эксперимента

В терминальном периоде масса селезенки зараженных животных увеличилась по сравнению с контролем в 21,9 раз, и по сравнению с АГ гиперпластического периода в 4,2 раза (масса селезенки контрольных животных оставалась постоянной на всем протяжении эксперимента) (Рисунок 5).

Площадь белой пульпы селезенки зараженных животных в гиперпластическом периоде была 19% (что в 2,2 раза меньше контрольных значений этого периода наблюдения), красной пульпы, – 81% (что на 21% больше контрольных значений) (Рисунок 7).



Рисунок 7 – Изменение соотношения красной и белой пульпы селезенки группы антигена (АГ) В гиперпластический (I) и терминальный (II) период эксперимента

В терминальном периоде болезни у животных, зараженных вирусом лейкоза Раушера, площадь белой пульпы стала меньше в 1,5 раза по сравнению с контрольными значениями этого периода наблюдения, а по сравнению с АГ гиперпластического периода увеличилась в 1,5 раза (Рисунок 7). Площадь красной пульпы животных, зараженных вирусом лейкоза Раушера, в терминальном периоде увеличилась по отношению к контрольным значениям этого же периода в 1,3 раза и уменьшилась по сравнению с группой АГ гиперпластического периода на 10%.

При изучении микропрепаратов в контрольной группе животных мы наблюдали нормальное строение ткани селезенки (Рисунок 8).

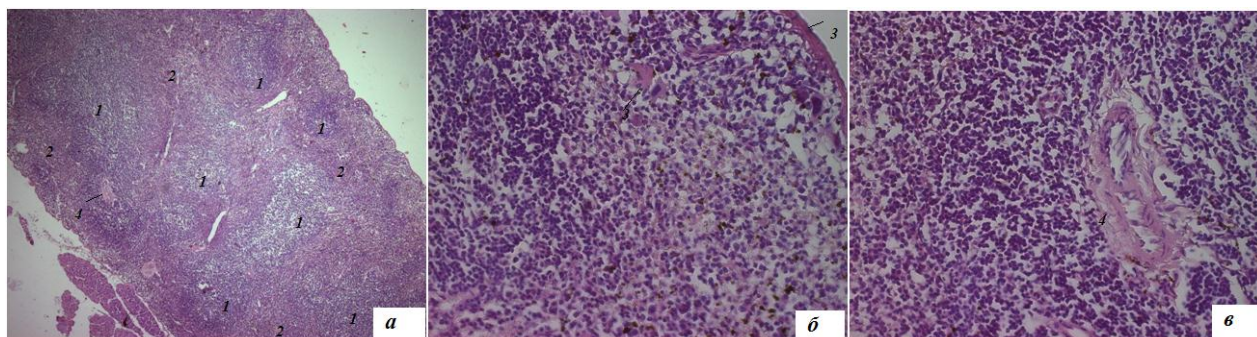


Рисунок 8 – Селезенка контрольной группы животных, окраска гематоксилином и эозином: а) увеличение X 10; б), в) увеличение X 100; 1- белая пульпа, 2-красная пульпа, 3-соединительная ткань с гладкомышечными клетками

в капсуле и трабекулах, 4- трабекулярный венозный сосуд. Из-за большого количества клеток пульпы клетки ретикулярной ткани плохо видны.

Красная пульпа интактных мышей представляла собой сеть из ретикулярных фибробластических клеток и ретикулярных волокон, между которыми было расположено большое количество макрофагов, зернистых и незернистых лейкоцитов, эритроциты (нормальные и на разной стадии распада), кровеносные сосуды имели тип венозных синусов.

В гиперпластический период развития вирусного лейкоза в группе АГ в селезенке стирались границы белой и красной пульпы, в различных участках нам встречались скопления малодифференцированных клеток и, иногда, мегакариоцитов, а также очаги некроза (Рисунок 9).

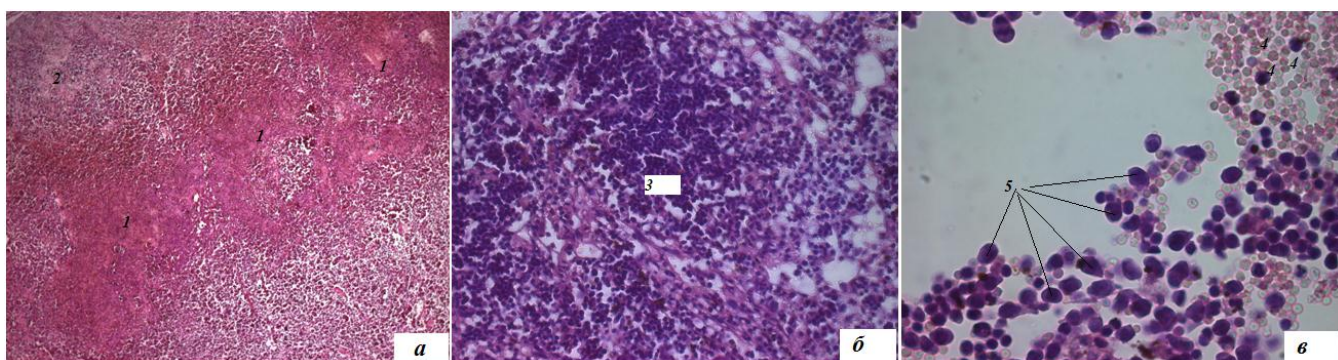


Рисунок 9 – Селезенка животных группы Антиген в гиперпластический период болезни, окраска гематоксилином и эозином: а) увеличение X 20; б) увеличение X 100; в) увеличение X 400; 1- зона некроза, 2- стирание границ красной и белой пульпы, 3- разрушенный фолликул, 4- очаги кровоизлияния, 5- плеоморфные лимфоидные клетки

В терминальном периоде развития вирусного лейкоза в группе АГ границы белой и красной пульпы были практически не различимы, клетки в герминативных центрах, маргинальной зоне не определялись, структура селезенки просматривалась с трудом, часто попадались обширные очаги некроза, кровоизлияний, много не дифференцируемых клеток (Рисунок 10).

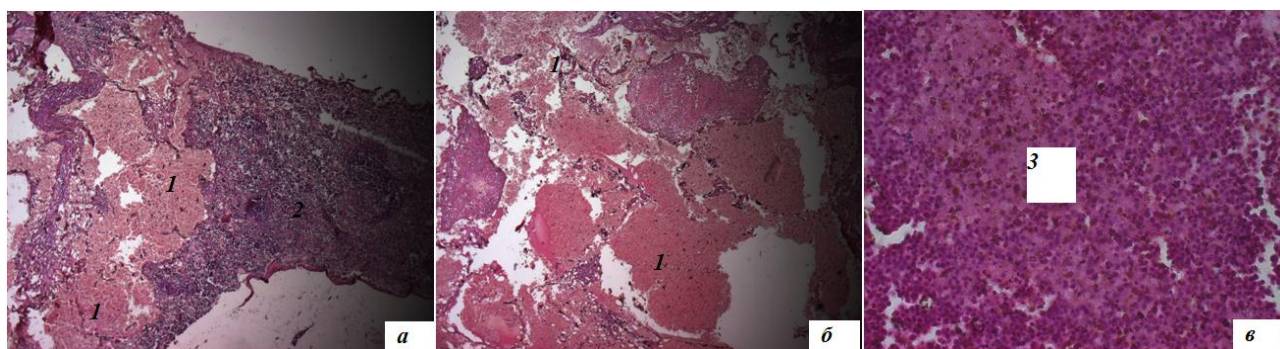


Рисунок 10 – Селезенка животных группы Антиген в терминальный период болезни, окраска гематоксилином и эозином: а) увеличение X10; б) увеличение X20; в) увеличение X 100; 1- зона некроза, 2- стирание границ красной и белой пульпы, 3- герминативный центр и маргинальная зона: клетки не определяются

В структуре селезенки животных в группе АГ в гиперпластическом периоде болезни относительная площадь герминативного центра селезенки уменьшилась в 2,1 раза (Таблица 5).

Таблица 5 – Относительные площади структурно-функциональных зон селезенки животных контрольной группы (К) и группы Антиген (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни ($M \pm m$) (%)

Структурно-функциональные зоны	К (I)	АГ (I)	К (II)	АГ (II)
Центр герминативный	6,93 ± 0,2	3,3 ± 0,18*	5,56 ± 0,25*	12,1 ± 0,45*Δ
Мантей	12,93 ± 0,32	8,72 ± 0,38*	13,05 ± 0,25	-
Маргинальная зона	18,38 ± 0,26	6,02 ± 0,34*	24,04 ± 0,41*	16,24 ± 0,29*Δ
Периартериальная муфта	1,88 ± 0,04	1,05 ± 0,05*	1,38 ± 0,09*	1,33 ± 0,04Δ
Артерия центральная	0,86 ± 0,06	0,4 ± 0,05*	0,48 ± 0,02*	0,2 ± 0,03*Δ
Красная пульпа (тяжи)	14,0 ± 0,35	11,83 ± 0,34*	28,51 ± 0,91*	10,92 ± 0,75*
Красная пульпа (синусы)	45,03 ± 0,37	68,7 ± 1,34*	26,96 ± 0,64*	59,2 ± 0,52*Δ

Примечание: * различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с группой АГ ($P \leq 0,05$).

Маргинальная зона уменьшилась в 3,05 раз по сравнению с контрольной группой (относительная площадь герминативного центра и маргинальной зоны селезенки

контрольной группы животных в этот период наблюдения составляли 6,93% и 18,37% соответственно). Относительная площадь центральной артерии уменьшилась в 2,15 раз по сравнению с контрольными значениями этого периода наблюдения. Уменьшилась зона мантия на 4,21%, зона периаартериальной муфты на 0,83%, тяжи красной пульпы на 2,17%. Площадь синусов красной пульпы увеличилась на 23,67% по сравнению с контролем.

В терминальный период (II) развития RLV площадь герминативных центров селезенки инфицированных мышей (**группа АГ**) увеличилась в 2,18 раз по сравнению с контрольной группой и в 3,67 раз по сравнению с группой АГ гиперпластического периода. Как видно в Таблице 5, контрольные значения площади герминативного центра в этот период наблюдения составил 5,56%, площадь мантии – 13,05%. Зона мантии инфицированных животных в терминальном периоде болезни не визуализировалась. Маргинальная зона селезенки животных группы АГ в терминальный период составляла 16,24% что в 1,5 раза меньше контрольных показателей и в 2,7 раз больше значений АГ предыдущего периода. По сравнению с контрольными животными уменьшилась зона центральной артерии (в 2,4 раза) и тяжи красной пульпы (в 2,6 раз). Также площадь центральной артерии стала меньше по сравнению с АГ гиперпластического периода (I) (в 2 раза). Площадь синусов красной пульпы увеличилась в 2,2 раза по сравнению с контролем и уменьшилась на 9,5% по сравнению с АГ в гиперпластическом периоде болезни. Площадь периаартериальной муфты достоверно не изменилась по сравнению с контрольными значениями и увеличилась по сравнению с АГ предыдущего, гиперпластического периода в 1,3 раза.

Изменения цитоархитектоники структурно-функциональных зон селезенки группы антигена отражены в Таблице 6. В группе АГ в гиперпластический период болезни мы наблюдали уменьшение количества

Таблица 6 – Клеточный состав структурно-функциональных зон селезенки контрольной группы (К) и группы Антигена (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни ($M \pm m$) (%)

Клеточные элементы	К (I)	К (II)	АГ (I)	АГ (II)
1.Герминативный центр				
Лимфоциты средние	12,33 ± 0,21	10,1 ± 0,35*	16,71 ± 0,7*	-
Лимфобласты	1,65 ± 0,12	1,06 ± 0,11	3,93 ± 0,23*	-
Лимфоциты малые	73,25 ± 3,2	82,3 ± 1,12*	67,73 ± 1,3	-
Ретикулярные клетки	6,0 ± 0,55	1,85 ± 0,1*	5,51 ± 0,18	-
Макрофаги	6,55 ± 0,49	3,0 ± 0,15*	4,24 ± 0,2*	-
Клетки на стадии митоза	0,3 ± 0,1	1,17 ± 0,18*	1,87 ± 0,18*	-
2.Маргинальная зона				
Лимфоциты малые	84,45 ± 4,81	90,15 ± 2,3	77,67 ± 1,41	-
Лимфоциты средние	4,16 ± 0,42	4,72 ± 0,2	12,77 ± 0,46*	-
Ретикулярные клетки	7,15 ± 0,37	1,73 ± 0,19*	6,08 ± 0,26	-
Макрофаги	4,23 ± 0,34	3,4 ± 0,21	3,49 ± 0,37	-
3.Периартериальная муфта				
Лимфоциты малые	84,06 ± 3,32	89,54 ± 1,45	81,49 ± 2,17	48,91 ± 2,61*Δ
Лимфоциты средние	5,02 ± 0,31	4,78 ± 0,3	8,87 ± 0,49*	21,92 ± 0,92*Δ
Макрофаги	4,9 ± 0,39	3,8 ± 0,26	3,25 ± 0,15*	4,12 ± 0,12Δ
Ретикулярные клетки	7,15 ± 0,37	1,73 ± 0,19*	6,08 ± 0,26	-
Эритробласты	-	-	-	13,35 ± 0,54
4.Тяжи красной пульпы				
Плазмоциты незрелые	10,0 ± 0,63	11,0 ± 0,35	20,93 ± 1,15*	14,0 ± 1,25Δ
Плазмобласты	1,67 ± 0,13	1,19 ± 0,1*	2,45 ± 0,26	1,88 ± 0,16*
Плазмоциты зрелые	66,2 ± 2,05	71,28 ± 1,83	60,64 ± 2,0	48,65 ± 1,87Δ*
Нейтрофилы	3,69 ± 0,34	1,67 ± 0,17*	0,82 ± 0,11*	1,15 ± 0,15
Макрофаги	8,67 ± 0,58	11,56 ± 0,46*	5,82 ± 0,23*	6,13 ± 0,45*
Ретикулярные клетки	8,52 ± 0,55	2,66 ± 0,28*	6,23 ± 0,21*	13,23 ± 0,63Δ*

Продолжение Таблицы 6

Клеточные элементы	К (I)	К (II)	АГ (I)	АГ (II)
Клетки на стадии митоза	0,43 ± 0,1	0,34 ± 0,08	0,52 ± 0,11	0,61 ± 0,13
Мегакариоциты	0,29 ± 0,11	0,17 ± 0,06	0,5 ± 0,07	0,4 ± 0,07
Эритробласты	0,53 ± 0,16	0,14 ± 0,05	2,1 ± 0,17*	13,96 ± 0,54* Δ
5. Синусы красной пульпы				
Лимфоциты малые	26,88 ± 1,89	21,54 ± 1,06	23,61 ± 1,55	14,0 ± 0,9* Δ
Лимфоциты средние	7,43 ± 0,4	5,79 ± 0,25*	7,2 ± 0,37	8,58 ± 0,52*
Плазмоциты незрелые	5,04 ± 0,18	1,92 ± 0,16*	8,95 ± 0,52*	14,13 ± 1,07Δ*
Плазмоциты зрелые	37,1 ± 1,43	49,12 ± 0,97*	44,47 ± 1,72*	31,72 ± 1,66Δ*
Макрофаги	11,97 ± 0,61	15,18 ± 0,47*	5,47 ± 0,31*	5,07 ± 0,5*
Нейтрофилы	3,59 ± 0,2	2,41 ± 0,21*	0,64 ± 0,1*	1,02 ± 0,13*
Ретикулярные клетки	7,13 ± 0,11	3,63 ± 0,19*	6,44 ± 0,25	7,38 ± 0,7*
Мегакариоциты	0,35 ± 0,11	0,16 ± 0,06	0,49 ± 0,09	0,26 ± 0,09*
Эритробласты	0,5 ± 0,1	0,25 ± 0,07	2,72 ± 0,3*	17,81 ± 1,0Δ*

Примечание: * различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с группой АГ ($P \leq 0,05$).

малых лимфоцитов **в герминативных центрах** (на 6,02%), макрофагов (на 2,31%) и ретикулярных клеток (на 0,49%) при сравнении с контрольными значениями (у мышей контрольной группы в этот период основными клетками герминативного центра селезенки были малые лимфоциты (73,25% от общего числа клеток). В 2,4 раза увеличилось количество лимфобластов, возросло количество средних лимфоцитов (на 4,48%). Количество клеток на стадии митоза увеличилось в 6,1 раз по сравнению с контрольными значениями (в группе АГ количество клеток на стадии митоза в зоне герминативного центра было 1,87% в гиперпластическом периоде, а в контрольной группе, в тот же период наблюдения, – 0,3%).

Цитоструктура **маргинальной зоны** селезенки животных была образована, главным образом, малыми лимфоцитами. В контрольной группе их количество составило 84,45% от общего количества клеток. В группе инфицированных мышей (АГ) в гиперпластический период болезни уменьшилось количество малых лимфоцитов (на 6,78%), макрофагов (на 0,74%) и ретикулярных клеток (на 1,07%) при сравнении с аналогичными показателями группы интактных животных. Количество средних лимфоцитов увеличилось в 3,07 раз по сравнению с контрольными (Средние лимфоциты АГ / Средние лимфоциты К = 12,77% / 4,16%).

В **зоне периартериальной муфты** самые часто встречаемые клетки были малые лимфоциты. Количество их составляло более 80% от общего числа клеток, как в контрольной группе, так и в группе АГ в гиперпластический период болезни. Также в гиперпластический период болезни у животных, зараженных RLV, отмечалось увеличение количества средних лимфоцитов на 3,85%, уменьшение количества малых лимфоцитов на 2,57% и макрофагов на 1,65% при сравнении с контрольными животными в этот же период наблюдения. Количество ретикулярных клеток, при сравнении с контролем, достоверно не изменилось.

Тяжи красной пульпы содержали, в основном, зрелые плазмоциты. Количество их в гиперпластическом периоде в группе АГ составляло 60,64% от общего количества клеток и не отличалось от контрольных значений. В этот же гиперпластический период в красной пульпе (в тяжах) нами установлено увеличение количества плазмобластов (в 1,5 раза) и незрелых плазмоцитов (в 2 раза) по отношению к контрольным значениям. Количество плазмоцитов (зрелых) и макрофагов уменьшилось (на 5,56% на 2,85% соответственно). Также уменьшилось количество ретикулярных клеток (на 2,29%) и нейтрофилов (в 4,5 раза). Количество клеток на стадии митоза достоверно не отличалось от показателей контрольной группы. Увеличилось содержание мегакариоцитов (в 1,7 раз), и эритробластов (в 3,96 раз).

Синусы красной пульпы селезенки были представлены, главным образом, зрелыми плазмоцитами и малыми лимфоцитами. В синусах красной пульпы

животных группы АГ в гиперпластический период болезни увеличилось количество незрелых и зрелых плазмоцитов на 3,91% и 7,37% соответственно (по сравнению с контрольными животными). Количество эритробластов увеличилось в 5,44 раза по отношению к контрольной группе. Уменьшилось количество макрофагов в 2,2 раза, нейтрофилов в 5,6 раз, ретикулярных клеток на 0,69%. Количество мегакариоцитов, средних и малых лимфоцитов достоверно не изменилось.

В терминальном периоде болезни в герминативном центре селезенки группы антигена, равно как и в маргинальной зоне, клетки не идентифицировались.

В периартериальной муфте, произошло увеличение содержания лимфоцитов (средних) в 4,59 раз по сравнению с контролем; их количество от общих клеток составило 21,92%. Это 2,5 раза больше, чем в гиперпластический (I) период. Количество ретикулярных клеток увеличилось при сравнении с контрольными интактными мышами в 6,23 раз, а при сравнении с инфицированными (АГ) гиперпластического периода (I) в 1,8 раз. Количество лимфоцитов малых уменьшилось (в 1,83 раз) по сравнению с контрольными показателями. При сравнении с группой АГ гиперпластического (I) периода количество лимфоцитов малых также уменьшилось (в 1,7 раз). Количество макрофагов увеличилось (на 0,87%) по сравнению с АГ гиперпластического периода. Это единственная группа, где в периартериальной муфте обнаружались эритробласты и количество их составило 13,35%.

В тяжках красной пульпы количество плазмобластов увеличилось в 1,6 раз по сравнению с контролем. Так же, по сравнению с контролем, увеличилось количество незрелых плазмоцитов на 3%. В то же время, по сравнению с АГ гиперпластического периода, количество незрелых плазмоцитов уменьшилось на 6,93%. Количество зрелых плазмоцитов уменьшилось на 22,63% по сравнению с контролем. Увеличилось количество клеток на стадии митоза в 1,79 раз по отношению к контролю. Количество макрофагов уменьшилось в 1,89 раз при сравнении с контрольными значениями. Увеличилось количество ретикулярных

клеток в 5 раз по сравнению с контролем и в 2,1 раз по сравнению с АГ гиперпластического периода. Количество мегакариоцитов увеличилось в 2,35 раз по сравнению с контролем. При сравнении с контрольной группой уменьшилось количество нейтрофилов на 0,52%. Значительно увеличилось количество эритробластов – в 99,7 раз по сравнению с контролем и в 6,6 раз по сравнению с АГ гиперпластического периода.

В синусах красной пульпы увеличилось количество средних лимфоцитов на 2,79% по сравнению с контролем. Количество малых лимфоцитов уменьшилось в 1,54 раза по сравнению с контролем. Увеличилось количество незрелых плазмоцитов в 7,36 раз по сравнению с контролем. Количество зрелых плазмоцитов уменьшилось (на 17,4%) по сравнению с контролем и по сравнению с инфицированными мышами (АГ) гиперпластического периода на (12,75%). Снизилось количество макрофагов и нейтрофилов этой зоны (в 2,99 раз и в 2,36 раз соответственно) по сравнению с контролем. Количество ретикулярных клеток увеличилось в 2,03 раза по сравнению с контролем. Значительно увеличилось количество эритробластов – в 71,24 раза по сравнению с контролем и в 6,55 раз по сравнению с АГ гиперпластического периода.

Влияние вируса лейкоза Раушера на спонтанную и стимулированную митогенами пролиферацию спленоцитов отражено в Таблице 7.

Таблица 7 – Уровень пролиферативной активности спленоцитов *in vitro* в опытной (Антиген) и контрольной группе

Вид Пролифера- тивной активности	Гиперпластический период			Терминальный период		
	АГ		Контроль	АГ		Контроль
	Имп/мин	ИС	Имп/мин	Имп/мин	ИС	Имп/мин
Спон	1067 ± 135,7*	0,13 ± 0,01	8072 ± 270,1	914 ± 88,92	0,60 ± 0,01	1515 ± 399,9
СопА	1934 ± 106,6*	0,06 ± 0,001	30603 ± 1312,4	21223 ± 1001,1*	0,40 ± 0,01	53618 ± 1018,4
PWM	1178 ± 201,9*	0,58 ± 0,06	2033 ± 113,5	13202,5 ± 714,5	1,15 ± 0,03	11493 ± 915,5

Примечание: * различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); ИС – индекс стимуляции.

Как видно, уровень спонтанной пролиферации уменьшился в спленоцитах мышей с лейкозом в гиперпластический период, по сравнению с контролем (опыт/контроль = 1067/8072). Установлено понижение ConA-стимулированной пролиферации клеток в опытной группе по сравнению с контролем (опыт/контроль = 1934/30603), а также снижение PWM-стимулированной пролиферации (опыт/контроль = 1178/2033) на этом этапе исследования. С развитием вирусного лейкоза уровень спонтанной и ConA-стимулированной пролиферации спленоцитов оставался пониженным, по сравнению с контролем. При этом достоверно значимым по сравнению с контролем было уменьшение ConA-стимулированной пролиферации спленоцитов. Уровень пролиферативной активности PWM-стимулированных спленоцитов в опытной группе увеличивался (опыт/контроль = 13202,5/11493).

Таким образом, в гиперпластической стадии RLV снижение спонтанной и митоген-стимулированной пролиферации по отношению к контрольным значениям отражает развитие иммуносупрессии, вызванной вирусом лейкоза Раушера. В терминальной стадии болезни индекс стимуляции увеличивался по сравнению с предшествующей гиперпластической стадией, т.е. различия становились менее выраженными.

3.1.4. Резюме

Инфицирование ВЛР мышей BALB/c вызывает изменения гематологических показателей, выражающиеся в нарастающей анемии и лейкопении в гиперпластический период заболевания. В терминальном периоде (II) общее количество лейкоцитов восстанавливается, приближаясь к контрольным значениям.

Увеличение дегенеративного сдвига влево до 1,3 в группе АГ отражает тяжесть развивающейся инфекции в терминальном периоде. В группе АГ отмечается угнетение лимфоцитарного ростка, более выраженное в

гиперпластическом периоде заболевания и характеризующееся уменьшением количества лимфоцитов более чем в 2 раза.

Исследование подвздошного лимфатического узла у здоровых животных в норме показало, что он относится к фрагментированному типу (что совпадает с литературными данными) и по мере старения организма происходит его «компактизация» (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1992), то есть, изменяется тип подвздошного лимфатического узла: из фрагментированного (КМИ = 0,53) он становится промежуточным (КМИ = 1,03). Снижается транспортная функция лимфатического узла – уменьшается площадь мозговых и краевого синусов.

Уменьшение количества вторичных лимфоидных узелков – естественный процесс при отсутствии антигенной стимуляции. Наиболее часто встречаемые клетки в составе структурно-функциональных зон подвздошного лимфатического узла – малые и средние лимфоциты, зрелые плазмоциты. Содержание клеток в различных структурно-функциональных зонах меняется в зависимости от происходящих реакций.

В группе АГ в гиперпластическом периоде заболевания морфофункциональные изменения подвздошного лимфатического узла говорят о снижении транспортной функции последнего (уменьшение мозговых синусов). Увеличение митотически делящихся клеток в герминативных центрах вторичных лимфоидных узелков и в мозговых тяжах, а также увеличение бластных форм в В-зоне свидетельствует об усилении пролиферативной активности лимфоидных клеток под действием антигена и показывает активацию обменных процессов в клетках лимфатического узла, реализующего иммунный ответ.

В терминальном периоде развития заболевания в группе АГ мы наблюдали угнетение иммунного ответа и усиление транспортной функции подвздошного лимфатического узла. Уменьшение количества первичных и вторичных лимфоидных узелков показывает угасание гуморального иммунного ответа. В то же время изменения состава содержащихся в герминативных центрах клеток (увеличение их бластных форм и митозов) показывает все еще более высокую

лимфопоэтическую активность по сравнению с контрольной группой в терминальном периоде.

Масса селезенки контрольных животных не изменилась и составила в среднем $134,33 \pm 5,05$ мг в гиперпластический период и $134,44 \pm 1,76$ мг в терминальный период эксперимента. Соотношение белой и красной пульпы также не изменилось и в раннем периоде составило 41% белая пульпа и 59% красная пульпа; в конце наблюдения – 45% белая пульпа и 55% красная пульпа. Однако со временем меняется относительная площадь структурно-функциональных зон селезенки: в белой пульпе уменьшается площадь герминативных центров, центральной артерии, периартериальной муфты; увеличивается площадь маргинальной зоны. В красной пульпе уменьшается площадь синусов и увеличивается площадь тяжей. Трабекулярный аппарат вырисовывается более четко, вероятно, из-за некоторой атрофии белой и красной пульпы, связанной с возрастными изменениями.

В клеточном составе белой пульпы селезенки контрольной группы преобладают малые лимфоциты. Доля их в гиперпластическом периоде в герминативном центре равна 73,25%, в маргинальной зоне 84,45%, в периартериальной муфте 84,06%. В тяжах красной пульпы контрольных животных большая часть клеток – зрелые плазмоциты (66,8%), в синусах – зрелые плазмоциты (37,1%) и малые лимфоциты (26,88%). В контрольной группе в конце наблюдения в герминативных центрах уменьшилось количество средних лимфоцитов, ретикулярных клеток и макрофагов. Отмечается также уменьшение количества ретикулярных клеток во всех структурно-функциональных зонах селезенки. В красной пульпе наблюдается небольшое увеличение макрофагов (в синусах красной пульпы на 3,21%, в тяжах на 2,89%) по сравнению с показателями, полученными в начале эксперимента.

У мышей, больных лейкозом, мы наблюдали в гиперпластическом периоде заболевания уменьшение белой пульпы более чем в два раза и увеличение красной пульпы на 22% по сравнению с контролем. Такое уменьшение белой пульпы отражает развитие инфекционного процесса, когда заболевание уже

прошло стадию ранней бластформации, и идет разгар заболевания [37]. В терминальном периоде соотношение белой и красной пульпы снова изменилось: белая пульпа составляет 30% селезенки, что в 1,5 раза меньше по сравнению с контролем и в 1,5 раза больше по сравнению с АГ гиперпластического периода. Т.е. в терминальной стадии заболевания мы наблюдали обратное увеличение белой пульпы. При этом если в гиперпластическом периоде в группе АГ уменьшается площадь всех структурно-функциональных зон селезенки (кроме синусов, которые увеличиваются на 23,67%), то в терминальном периоде мы наблюдаем увеличение герминативных центров в 2,18 раз по сравнению с контролем и в 3,67 раз по сравнению с АГ гиперпластического периода. Это отражает угнетение процесса иммуногенеза в разгар заболевания (гиперпластический период) и усиление его в терминальной стадии вирусного лейкоза.

Таким образом, у инфицированных вирусом лейкоза Раушера мышей установлена нарастающая эритропения и лейкопения, при этом наблюдали более выраженное достоверное угнетение лимфоцитарного ростка в гиперпластическом периоде заболевания и снижение спонтанной и митогенстимулированной пролиферации спленоцитов. Переход вирусного лейкоза Раушера в терминальную стадию у животных сопровождается невозможностью идентификации клеток в герминативных центрах и маргинальной зоне селезенки, появлением эритробластов в зоне периартериальной муфты и чрезмерным скоплением их в красной пульпе.

3.2. Изменение иммунологических, гематологических и морфологических показателей на введение препарата субалин при экспериментальном лейкозе Раушера у мышей BALB/c

В группе Субалин (Суб) количество выживших животных составило 100% (кривая на графике совпадает с кривой контрольной группы) (Рисунок 11).

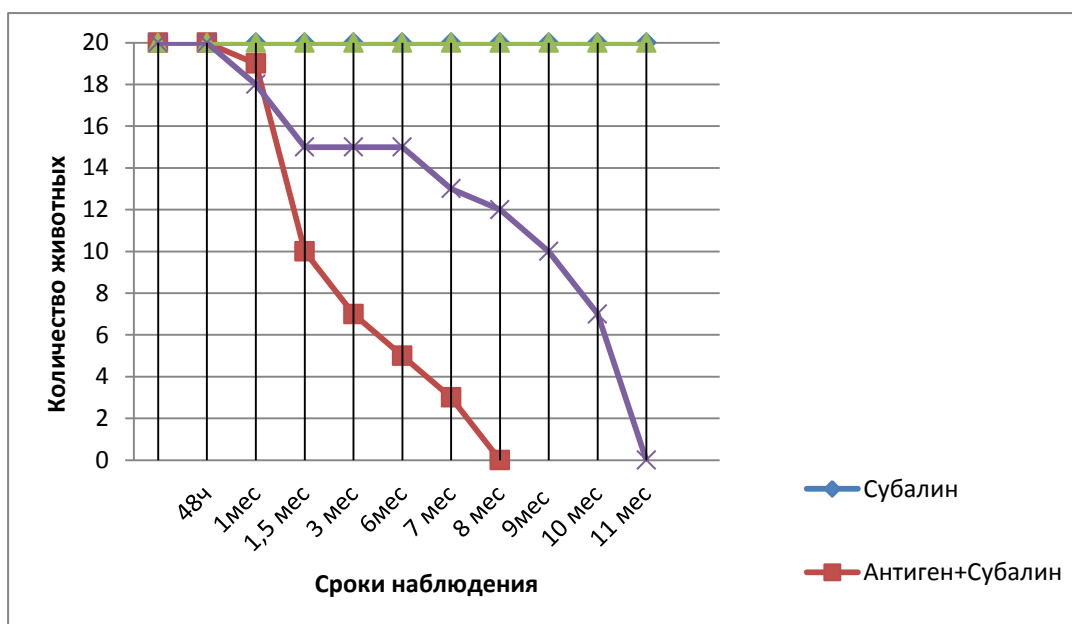


Рисунок 11 – Кривая выживаемости мышей опытной и контрольной групп

В группе Антиген + Субалин (АГ + Суб) за первые 3 месяца наблюдения погибло 65% животных, причем большая часть в период от 1 до 1,5 месяцев (40%). В последующем каждый месяц гибли примерно по 10% животных так, что к 8-му месяцу наблюдения погибли все животные группы (Рисунок 11).

3.2.1. Изменение гематологических показателей в группах Субалин и Антиген + Субалин

Динамика изменений гематологических показателей животных отражена в таблице 8 и таблице 9.

Количество эритроцитов в группе Суб не имело достоверных отличий от контрольных значений. В группе АГ + Суб наблюдалось достоверное уменьшение количества эритроцитов (в 1,5 раза) по сравнению с контролем, как в гиперпластическом (I), так и в терминальном (II) периоде. В то же время, в терминальном периоде болезни количество эритроцитов в группе АГ + Суб оставалось достоверно выше, чем в группе АГ.

Таблица 8 – Динамика гематологических показателей опытных (Антиген, Субалин и Антиген + Субалин) и контрольной групп животных, ($M \pm m$), $n=9$

Группа животных	Эритроциты, $\times 10^6/\text{мкл}$		Лейкоциты, $\times 10^3/\text{мкл}$	
	Гиперпластический период	Терминальный период	Гиперпластический период	Терминальный период
АГ	$5,39 \pm 0,43^*$	$3,73 \pm 0,15^* \Delta$	$4,19 \pm 0,68^*$	$5,12 \pm 0,74$
Суб	$10,26 \pm 0,94$	$9,5 \pm 0,23$	$8,82 \pm 1,29$	$10,51 \pm 1,32$
АГ+Суб	$6,56 \pm 1,17^*$	$6,09 \pm 0,76^* \Delta \bullet$	$5,21 \pm 0,68$	$8,18 \pm 1,99$
Контроль	$10,03 \pm 0,4$	$9,29 \pm 0,35$	$8,17 \pm 1,2$	$7,78 \pm 0,94$

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$); \bullet различия достоверны в сравнении с опытной группой Суб ($P \leq 0,05$).

Изменение количества лейкоцитов в группе Суб и АГ + Суб не имело достоверных отличий. В группе Суб в гиперпластическом периоде (I) наблюдалось увеличение количества моноцитов по сравнению с контролем в 1,7 раз. Другие показатели лейкограммы оставались близки к контрольным значениям на протяжении всего периода наблюдения (Таблица 9).

В группе АГ + Суб в гиперпластическом периоде (I) отмечали достоверное увеличение количества эозинофилов до $1,0 \pm 0,01\%$, что в 2,3 раза больше контрольных значений; в 3 раза больше по сравнению с группой АГ и в 1,6 раз больше по сравнению с группой Суб. В терминальной стадии их количество приблизилось к контрольным значениям. Юные клетки появились в группе АГ + Суб, как и в группе АГ, в гиперпластическом периоде. В терминальном периоде их количество увеличилось в 2,1 раза. Количество палочкоядерных нейтрофилов также было увеличено по сравнению с контролем: в 15,2 раза в гиперпластическом периоде наблюдения и в 18,5 раз – в терминальной стадии. По сравнению с группой АГ количество палочкоядерных нейтрофилов оставалось сниженным в 2,9 и в 2,1 раз в гиперпластический и в терминальный период

Таблица 9 – Динамика показателей лейкограммы крови животных опытных (АГ, Суб и АГ + Суб) и контрольной группы мышей BALB/c в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни, (расчет в % от 100 клеток) (M±m), n=9

Формы лейкоцитов		АГ (n=9)		Суб (n=9)		АГ+Суб (n=9)		К (n=9)	
		(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Базофилы		0,11 ± 0,11	0,11 ± 0,11	-	-	0,11 ± 0,11	0,11 ± 0,11	-	-
Эозинофилы		0,33 ± 0,17	15,0 ± 0,50*	0,62 ± 0,09	0,73 ± 0,15	1,0 ± 0,01 *Δ●	0,52 ± 0,19Δ	0,44 ± 0,24	0,44 ± 0,29
Нейтрофилы	юные	1,22 ± 0,23*	0,78 ± 0,52*	-	-	1,50 ± 0,14*	3,14 ± 0,05*Δ	-	-
	палочкоядерные	14,67 ± 0,42 *	16,93 ± 1,21 *Δ	0,54 ± 0,09	0,30 ± 0,09	5,02 ± 1,0 Δ*●	8,15 ± 2,04 *Δ●	0,33 ± 0,18	0,44 ± 0,24
	сегментоядерные	54,0 ± 2,99 *	14,11 ± 1,87 Δ*	32,14 ± 2,40	37,90 ± 3,0	11,03 ± 2,25 *Δ●	12,08 ± 2,08 *●	35,89 ± 3,22	39,0 ± 2,27
Лимфоциты		28,78 ± 2,90*	39,78 ± 2,04*	65,14 ± 2,96	60,03 ± 3,12	76,2 ± 2,44 *Δ●	72,55 ± 2,95 *Δ●	62,67 ± 3,38	59,11 ± 2,16
Моноциты		0,89 ± 0,26	13,29 ± 0,71 *Δ	1,55 ± 0,13 *	0,95 ± 0,09	5,14 ± 0,22 *Δ●	2,72 ± 0,43 *Δ●	0,67 ± 0,24	1,0 ± 0,17

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$); ● различия достоверны в сравнении с опытной группой Суб ($P \leq 0,05$).

соответственно. Количество сегментоядерных нейтрофилов было достоверно снижено по отношению к контрольной группе в среднем в 3,3 раза. При сравнении с группой АГ в гиперпластическом периоде отмечали уменьшение количества сегментоядерных нейтрофилов в 5 раз. Их количество оставалось примерно одинаковым на протяжении всего периода исследования. Кроме того, наблюдали лимфоцитоз и моноцитоз (Таблица 9).

3.2.2. Морфофункциональное исследование медиального подвздошного лимфатического узла у животных опытной группы Субалин и Антиген + Субалин. Динамика морфологических изменений этих групп

У мышей группы Субалин медиальный подвздошный лимфоузел округлой формы, с типичным строением: покрыт соединительнотканной капсулой, наружный корковый и внутренний мозговой слои хорошо выражены, между ними диффузно располагается паракортикальная зона (Рисунок 12 (а)).

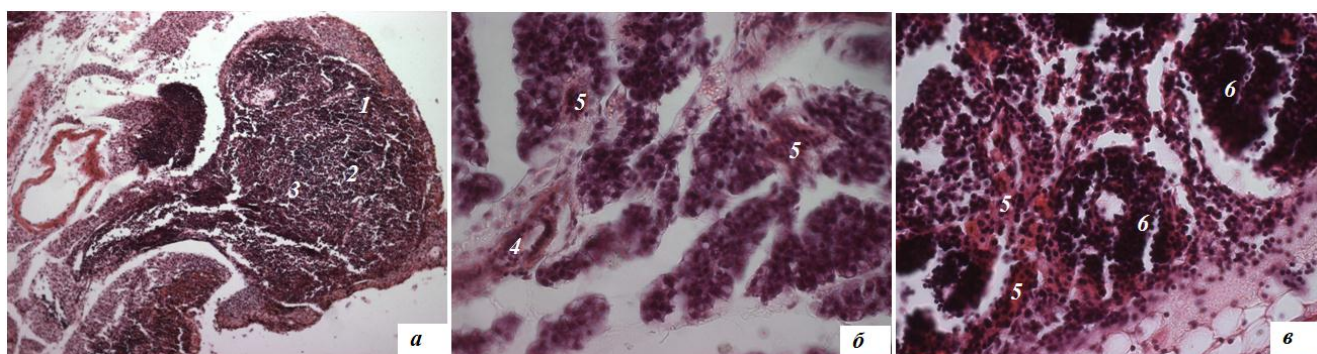


Рисунок 12 –. Подвздошный медиальный лимфоузел животных группы Субалин (а) и Антиген + Субалин (б, в) в гиперпластическом (а, б) и терминальном (в) периоде развития болезни, окраска гематоксилином и эозином; а) увеличение X 10, б), в) увеличение X400. На рисунке (а) представлен общий вид лимфатического узла мышей группы Субалин; на рисунке (б) и (в) показаны очаги кровоизлияний в пределах расширенных межфолликулярных областей. 1-

корковое вещество, 2- паракортикальная зона, 3- мозговое вещество, 4- кровеносный сосуд, 5- кровоизлияния, 6- фолликулы

В коре расположены лимфатические фолликулы разного размера. Структура лимфоузла этой группы животных была сохранена на всем периоде наблюдения.

При изучении микропрепаратов медиального подвздошного лимфатического узла мышей группы АГ + Суб в паренхиме наблюдались кровоизлияния, причем в терминальном периоде они были выражены на большей площади в разных зонах лимфоузла, чем в гиперпластическом (Рисунок 12 (б, в)).

Основные изменения площади структурно-функциональных зон медиального лимфатического узла у мышей, инфицированных вирусом лейкоза Раушера с применением препарата субалин, отражены в таблице 10. Более подробно результаты изложены в приложении А, таблице 1.

Таблица 10 – Морфофункциональные изменения лимфатических узлов мышей BALB/c опытной группы АГ, Суб и АГ + Суб в сравнении с контрольной группой в гиперпластическом (I) и терминальном (II) периоде болезни ($M \pm m$)%

Показатель	Период	АГ	Суб	АГ + Суб	Контроль
Корковое вещество	(I)	33,3 ± 2,32	40,15 ± 1,01*	33,5 ± 1,55●	33,57 ± 1,37
	(II)	23,32 ± 1,56*	33,74 ± 1,93*	26,98 ± 1,73*●	49,56 ± 2,33
Лимфоидные узелки (первичные)	(I)	1,15 ± 0,07*	1,34 ± 0,17	1,52 ± 0,1Δ	1,83 ± 0,15
	(II)	0,41 ± 0,06*	1,88 ± 0,08	0,96 ± 0,06*Δ●	2,29 ± 0,18
Лимфоидные узелки (вторичные)	(I)	1,94 ± 0,19*	5,62 ± 0,16*	3,27 ± 0,2*Δ●	6,21 ± 0,11
	(II)	0,52 ± 0,08*	2,67 ± 0,13*	2,58 ± 0,15*Δ	3,86 ± 0,23
Паракортикальная зона	(I)	29,3 ± 1,15*	31,27 ± 0,59*	27,32 ± 1,1●	23,71 ± 1,1
	(II)	21,76 ± 0,92*	27,14 ± 0,96*	22,45 ± 0,62*●	40,1 ± 1,63
Краевой синус	(I)	0,89 ± 0,07	1,4 ± 0,08*	1,09 ± 0,08*	0,65 ± 0,1
	(II)	0,11 ± 0,02*	1,1 ± 0,03*	0,88 ± 0,1*Δ	0,54 ± 0,05

Продолжение Таблицы 10

Показатель	Период	АГ	Суб	АГ + Суб	Контроль
Герминативные центры	(I)	0,81 ± 0,07*	2,5 ± 0,09	1,2 ± 0,08*Δ●	2,86 ± 0,11
	(II)	0,15 ± 0,03*	0,87 ± 0,06	0,72 ± 0,06*Δ	1,04 ± 0,07
Мозговые тяжи	(I)	43,15 ± 1,21	33,37 ± 0,72*	35,6 ± 0,56*Δ	40,1 ± 0,37
	(II)	48,72 ± 1,44*	44,18 ± 1,36*	40,22 ± 1,25*Δ	31,79 ± 1,08
Корково-мозговой индекс	(I)	0,52 ± 0,03	0,70 ± 0,01*	0,53 ± 0,16	0,53 ± 0,02
	(II)	0,31 ± 0,02*	0,53 ± 0,03*	0,38 ± 0,03*●	1,03 ± 0,05

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$); ● различия достоверны в сравнении с опытной группой Суб ($P \leq 0,05$).

В гиперпластический период у животных группы АГ + Суб площадь коркового и мозгового вещества подвздошного лимфатического узла не изменилась по сравнению с контрольной группой, корково-мозговой индекс остался 0,53. В корковом веществе уменьшилось количество вторичных лимфоидных узелков в 2 раза, первичных – на 0,3%, относительная площадь коркового плато уменьшилась на 0,4%, площадь паракортикальной зоны увеличилась на 3,6%. Во вторичных лимфоидных узелках отмечалось уменьшение площади герминативных центров в 2,4 раза и мантия в 1,6 раз по сравнению с контрольными значениями. В мозговом веществе площадь мозговых тяжей уменьшилась на 4,5%, а площадь мозговых синусов увеличилась на 4%. Площадь краевого синуса увеличилась в 1,7 раз, площадь капсулы достоверно не изменилась.

У животных, которым вводили один Субалин, в этот же период наблюдения площадь коркового вещества увеличилась по сравнению с контрольной группой на 6,58%. При этом площадь мозгового вещества уменьшилась на 7,15%. Тип лимфатического узла сохранялся фрагментированным, корково-мозговой индекс равнялся 0,7.

Увеличение коркового вещества произошло за счет увеличения коркового плато (на 0,2%) и паракортикальной зоны (на 7,6%). Площадь первичных и вторичных лимфоидных узелков, наоборот, несколько снизилась (в среднем на 0,5%). Сокращение площади мозгового вещества произошло из-за сокращения площади мозговых тяжей (на 6,7%), площадь мозговых синусов достоверно не изменилась в сопоставлении с контрольными значениями. Площадь краевого синуса увеличилась в 2 раза и составила 1,4%. Такие зоны как капсула и трабекулы достоверно не отличались от контрольных значений.

В терминальном периоде в опытной группе АГ + Суб отмечали следующие изменения структурно-функциональных зон медиального подвздошного лимфоузла. Сократилась площадь коркового вещества (на 22,58%), увеличилась площадь мозгового (на 22,59%) при сравнении с показателями контрольной группы животных (Приложение А, Таблица 1). В составе коркового вещества лимфоузла сократились размеры первичных лимфоидных узелков (в 2,4 раза). Сократились площади, занимаемые вторичными лимфоидными узелками (в 1,5 раза), причем и площадь мантия, и площадь герминативных центров уменьшились почти одинаково (в 1,5 раза и в 1,4 раза соответственно). Сократилась площадь коркового плато (в 3,4 раза), паракортикальной зоны (на 17,65%). Увеличились размеры площади, занимаемой мозговыми тяжами (на 8,43%) по сравнению с интактной группой. Площадь мозговых синусов превысила контрольные значения на 14,17%. Ширина краевого синуса возросла в 1,6 раз. Корково-мозговой индекс был равен 0,38, что в 2,7 раза меньше, чем в группе интактных животных. Его можно отнести к фрагментированному типу.

В этот же период у экспериментальных мышей группы Субалин сократилась площадь коркового вещества (на 15,82%), увеличилась площадь мозгового вещества (на 15,19%) по сравнению с аналогичными значениями интактной группы животных (Приложение А, Таблица 1). В составе коркового вещества сократились размеры площади первичных лимфоидных узелков (на 0,41%) и вторичных лимфоидных узелков (на 1,19%). Также сократились площади коркового плато и паракортикальной зоны на (1,28% и на 12,96%

соответственно). Увеличилась площадь мозговых тяжей, в сравнении с интактной группой (на 12,39%) и мозговых синусов (на 2,81%). Площадь капсулы лимфоузлов увеличилась (на 0,24%). Значительно (более чем в 2 раза) возросла ширина краевого синуса. Корково-мозговой индекс подвздошных лимфоузлов стал равен 0,53, что в 1,9 раз меньше, чем в интактной группе животных. По Ю. И. Бородину он относится к фрагментированному типу (Бородин Ю. И., Сапин М. Р., Этинген Л. Е. и др., 1992).

Изменения цитоархитектоники структурно-функциональных зон лимфоузлов опытных групп Субалин и Антиген + Субалин отражены в приложении А, таблица 2.

Клетки в **герминативном центре опытной группы АГ + Суб** в **гиперпластический период наблюдения** были представлены, в основном, малыми и средними лимфоцитами и лимфобластами (Приложение А, Таблица 2). Количество лимфобластов при этом увеличилось (в 2,3 раза по сравнению с контрольной группой, а средних лимфоцитов на 3%. Уменьшилось количество малых лимфоцитов (на 7,4%), ретикулярных клеток (в 1,8 раз) и макрофагов (на 0,4%). Количество клеток на стадии митоза увеличилось в 2,2 раза. Количество нейтрофилов достоверно не изменилось.

Паракортикальная зона была представлена, как и в контрольной группе, главным образом, малыми лимфоцитами. Количество их достоверно не изменилось. Незначительно увеличилось количество лимфобластов и нейтрофилов (в 1,5 и 1,6 раз соответственно) и уменьшилось количество ретикулярных клеток в 1,4 раза. Отличия в содержании средних лимфоцитов и макрофагов не достоверны.

В мозговых тяжях основная масса клеток была представлена зрелыми плазмобластами. Количество их уменьшилось на 7,8% по сравнению с контрольными значениями. Количество средних лимфобластов и плазмобластов увеличилось в 2 раза и в 1,4 раза соответственно. Несколько увеличилось количество макрофагов и клеток на стадии митоза (на 0,3%). Достоверных

изменений в количестве лимфоцитов (малых), незрелых плазмобластов, нейтрофилов и ретикулярных клеток не выявлено.

В зоне мозговых синусов наблюдали незначительные изменения клеточного состава. Так отмечали увеличение количества незрелых плазмобластов (в 2,1 раза), лимфоцитов средних и плазмобластов (на 1,16% и на 0,2% соответственно). Количество лимфоцитов (малых) и ретикулярных клеток снизилось (на 9,56% и 1,16% соответственно). Количество таких клеток как зрелые плазмоциты, макрофаги, нейтрофилы и тучные клетки достоверно не отличалось от контрольных значений.

У мышей опытной **группы Субалин** в этот же период происходили следующие изменения клеточного состава лимфоузлов. **Герминативный центр** содержал повышенное количество средних лимфоцитов (на 3,4% больше, чем в контрольной группе) и пониженное количество малых лимфоцитов (на 2,3%), макрофагов и ретикулярных клеток на (0,5%). Количество лимфобластов, клеток на стадии митоза и нейтрофилов достоверно не изменилось.

Паракортикальная зона группы Субалин по клеточному составу практически не отличалась от контрольной группы. Отмечалось некоторое уменьшение количества средних лимфоцитов.

Набор клеток **зоны мозговых тяжей** схож по составу с контрольной группой. Наиболее встречаемыми клетками этой зоны были плазмобласты (зрелые и незрелые) и малые лимфоциты. Количество зрелых плазмобластов снизилось (на 10,8%), а количество незрелых плазмобластов увеличилось (на 6,1%), количество малых лимфоцитов достоверно не изменилось (по сравнению с контрольной группой). Увеличилось количество лимфоцитов (средних) по сравнению с контрольной группой (на 4,3%) и плазмобластов (на 0,76%). Количество клеток на стадии митоза увеличилось в 2 раза. Не выявлено достоверных отличий в количестве макрофагоцитов, ретикулярных клеток и нейтрофилов.

В зоне мозговых синусов возросло количество средних лимфоцитов (на 3,2%), клеток плазматического ряда (плазмобластов и незрелых плазмоцитов) в 2

раза, а тучных клеток в 1,6раз. Уменьшилось количество малых лимфоцитов (на 14%) и макрофагов (на 1,7%). В количестве зрелых плазмоцитов, ретикулярных клеток и нейтрофилов достоверных изменений по отношению к контрольным значениям не выявлено.

Изменения клеточного состава подвздошного лимфоузла в терминальный период (II) в группе АГ + Суб. В герминативных центрах лимфоидных узелков мы наблюдали достоверное увеличение лимфобластов (в 2,5 раза), средних лимфоцитов (на 3,76%) и митозов (на 1,33%) при сравнении с мышами контрольной группы. Численность малых лимфоцитов уменьшилась (на 13,56%). Снизилось количество макрофагов (на 0,48%), нейтрофилов (на 0,13%) и ретикулярных клеток (в 1,6 раз) (Приложение А, Таблица 2).

Для цитоархитектоники **паракортикальной зоны** было характерно увеличение лимфобластов (в 4,9 раз), средних лимфоцитов и нейтрофилов (в 1,9 раз). Количество малых лимфоцитов уменьшилось (на 3,34%). Количество макрофагоцитов и ретикулярных клеток не имело достоверных изменений по сравнению с контрольной группой.

В зоне **мозговых тяжей** мы наблюдали увеличение средних лимфоцитов (на 2,16%), зрелых плазмоцитов и митозов (на 5,39% и 0,32% соответственно). Уменьшилось количество малых лимфоцитов (на 5,2%), плазмобластов (на 1,37%), ретикулярных клеток (на 0,49%). Количество незрелых плазмоцитов, макрофагоцитов и нейтрофильных лейкоцитов достоверно не изменилось по сравнению с показателями интактных мышей.

В зоне **мозговых синусов** снизилось количество средних и малых лимфоцитов (на 2,65% и 5,78% соответственно). Также уменьшилось количество макрофагов (на 1,18%), ретикулярных клеток (на 0,82%), плазмобластов (в 2,2 раза). Увеличилось количество незрелых плазмоцитов на (2,94%), зрелых плазмоцитов (на 7,92%), нейтрофилов (на 0,26%). Количество тучных клеток достоверно не отличалось от аналогичных показателей контрольной группы мышей.

В этот же период наблюдения клеточный состав медиального подвздошного лимфатического узла животных группы Субалин менялся следующим образом (Приложение А, Таблица 2). **В зоне герминативных центров** лимфоидных узелков наблюдалось увеличение средних лимфоцитов (на 4,1%) и уменьшение малых лимфоцитов (на 3,44%). Отмечалось незначительное уменьшение количества митотически делящихся клеток (на 0,43%) и нейтрофилов (на 0,13%). Количество лимфобластов, макрофагов, и ретикулярных клеток в этой зоне достоверно не изменилось по сравнению с контрольными значениями.

Клеточный состав **паракортикальной зоны** отличался увеличением содержания лимфобластов (в 2,2 раза), средних лимфоцитов (в 1,9 раз), ретикулярных клеток (в 1,5 раза), нейтрофилов (в 1,7 раз). Количество малых лимфоцитов и макрофагов достоверно не изменилось.

В зоне **мозговых тяжей** отмечалось увеличение количества средних лимфоцитов (на 2,46%), незрелых и зрелых плазмоцитов (на 4,44% и на 3,57% соответственно), а также нейтрофилов (в 2,09 раза). Снизилось количество малых лимфоцитов (на 7,81%), макрофагов (на 0,54%), плазмобластов (в 1,82 раза), митозов (в 2,26 раз). Количество ретикулярных клеток оставалось неизменным.

В зоне **мозговых синусов** уменьшилось количество средних лимфоцитов (на 2,26%), малых лимфоцитов (на 11,8%), ретикулярных клеток (на 0,65%), плазмобластов (в 2,2 раза) и макрофагов (в 1,5 раз). Численность плазмоцитов увеличилась: незрелых на 3,94%, зрелых на 11,41%. Увеличилось количество нейтрофилов и тучных клеток (на 0,46% и 0,24% соответственно).

3.2.3. Морфофункциональное исследование селезенки у животных опытных групп Субалин и Антиген + Субалин

Масса селезенки в группе АГ + Суб в гиперпластический период болезни увеличилась в 3,28 раз (в этот же период в группе Суб масса селезенки была в 3,38

раз больше по сравнению с контролем). В терминальном периоде развития болезни разница стала более значимой (Таблица 11).

Таблица 11 – Изменение массы селезенки (мг) мышей BALB/c опытных групп Субалин и Антиген+Субалин в гиперпластическом и терминальном периоде наблюдения.

АГ	Суб	АГ + Суб	К
гиперпластический период			
708 ± 37,51*	454,29 ± 89,4*	440,25 ± 82,49*Δ	134,33 ± 5,05
терминальный период			
2944,78 ± 574,71*	592,2 ± 3,41*	541,5 ± 67,79*Δ	134,44 ± 1,76

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$).

На микропрепаратах группы Субалин селезенка мышей имеет типичное строение (Рисунок 13).

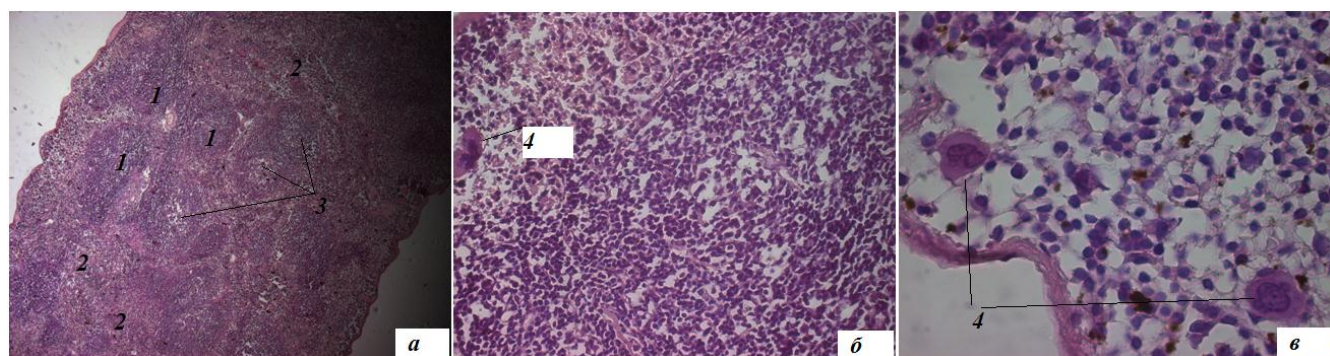


Рисунок 13 – Селезенка животных группы Субалин в гиперпластический период болезни, окраска гематоксилином и эозином: а) увеличение X 10; б) увеличение X 100; в) увеличение X 1000. Морфологическая структура селезенки близка к норме. На фотографии видно диффузное умеренное кровенаполнение красной пульпы, увеличение герминативных центров лимфатических фолликулов, увеличение в них количества бластных клеток, митозов. 1- белая пульпа, 2- красная пульпа, 3- герминативные центрв, 4- бластные клетки

Кровенаполнение красной пульпы диффузное умеренное. Отмечается увеличение герминативных центров лимфатических фолликулов, увеличения в них количества бластных клеток, митозов. Встречаются большие бластные клетки, имеющие многодольчатые ядра и обильную бледную цитоплазму (реактивная гиперплазия).

В группе АГ + Суб в гиперпластическом периоде болезни контуры между красной и белой пульпой стерты, герминативные центры небольшие, мантийная зона тонкая (Рисунок 14).

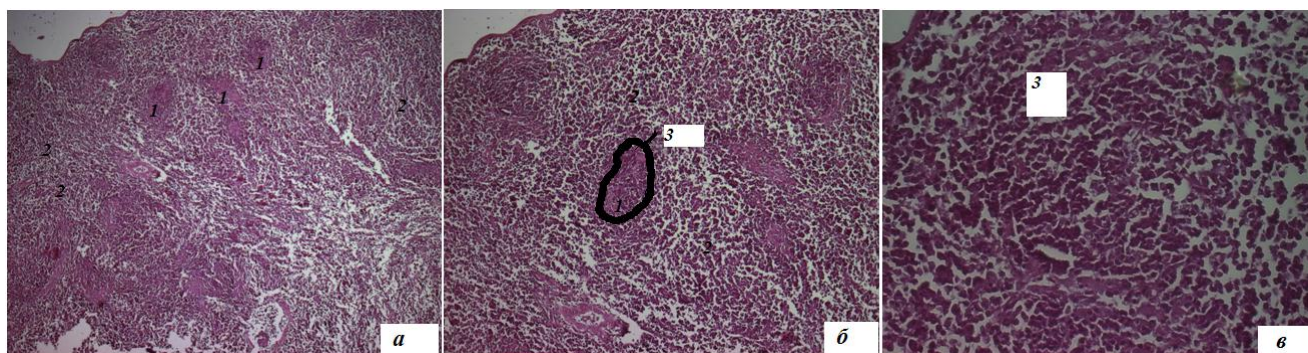


Рисунок 14 – Селезенка животных группы Антиген + Субалин в гиперпластический период болезни, окраска гематоксилином и эозином: а) увеличение X 10, б) увеличение X 20; в) увеличение X 100. Стирание границ красной и белой пульпы, уменьшение относительной площади белой пульпы селезенки, тонкая мантийная зона. 1- белая пульпа, 2- красная пульпа, 3- мантийная зона

Гистологические изменения селезенки мышей группы Субалин и Антиген + Субалин в терминальный период болезни показаны на рисунке 15. На микропрепаратах селезенки животных группы Субалин во втором периоде наблюдения просматривалась нормальная структура паренхимы, лимфатические фолликулы средних размеров, не отличаются от контрольной группы. Трабекулярные кровеносные сосуды умеренно кровенаполнены (Рисунок 15 (а)). При гистологическом исследовании селезенки животных группы АГ + Суб в

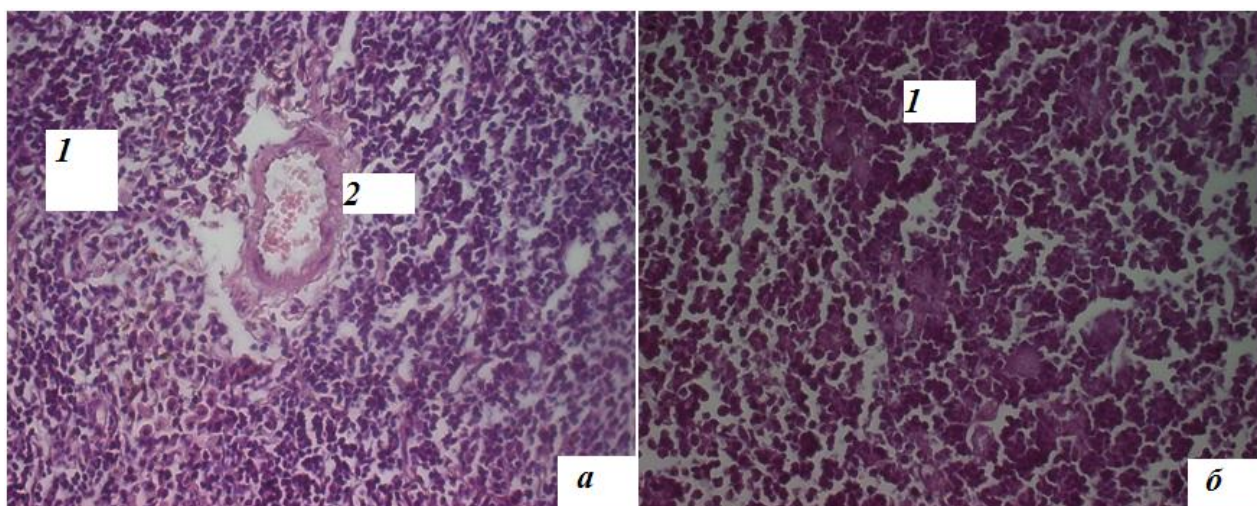


Рисунок 15 – Селезенка животных опытных групп Субалин (а) и Антиген + Субалин (б) в терминальном периоде развития болезни, окраска гематоксилином и эозином, увеличение X 100. 1- белая пульпа, 2- трабекулярный сосуд. На рисунке (а) видна одинаково высокая плотность клеток красной и белой пульпы, умеренное наполнение кровью трабекулярного сосуда. На рисунке (б) видно нарушение структуры паренхимы, размытость границ красной и белой пульпы

Терминальном периоде отмечали размытость границ красной и белой пульпы (Рисунок 15 (б)). Динамика изменений относительных площадей структурно-функциональных зон селезенки у инфицированных животных и животных, которым применяли субалин, показана в таблице 12.

В группе АГ + Суб в гиперпластический период болезни площадь герминативных центров в селезенке оставалась в 2 раза выше, чем в группе АГ и не отличалась от контрольных значений. Площадь мантия, маргинальной зоны и центральной артерии уменьшились по сравнению с контролем, но оставались достоверно выше, чем в группе АГ. Увеличилась площадь красной пульпы (Таблица 12). В это же время в селезенке мышей группы Субалин мы наблюдали увеличение площади герминативного центра (на 2,21%) и площади маргинальной зоны на (5,67%) при сравнении с контрольными значениями. Уменьшилась площадь мантия (на 0,56%) и площадь центральной артерии (в 2 раза).

Таблица 12 – Относительные площади структурно-функциональных зон селезенки опытных групп Антиген, Субалин, Антиген + Субалин и контрольной группы в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни ($M \pm m$) (%)

Структурно-функциональные зоны	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Центр герминативный	3,3 ± 0,18*	12,1 ± 0,45*Δ	9,14 ± 0,2*	7,17 ± 0,52* ●	6,69 ± 0,29●Δ	8,12 ± 0,25*Δ	6,93 ± 0,2	5,56 ± 0,25
Маргинальная зона	6,02 ± 0,34*	16,24 ± 0,2*	24,04 ± 0,18*	21,27 ± 1,13	14,19 ± 0,45 *●Δ	18,27 ± 0,52 *Δ	18,37 ± 0,26	24,04 ± 0,41
Мантий	8,72 ± 0,38*	-	12,37 ± 0,15	8,52 ± 0,37*	10,19 ± 0,52* ●	9,04 ± 0,41*	12,93 ± 0,32	13,05 ± 0,25
Артерия центральная	0,4 ± 0,05*	0,2 ± 0,03*	0,42 ± 0,05*	0,55 ± 0,05Δ	0,61 ± 0,04* ●Δ	0,74 ± 0,07*Δ	0,86 ± 0,06	0,48 ± 0,02
Периартериальная муфта	1,05 ± 0,05 *	1,33 ± 0,04	1,22 ± 0,09 *	2,08 ± 0,08 *	1,71 ± 0,11 ●Δ	1,94 ± 0,09 *Δ	1,88 ± 0,04	1,38 ± 0,09
Красная пульпа (тяжи)	11,83 ± 0,34*	10,92 ± 0,75*	11,72 ± 0,41*	15,81 ± 0,38 *	17,47 ± 0,68 *●Δ	17,50 ± 0,25 *●Δ	14,0 ± 0,35	28,51 ± 0,91
Красная пульпа (синусы)	68,7 ± 1,34 *	59,2 ± 0,52 *	40,98 ± 0,33*	44,6 ± 0,9 *	49,14 ± 1,28 *●Δ	44,38 ± 0,33 Δ*	45,03 ± 0,37	26,96 ± 0,64

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$); ● различия достоверны в сравнении с опытной группой Суб ($P \leq 0,05$).

Сократилась площадь периартериальной муфты (на 0,66%), площадь красной пульпы – тяжей и синусов (на 2,28% и 4,05% соответственно).

В терминальном периоде болезни в группе АГ + Суб площадь герминативного центра не отличалась от группы Суб. Она была на 2,56% больше, чем в контрольной группе и на 4% меньше, чем в группе АГ. Увеличилась площадь центральной артерии и периартериальной муфты по сравнению с контрольными значениями и, особенно, по сравнению с группой АГ. Площадь тяжей и синусов красной пульпы также изменилась, но оставалась по значениям ближе к группе контроля, чем животные группы АГ.

В этот же период в группе Субалин площадь герминативного центра увеличилась на 1,61% по сравнению с контрольными значениями (Таблица 12). Сократилась зона мантия (на 4,53%), площадь маргинальной зоны и тяжей красной пульпы (на 2,77% и на 12,7% соответственно). Площадь центральной артерии увеличилась (на 0,07%). Увеличилась зона периартериальной муфты (на 0,7%) и синусов красной пульпы (на 17,64%).

Изменения цитоархитектоники структурно-функциональных зон селезенки опытных групп Субалин и Антиген + Субалин показаны в приложении А, таблице 3. У животных, которым вводили антиген совместно с субалином в гиперпластическом периоде болезни увеличилось количество лимфобластов в герминативных центрах в 2,1раз по сравнению с контролем. Количество средних лимфоцитов и макрофагов уменьшилось на 0,73% и 2,25% соответственно по сравнению с контролем. По сравнению с группой АГ количество средних лимфоцитов уменьшилось на 5,21%. Количество клеток на стадии митоза увеличилось в 5 раз по сравнению с контролем. По сравнению с группой Субалин количество макрофагоцитов уменьшилось на 1,47%. Количество лимфоцитов (малых) и ретикулярных клеток достоверно не изменилось по сравнению с контрольной группой.

В маргинальной зоне в гиперпластический период (I) увеличилось количество средних лимфоцитов (в 4,03 раза). Количество малых лимфоцитов и

ретикулярных клеток снизилось на 8,75% и 0,88% соответственно. Количество макрофагов достоверно не изменилось.

В периартериальной муфте увеличилось количество средних лимфоцитов (в 2,71 раз) и ретикулярных клеток (на 0,81%). Количество малых лимфоцитов и макрофагов уменьшилось (на 9,21% и на 0,63% соответственно).

В зоне тяжелой красной пульпы увеличилось количество плазмобластов (в 2,12 раз), незрелых плазмоцитов (на 4,28%), митотически делящихся клеток (в 2,5 раза). Уменьшилось количество макрофагов (в 2,09 раз), нейтрофилов (в 6,8 раз) и мегакариоцитов (в 1,81 раз). Также уменьшилось количество ретикулярных клеток (на 1,92%). Количество зрелых плазмоцитов и эритробластов достоверно не изменилось.

В синусах красной пульпы снизилось содержание малых лимфоцитов (в 1,51 раз). Уменьшилось количество макрофагов (в 1,97 раз), нейтрофилов (в 13,3 раза), и мегакариоцитов (в 1,84 раза). Количество незрелых плазмоцитов увеличилось в 2,84 раза, а зрелых плазмоцитов увеличилось на 8%. Количество средних лимфоцитов, ретикулярных клеток и эритробластов достоверно не отличается от контрольной группы.

В этот же период в опытной группе **Субалин** отмечались следующие изменения клеточного состава структурно-функциональных зон селезенки. **В герминативном центре** увеличилось количество лимфобластов в 2,2 раза, средних лимфоцитов – на 1,95%. Также увеличилось количество клеток на стадии митоза в 6 раз. Количество макрофагов и ретикулярных клеток уменьшилось на 0,78% и 1,03% соответственно (Приложение А, Таблица 3). Количество малых лимфоцитов не имело достоверных отличий от контрольных значений.

В клеточном составе **маргинальной зоны** произошло увеличение количества средних лимфоцитов и макрофагов (на 3,05% и 3,32% соответственно). Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 6,97%. Содержание ретикулярных клеток достоверно не изменилось.

В периартериальной муфте количество средних лимфоцитов уменьшилось на 0,49%. Количество малых лимфоцитов достоверно не изменилось по

сравнению с контрольными значениями. Количество макрофагов увеличилось на 2,22%. Количество ретикулярных клеток уменьшилось на 1,82%.

В тяжах красной пульпы увеличилось количество плазмобластов в 3,1 раз, клеток на стадии митоза в 3,5 раз, незрелых плазмоцитов на 5,95%. Количество зрелых плазмоцитов уменьшилось на 3,27%. Уменьшилось количество макрофагов и ретикулярных клеток на 2,74% и на 2,52% соответственно. Так же уменьшилось количество нейтрофилов в 2,9 раз. Количество мегакариоцитов и эритробластов достоверно не изменилось по отношению к контрольным значениям.

В синусах красной пульпы количество средних лимфоцитов увеличилось на 1,15%. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 3,04%. Количество незрелых плазмоцитов увеличилось в 2,7 раз. Количество зрелых плазмоцитов не отличалось от контрольных значений. Уменьшилось количество макрофагов, ретикулярных клеток и нейтрофилов на 4,07%, 2,7% и 1,07% соответственно. Количество мегакариоцитов и эритробластов не изменилось достоверно.

В терминальном периоде в группе АГ + Суб в герминативном центре увеличилось количество лимфобластов на 0,42%. Количество средних лимфоцитов уменьшилось на 1,16% и малых лимфоцитов на 4,55%. Увеличилось количество макрофагов на 1,04% и ретикулярных клеток в 3,39 раз. Количество клеток на стадии митоза оставалось близким к контрольным значениям

В маргинальной зоне увеличилось количество средних лимфоцитов и ретикулярных клеток в 4,05 раз и в 3,73 раза соответственно и макрофагов на 0,57%. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 19,7% (Приложение А, Таблица 3).

В периартериальной муфте увеличилось количество средних лимфоцитов, макрофагов и ретикулярных клеток в 2,42 раза, в 2,18 раз и в 5,07 раз соответственно. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 18,89%.

В тяжах красной пульпы увеличилось количество плазмобластов в 1,84 раза, незрелых плазмоцитов на 1,51%. Количество зрелых плазмоцитов достоверно не изменилось. Увеличилось количество клеток на стадии митоза в

2,82 раза, ретикулярных клеток в 1,73 раза и эритробластов в 3,14 раз. Количество макрофагов и мегакариоцитов уменьшилось в 2,09 раз и в 1,89 раз соответственно. Количество нейтрофилов уменьшилось на 0,63%.

В синусах красной пульпы увеличилось количество средних лимфоцитов на 0,93%. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 6,66%. Количество незрелых плазмоцитов увеличилось в 8,22 раза. Количество зрелых плазмоцитов достоверно не изменилось. Уменьшилось количество макрофагов в 3,31 раз и нейтрофилов в 4,82 раза. Количество ретикулярных клеток, мегакариоцитов и эритробластов увеличилось в 2,17 раз, в 1,38 раз и в 2 раза соответственно.

В этот же период в группе Субалин в герминативном центре количество лимфобластов увеличилось в 1,94 раза. Количество средних лимфоцитов увеличилось на 4%, а малых лимфоцитов уменьшилось на 10,63%. Количество макрофагов увеличилось на 1,73%. Количество ретикулярных клеток увеличилось в 2,85 раз. Достоверных изменений количества клеток на стадии митоза нет.

В маргинальной зоне увеличилось количество средних лимфоцитов в 1,97 раз, макрофагов в 1,9 раз и ретикулярных клеток в 5,18 раз. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 14,88%.

В периартериальной муфте увеличилось количество макрофагов на 2,14% и ретикулярных клеток в 3,49 раз. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 7,06%. Количество средних лимфоцитов достоверно не изменилось.

В тяжах красной пульпы увеличилось количество плазмобластов в 2,57 раз и незрелых плазмоцитов на 2,05%. Количество зрелых плазмоцитов уменьшилось на 4,75%. Уменьшилось количество макрофагов на 3,43% и нейтрофилов в 2,93 раза. Количество клеток на стадии митоза увеличилось в 3,53 раза, ретикулярных клеток в 2,44 раза. Увеличилось количество мегакариоцитов и эритробластов в 2,53 раза и в 3,86 раз соответственно.

В синусах красной пульпы количество средних лимфоцитов увеличилось на 1,94%. Количество малых лимфоцитов достоверно не изменилось. Количество незрелых плазмоцитов увеличилось в 6,09 раз. Количество зрелых плазмоцитов уменьшилось на 12,82%. Уменьшилось количество макрофагов на 3,36%.

Увеличилось количество ретикулярных клеток в 1,91 раз, нейтрофилов на 0,59%. Увеличилось количество мегакариоцитов и эритробластов в 1,88 раз и в 3,52 раза соответственно.

Влияние препарата субалин на спонтанную и стимулированную митогенами пролиферацию спленоцитов в условиях экспериментального вирусного лейкоза отражено в таблице 13. В ответ на однократное введение животным субалина пролиферативная активность спленоцитов (спонтанная, ConA- и PWM-стимулированная) увеличилась в несколько раз с динамикой последующего снижения в отдаленном периоде наблюдения. Тем не менее, она оставалась повышенной по сравнению со значениями контрольной группы животных. При однократном введении субалина инфицированным животным мы наблюдали достоверное снижение пролиферативной активности спленоцитов в гиперпластическом периоде развития болезни по сравнению с контрольной группой животных. Было выявлено, что при одномоментном введении субалина с антигеном в гиперпластическом периоде ConA стимулированная пролиферация спленоцитов была выше, чем в группе антиген без субалина более чем в 4 раза ($ИС (АГ + Суб) / ИС (АГ) = 0,26 / 0,06$). Что позволяет предполагать стимулирующее воздействие пробиотика на иммунокомпетентные клетки в условиях вирусного лейкоза на этом этапе исследования. В терминальном периоде развития болезни влияние субалина на инфицированных животных характеризовалось увеличением спонтанной пролиферативной активности по сравнению как с контрольной группой ($ИС = 1,33$), так и с группой антигена ($ИС (АГ + Суб) / ИС (АГ) = 1,33 / 0,6$). Стимулированная митогенами пролиферация спленоцитов животных, которым вводили антиген совместно с субалином в конце наблюдения была ниже, чем в контрольной группе (ConA $ИС = 0,48$, PWM $ИС = 0,46$).

Таблица 13 – Влияние препарата субалин на спонтанную и стимулированную митогенами пролиферацию спленоцитов в условиях экспериментального вирусного лейкоза

	Вид пролиферативной активности	Антиген		Субалин		Антиген + Субалин		Контроль
		импульс/мин	ИС	импульс/мин	ИС	импульс/мин	ИС	импульс/мин
Гиперпластический период	Спон	1067 ± 135,7*	0,13 ± 0,01	15321,5 ± 336,3*	1,90 ± 0,02	1534 ± 160,0*●	0,19 ± 0,01	8072 ± 270,1
	Con	1934 ± 106,6*	0,06 ± 0,001	146894,3 ± 1965,4*	4,80 ± 0,1	7924 ± 904,4*●Δ	0,26 ± 0,02	30603 ± 1312,4
	PWM	1178 ± 201,9*	0,58 ± 0,06	6099 ± 309,9*	3,0 ± 0,02	1001 ± 95,5*●	0,49 ± 0,02	2033 ± 113,5
Терминальный период	Спон	914 ± 88,92*	0,6 ± 0,1	2272 ± 100,2	1,50 ± 0,2	2014 ± 203,3Δ	1,33 ± 0,2	1515 ± 399,9
	Con	21223 ± 1001,1*	0,40 ± 0,01	123857,6 ± 1783,2*	2,31 ± 0,01	25640 ± 1417,5●;*	0,48 ± 0,02	53618 ± 1018,4
	PWM	13202,5 ± 1714,5	1,15 ± 0,03	15011 ± 1297,7	1,31 ± 0,01	5312 ± 266,1*●Δ	0,46 ± 0,01	11493 ± 915,5

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$); ●различия достоверны в сравнении с опытной группой Суб ($P \leq 0,05$); ИС – индекс стимуляции

3.2.4. Резюме

Введение животным препарата субалин не снизило летальность инфицированных ВЛР мышей и не продлило срок их жизни. Введение животным субалина не повлияло на динамику гематологических показателей у интактных мышей. В то же время субалин оказал значительное влияние на выравнивание гематологических показателей и лейкопоз животных, инфицированных вирусом лейкоза Раушера. В группе АГ + Суб изменения крови мышей сходны с группой АГ, но менее выражены, при этом значительно увеличилось количество юных клеток в лейкограмме (в 4 раза больше, чем в группе АГ) в терминальном периоде.

Введение Субалина вызвало изменения в подвздошном лимфатическом узле. Так в гиперпластическом периоде заболевания отмечается усиление транспортной функции (увеличение краевого синуса в 2 раза), незначительная «компактизация» – увеличение коркового вещества на 6,58% при сохранении фрагментированного типа строения данного лимфатического узла (корково-мозговой индекс 0,7). Увеличение паракортикальной зоны говорит об усилении Т-клеточного иммунитета. Увеличение митозов в 2 раза в мозговых тяжах по сравнению с контрольной группой говорит о стимуляции В-клеточного звена препаратом субалин у мышей в гиперпластическом периоде. Увеличение клеток плазматического ряда в мозговых синусах лимфатического узла отражает интенсивность гуморальных иммунологических реакций.

В отдаленный период наблюдения мы наблюдали уменьшение коркового вещества, первичных и вторичных лимфоидных узелков, коркового плато и паракортикальной зоны. Увеличение мозгового вещества, капсулы и краевого синуса. Изменения малых, средних, больших лимфоцитов и иммунобластов в структурных зонах лимфатического узла отражают процессы миграции, пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток. Плазмоцитарная реакция в мозговой зоне говорит о стимуляции В-клеточного иммунитета.

При введении препарата субалин совместно с антигеном (вирусом лейкоза Раушера) в гиперпластический период заболевания основные изменения происходят в В-зоне лимфатического узла. Уменьшение площади герминативных центров и мозговых тяжей (В-зона) подтверждает угасание гуморального иммунного ответа. Возрастание молодых форм (лимфобластов и митотически делящихся клеток в герминативном центре, средних плазмобластов и плазмобластов в мозговых тяжях) клеточного состава говорит об усилении лимфоцитпродуцирующей функции данного лимфатического узла на этом этапе эксперимента. Увеличение площади краевого и мозговых синусов говорит об усилении транспортной функции лимфатического узла. В общем же, большинство показателей близки к контрольным значениям, что, по-видимому, означает некоторую стабилизацию организма при применении препарата субалин в условиях вирусного лейкоза Раушера.

В терминальный период наблюдения мы наблюдали уменьшение коркового вещества, коркового плато, паракортикальной зоны (угнетение лимфодетоксикационной функции); увеличение мозговых синусов и мозговых тяжей (усиление транспортной функции лимфатического узла, а также активация В-звена иммунной системы). Увеличение лимфобластов и митозов говорит об активном иммунном ответе на введение антигена. А увеличение количества зрелых антителобразующих клеток отражает напряженность иммунного ответа.

В селезенке мышей группы субалин в гиперпластическом периоде мы наблюдали стимуляцию В-клеточного иммунного звена, что выражалось в увеличении площади герминативных центров, увеличения лимфобластов, средних лимфоцитов и митотически делящихся клеток в них. Так же достоверное увеличение, по сравнению с контрольной группой плазмобластов и митозов в мозговых тяжях, подтверждает усиление гуморальных иммунологических реакций.

В терминальном периоде в группе Субалин отмечается достоверное увеличение герминативного центра, синусов красной пульпы. Увеличение количества плазмобластов и незрелых плазмоцитов в мозговых тяжях селезенки

подтверждает усиленные гуморальные иммунологические реакции. А увеличенное количество клеток на стадии митоза, мегакариоцитов, эритробластов указывает на усиленный эритропоэз.

В группе АГ + Суб мы наблюдали изменения строения селезенки, которые имели сходство как с группой АГ так и с группой Суб. Изменения клеточного состава селезенки в группе АГ + Суб в гиперпластическом периоде характеризуются увеличением лимфобластов в герминативном центре в 2,1 раз и митозов в 5 раз по сравнению с группой контроля. В маргинальной зоне и в зоне периартериальной муфты увеличилось количество средних лимфоцитов. В красной пульпе увеличилось количество плазмобластов, незрелых и зрелых плазмоцитов.

В терминальной стадии развития вирусного лейкоза значительно возрастает количество ретикулярных клеток практически во всех зонах селезенки, а также митозов и эритробластов в зоне тяжелой красной пульпы. Но, по сравнению с группой АГ, количество эритробластов в группе АГ + Суб намного ниже. Низкий уровень стимуляции спленоцитов в группе АГ + Суб характеризует супрессию иммунного ответа.

Таким образом, установлено, что введение препарата Субалин инфицированным вирусом лейкоза Раушера мышам не оказывало значительного влияния на их летальность, но в то же время стимулировало гемопоэз, что характеризовалось достоверным увеличением количества юных клеток в крови, а также активировало В-звено иммунной системы в терминальной стадии развития заболевания.

3.3. Изменение иммунологических, гематологических и морфологических показателей на введение мезенхимальных стволовых клеток при экспериментальном лейкозе Раушера у мышей BALB/c

В группе Антиген + Стволовые клетки первое животное погибло через 3 месяца после заражения, другие в последующем в течение 9 месяцев. В группе Стволовые клетки выживаемость животных составила 100% (линия кривой на графике совпадает с кривой контрольной группы) (Рисунок 16).

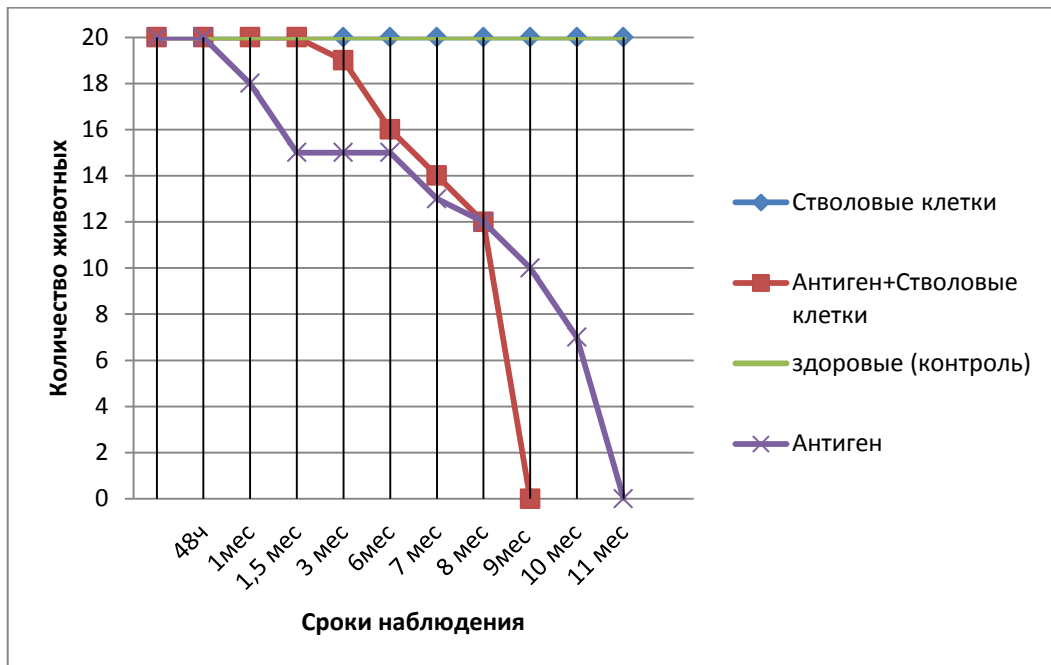


Рисунок 16 – Кривая выживаемости мышей опытной и контрольной групп

3.3.1. Изменение гематологических показателей в группах Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки

В группе АГ + СК в гиперпластический период выявилось снижение количества эритроцитов в 2,8 раз по сравнению с контролем; в терминальном периоде количество эритроцитов в этой группе увеличилось почти в 2 раза (в отличие от группы АГ), но, по сравнению с контрольными значениями, оставалось сниженным. Кроме того, в группе АГ + СК в терминальном периоде (II) отмечалось увеличение количества лейкоцитов в 1,9 раз по сравнению с контролем (и в 2,9 раз по сравнению с АГ). У животных, которым вводили только стволовые клетки, в отдаленном периоде наблюдения произошло достоверное увеличение количества эритроцитов; количество лейкоцитов

оставалось близким к контрольным значениям в течение всего периода наблюдения (Таблица 14).

Таблица 14 – Динамика гематологических показателей опытных (АГ, СК, АГ + СК) и контрольной групп животных, ($M \pm m$), $n = 9$

Группа животных	Эритроциты, $\times 10^6/\text{мкл}$		Лейкоциты, $\times 10^3/\text{мкл}$	
	Гиперпластический период	Терминальный период	Гиперпластический период	Терминальный период
АГ	$5,39 \pm 0,43$ *	$3,73 \pm 0,15$ Δ *	$4,19 \pm 0,6$ *	$5,12 \pm 0,74$
СК	$9,7 \pm 0,9$	$11,67 \pm 0,25$ *	$7,58 \pm 0,95$	$10,64 \pm 1,49$
АГ +СК	$3,55 \pm 0,94$ *	$6,33 \pm 0,71$ * Δ	$5,83 \pm 1,06$	$14,83 \pm 1,92$ * Δ
К	$10,03 \pm 0,4$	$9,29 \pm 0,35$	$8,17 \pm 1,2$	$7,78 \pm 0,94$

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$).

В лейкограмме животных **группы АГ + СК** в гиперпластическом периоде развития болезни произошло значительное увеличение палочкоядерных нейтрофилов (в 24,5 раза) и моноцитов (в 13,1 раза), уменьшилось количество лимфоцитов на 13,45% по сравнению с контролем. В это время у животных, которым вводили одни **стволовые клетки** (без АГ) увеличилось количество эозинофилов в 5,8 раз, палочкоядерных нейтрофилов – в 15,8 раз и моноцитов – в 12,8 раз по сравнению с контролем (Таблица 15).

В терминальный период развития болезни в лейкограмме животных **группы АГ + СК** количество палочкоядерных нейтрофилов оставалось повышенным в 20,9 раз, моноцитов – в 8 раз по сравнению с контролем; количество лимфоцитов снизилось еще больше (на 20,91% по сравнению с контролем). Индекс сдвига не превышал 0,3 (Таблица 15).

Таблица 15 – Динамика показателей лейкограммы крови животных группы Антиген, Стволовые клетки, Антиген + Стволовые клетки и контрольной групп мышей BALB/c в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни, ($M \pm m$)

Формы лейкоцитов		АГ(n=9)		СК (n=9)		АГ + СК(n=9)		К(n=9)	
		(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Базофилы		0,11 ± 0,11	0,11 ± 0,11	0,33 ± 0,17	-	1,44 ± 0,38Δ	0,6 ± 0,44	-	-
Эозинофилы		0,33 ± 0,17	15,0 ± 0,5*	2,56 ± 0,44 *	0,78 ± 0,36	0,67 ± 0,24♥	1,8 ± 0,58Δ	0,44 ± 0,24	0,44 ± 0,29
Нейтрофилы	юные	1,22 ± 0,23*	0,78 ± 0,52*	-	-	1,44 ± 0,47	1,6 ± 1,16	-	-
	палочкоядерные	14,67 ± 0,42*	16,93 ± 1,21 *Δ	5,22 ± 0,36 *	5,89 ± 1,66 *	8,11 ± 0,79* Δ♥	9,2 ± 2,58 Δ*♥	0,33 ± 0,18	0,44 ± 0,24
	сегментоядерные	54,0 ± 2,99 *	14,11 ± 1,87 Δ*	26,33 ± 2,36	50,56 ± 4,33	30,56 ± 1,87	40,6 ± 1,85	35,89 ± 3,22	39,0 ± 2,27
Лимфоциты		28,78 ± 2,90*	39,78 ± 2,04*	57,0 ± 2,32	36,89 ± 2,0 *	49,22 ± 1,75 *	38,2 ± 3,43 *	62,67 ± 3,38	59,11 ± 2,16
Моноциты		0,89 ± 0,26	13,29 ± 0,71 *Δ	8,56 ± 0,99 *	6,63 ± 1,76 *	8,78 ± 0,83 *	8,0 ± 2,85 *	0,67 ± 0,24	1,0 ± 0,17

Примечание: *Различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой (АГ) ($P \leq 0,05$); ♥ различия достоверны в сравнении с опытной группой (СК) ($P \leq 0,05$)

В это же время у животных группы СК количество палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов оставалось повышенным (в 13,4 раза и 6,6 раза соответственно), количество лимфоцитов уменьшилось на 9,89%, количество эозинофилов не имело достоверных отличий от контрольных значений. Индекс сдвига не превышал 0,2.

3.3.2. Морфофункциональное исследование медиального подвздошного лимфатического узла у животных опытной группы Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки

На микропрепаратах медиального подвздошного лимфоузла группы Стволовые клетки корковое и мозговое вещество хорошо визуализируется (Рисунок 17 (а)).

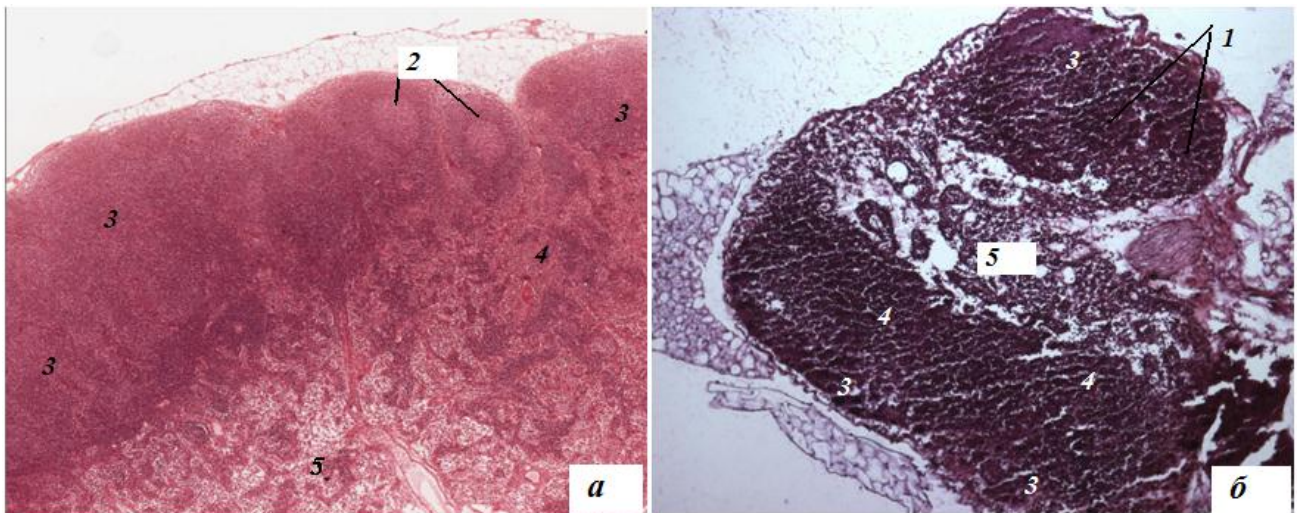


Рисунок 17 – Подвздошный медиальный лимфоузел животных группы Стволовые клетки (а) и Антиген + Стволовые клетки (б) в гиперпластический период развития болезни, окраска гематоксилином и эозином; а) увеличение X 20, б) увеличение X 10. На рисунке (а) представлен общий вид лимфатического узла мышей, его структура близка к контрольной группе; на рисунке (б) структура лимфоузла не так хорошо просматривается, но можно отметить уменьшение площади герминативных центров и общее сохранение морфологии. 1-

лимфоидные узелки, 2- герминативные центры, 3- корковое вещество, 4- паракортикальная зона, 5- мозговое вещество

По периферии коркового вещества, ближе к капсуле, расположены лимфоидные фолликулы с зоной просветления. Паренхима мозгового вещества представлена мякотными тяжами и мозговыми синусами между ними. Паракортикальная зона неравномерно располагается между корковым и мозговым слоями. Структура медиального подвздошного лимфоузла животных группы **Антиген + Стволовые клетки** в общем была сохранена. В группе встречались лимфоузлы с неравномерно распределенной зоной коры, зона просветления в лимфоидных узелках была меньше (Рисунок 17 (б)).

Основные морфофункциональные изменения медиального подвздошного лимфоузла при введении стволовых клеток показаны в таблице 16. Более подробно изменения структурно-функциональных зон лимфоузла этой группы изложены в приложении А, таблице 4.

В группе АГ + СК в гиперпластический период уменьшилась площадь коркового вещества (на 3,29%). Это произошло за счет уменьшения количества вторичных лимфоидных узелков (в 3 раза) и коркового плато (на 0,5%), а также на фоне увеличения площади первичных лимфоидных узелков (в 1,5 раза). Во вторичных лимфоидных узелках отмечалось уменьшение герминативных центров в 3,8 раз и мантия в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой. Площадь мозговых тяжей этой группы мышей по размерам была такой же, как у интактных животных. Наблюдалось увеличение площади мозговых синусов (на 3,11%). Корково-мозговой индекс уменьшился на 0,07%, тип узла остался фрагментированным. Площадь капсулы увеличилась незначительно (на 0,5%), площадь краевого синуса увеличилась в 2 раза при сравнении с группой контроля.

В этот же период в **группе СК** увеличилась площадь коркового вещества (на 3,3%), а мозгового уменьшилась (на 2,6%) (Таблица 16).

Таблица 16 – Морфофункциональные изменения лимфатических узлов мышей BALB/c опытной группы АГ, СК и АГ + СК в сравнении с контрольной группой в гиперпластическом (I) и терминальном (II) периоде ($M \pm m$)%

Показатель	Период	АГ	СК	АГ + СК	Контроль
Корковое вещество	(I)	33,3±2,32	36,86±2,46	30,28±1,03	33,57±1,37
	(II)	23,32±1,56*	50,7±3,7	22,42±1,18*♥	49,56±2,33
Паракортикальная зона	(I)	29,3±1,15*	30,71±0,63*	24,1±0,98Δ♥	23,71±1,1
	(II)	21,76±0,92*	45,23±1,78	17,9±1,1*♥	40,1±1,63
Вторичные лимфоидные узелки	(I)	1,94±0,19*	3,49±0,28*	2,13±0,08*♥	6,21±0,11
	(II)	0,52±0,08*	1,85±0,18*	1,55±0,19*Δ	3,86±0,23
В-зона	(I)	47,15±2,3	43,52±2,1	45,24±1,52	49,93±1,95
	(II)	50,28±2,75	37,42±3,5	48,72±1,41♥	41,28±2,51
Лимфобласты герминативного центра	(I)	10,14±0,34*	14,03±1,0*	9,17±0,41*♥	3,77±0,17
	(II)	9,6±0,53*	6,56±0,24	7,43±0,35Δ	6,82±0,16
Митозы герминативного центра	(I)	2,81±0,17*	3,63±0,25*	1,91±0,08*Δ♥	1,06±0,07
	(II)	4,9±0,31*	2,13±0,13	2,59±0,31Δ	2,24±0,16

Примечание: *Различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой (АГ) ($P \leq 0,05$); ♥различия достоверны в сравнении с опытной группой (СК) ($P \leq 0,05$)

Уменьшение размеров коры произошло за счет уменьшения площади первичных и вторичных лимфоидных узелков (в 1,4 и в 1,8 раз соответственно), и коркового плато (в 1,3 раза). При уменьшении площади вторичных лимфоидных узелков отмечалось уменьшение мантийной зоны в большей степени (в 2,3 раза), чем герминативных центров (в 1,4 раза). Паракортикальная зона, напротив, увеличилась по сравнению с контрольными значениями на 7%. Площадь мозговых тяжей уменьшилась на 2,5%, а площадь мозговых синусов не изменилась по сравнению с контрольной группой. Достоверных изменений в значениях площади краевого синуса не было. Уменьшилась площадь трабекул в

2,5 раза и капсулы на 0,75%. Кортиково-мозговой индекс составлял 0,6 (фрагментированный тип). (Приложение А, Таблица 4).

В терминальный период развития болезни, в группе АГ + СК у мышей произошло изменение соотношения структурно-функциональных зон подвздошного лимфоузла. Площадь, занимаемая корковым веществом, сократилась в 2,2 раза. Площадь, занимаемая мозговым веществом, напротив, увеличилась в 1,5 раза (при сравнении с контрольной группой мышей (Приложение А, Таблица 4)). В составе коркового вещества уменьшились размеры вторичных лимфоидных узелков в 2,5 раза. Причем уменьшение размеров вторичных лимфоидных узелков произошло за счет уменьшения площади, как герминативных центров в 1,9 раз, так и мантийной зоны в 2,8 раз. Относительные размеры коркового плато уменьшились в 3,6 раз. Относительная площадь зогы паракортекса так же сократилась (в 2,2 раза). Мозговые тяжи уменьшились на 12,41%, а площадь мозговых синусов возросла в 1,9 раз по сравнению с контрольными значениями. Что касается капсулы и краевого синуса лимфоузла, их размеры увеличились (в 1,5 раза и в 1,8 раз соответственно). Площадь трабекул не имела достоверного отличия от контрольных значений. Кортиково-мозговой индекс равнялся 0,3, что в 3,4 раза меньше, чем в контрольной группе (фрагментированный тип).

В это же время у животных группы Стволовые Клетки в строении подвздошного лимфоузла отмечалось увеличение площади коркового вещества (на 1,14%), при уменьшении площади мозгового (на 0,6%). В структуре коркового вещества увеличилась площадь паракортикальной зоны (на 5,13%); размеры первичных лимфоидных узелков достоверно не изменились, а вторичных лимфоидных узелков уменьшилась в 2 раза (главным образом за счет уменьшения мантийной зоны в 2,3 раза). Площадь коркового плато уменьшились в 2,6 раз по сравнению с животными контрольной группы. Мозговые тяжи и мозговые синусы достоверно не отличались от показателей интактной группы. Кортиково-мозговой индекс составил 1,1, что соответствует промежуточному типу. Площадь капсулы

уменьшилась на 0,32%, площадь краевого синуса достоверно не отличалась от контрольных значений.

Изменения цитоархитектоники структурно-функциональных зон медиального подвздошного лимфатического узла опытных групп Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки отражена в приложении А, таблице 5. Цитоархитектоника подвздошных лимфатических узлов в группе АГ + СК в гиперпластический период болезни менялась следующим образом. **В герминативном центре** вторичных лимфоидных узелков увеличилось количество лимфобластов (в 2,4 раза), клеток на стадии митоза (в 2 раза), средних лимфоцитов (на 4,8%) по сравнению с контрольными значениями. В то же время уменьшилось количество малых лимфоцитов (на 9,12%), макрофагов (на 0,5%), ретикулярных клеток (в 2 раза). Количество нейтрофилов оставалось таким же, как в группе контроля.

В зоне паракортекса отмечали увеличение количества макрофагоцитов (в 1,5 раза) и средних лимфоцитов (на 1,13%). Сократилось в 2 раза количество лимфобластных клеток. Количество лимфоцитов (малых), ретикулярных клеток и нейтрофилов не имело достоверных отличий при сравнении с аналогичными показателями контрольных мышей.

В зоне мозговых тяжей группы АГ + СК в гиперпластический период (I) отмечалось увеличение средних лимфоцитов (в 3,5 раза) и незрелых плазмобластов (на 10,7%). Сократилось количество малых лимфоцитов и плазмобластов (на 3,2% и на 0,7% соответственно). Также уменьшилось количество зрелых плазмобластов (в 2 раза) и нейтрофилов (в 2,8 раз). Изменения в количестве макрофагоцитов, ретикулярных клеток и клеток на стадии митоза были незначительны и не имели достоверных отличий от аналогичных показателей интактных мышей.

В зоне мозговых синусов отмечалось увеличение количества средних лимфоцитов (на 10,76%) и незрелых плазмоцитов (в 2,1 раза). Количество малых лимфоцитов и зрелых плазмоцитов уменьшилось (на 7,46% и 6,8% соответственно). Так же уменьшилось количество плазмобластов (в 1,9 раз),

макрофагов (в 2,5 раза), ретикулярных клеток (в 1,4 раза), нейтрофилов (в 2,8 раз). Количество тучных клеток не отличалось от группы контроля.

В этот же период у мышей группы Стволовые клетки произошли следующие изменения клеточного состава лимфатического узла. **В герминативном центре** увеличилось количество лимфобластов (в 3,7 раз), митотически делящихся клеток (в 3,4 раза), нейтрофилов (в 2,3 раза), а также средних лимфоцитов (на 3,56%) (Приложение А, Таблица 5). Количество малых лимфоцитов в этой зоне уменьшилось на 15,73%, несколько уменьшилось количество макрофагов и ретикулярных клеток (на 0,45-0,5%).

В паракортикальной зоне основной структурной единицей были малые лимфоциты. Их количество увеличилось на 3,27% по отношению к контрольной группе. Изменения количественного состава остальных клеток было не значительным. Отмечалось уменьшение количества лимфобластов в 1,6 раз, средних лимфоцитов в 1,3 раза, ретикулярных клеток в 1,2 раза, а также увеличение макрофагов в 1,4 раза. Количество нейтрофилов достоверно не изменилось.

В зоне мозговых тяжей повысилось количество лимфоцитов (средних) и митотически делящихся клеток (в 2,08 и 2,7 раз соответственно). Возросло количество плазматических клеток в 1,5 раза (плазмобластов и незрелых плазмобластов) и незначительно (на 0,5%) увеличилось количество ретикулярных клеток. Что касается зрелых плазмобластов, их содержание уменьшилось (на 16,21%), а количество макрофагоцитов, малых лимфоцитов и нейтрофилов достоверно не изменилось при сравнении с контрольными показателями.

В зоне мозговых синусов увеличилось количество плазмобластов в 4 раза, незрелых плазмоцитов и тучных клеток в 2 раза. Меньше, чем на 1% уменьшилось количество макрофагов и ретикулярных клеток. Малые лимфоциты и зрелые плазмоциты составляли основную массу клеток мозговых синусов подвздошных лимфатических узлов этой группы животных. При этом количество малых лимфоцитов уменьшилось по сравнению с контрольной группой на

14,39%, а количество зрелых плазмоцитов фактически не изменилось. Так же не было достоверных изменений средних лимфоцитов, и нейтрофилов.

Цитоархитектоника подвздошного лимфатического узла мышей группы АГ + СК в терминальный период болезни представлена в приложении А, таблице 5. **В зоне герминативных центров** лимфоидных узелков возросло количество бластных форм клеток (на 0,61%), лимфоцитов (средних) (на 3,39%), макрофагов (на 1,16%). Количество малых лимфоцитов сократилось (на 5%); уменьшилось содержание ретикулярных клеток (на 0,51%). Количество клеток на стадии митоза и клеток-нейтрофилов не имело достоверных отличий при сравнении с контрольными показателями.

В зоне паракортекса наблюдалось возрастание лимфоцитов (средних) (на 0,73%) и макрофагов (в 2,2 раза). Содержание клеток лимфоидного ряда (лимфобластов, малых лимфоцитов), ретикулярных клеток и нейтрофилов было таким же, как в группе контроля.

Клетки мозговой зоны в этот период, главным образом, лимфоциты, незрелые и зрелые плазмоциты (Рисунок 18 (б)).

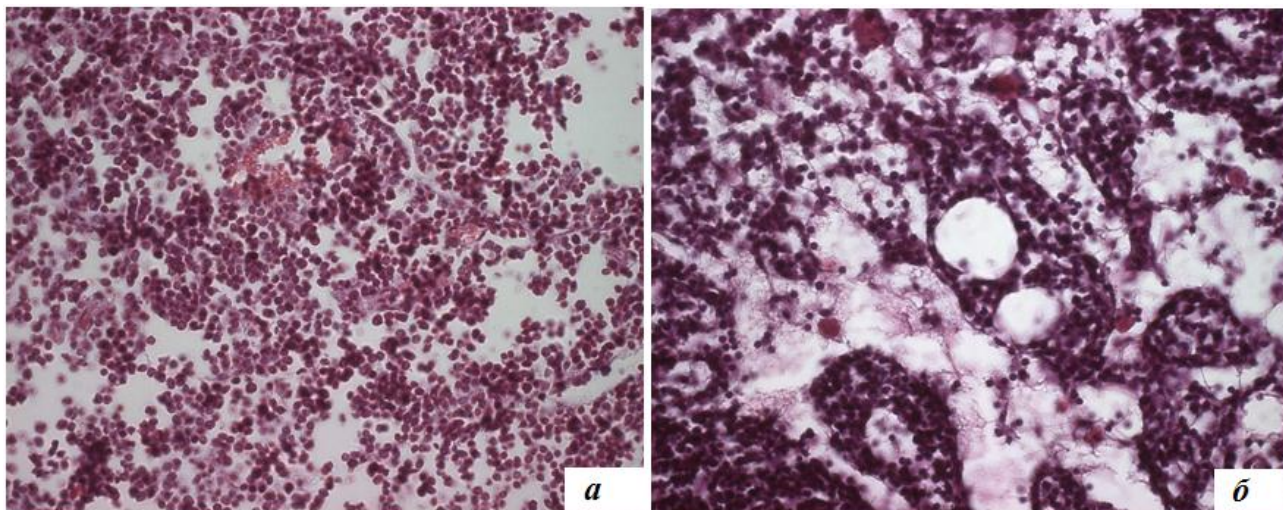


Рисунок 18 – Медиальный подвздошный лимфоузел животных группы Стволовые клетки (а) и Антиген + Стволовые клетки (б) в терминальный период развития болезни, окраска гематоксилином и эозином, увеличение X 400. На рисунке (а) представлен клеточный состав герминативного центра, основные клетки которого – малые лимфоциты; на рисунке (б) клеточный состав мозговой

зоны: основная масса клеток лимфоциты и плазмоциты на разных стадиях созревания.

В зоне мозговых тяжей увеличилось содержание средних лимфоцитов (в 2,1 раз), незрелых плазмоцитов (в 1,8 раз) и макрофагов (на 0,92%). Уменьшилось содержание малых лимфоцитов (на 6,67%), плазмобластов (на 0,53%), зрелых плазмоцитов (на 11,28%) и митотически делящихся клеток (на 0,32%). Содержание ретикулярных клеток и нейтрофилов по количеству близко к контрольным значениям (Приложение А, Таблица 5).

В зоне мозговых синусов отмечалось увеличение средних лимфоцитов (на 3,07%), плазмобластов (на 0,25%), незрелых плазмоцитов (на 3,41%). Возросло содержание ретикулярных клеток и клеток-нейтрофилов (на 0,52% и 0,31% соответственно). Уменьшилось количество лимфоцитов (малых) (на 3,76%), зрелых плазмоцитов (на 2,63%) и макрофагов (на 1,15%).

В этот же период цитоархитектоника медиального подвздошного лимфатического узла мышей группы Стволовые клетки оставалась близкой к контрольным показателям. Так мы наблюдали, что клетки **в зоне герминативных центров** вторичных лимфоидных узелков были представлены, в основном, малыми и средними лимфоцитами (Рисунок 18 (а)). При этом количество средних лимфоцитов увеличилось (на 3,28%), а количество малых лимфоцитов достоверно не изменилось. Количество лимфобластных клеток, клеток на стадии митоза и клеток-нейтрофилов достоверно не изменилось. Содержание макрофагоцитов и ретикулярных клеток уменьшилось (на 0,75% и 0,32% соответственно).

Структуру **паракортикальной зоны** составляли, в основном, малые лимфоциты. Количество их не отличалось от контрольных значений и составляло 93,7%. Количество средних лимфоцитов и ретикулярных клеток увеличилось на 0,42% и 0,43% соответственно. Количество макрофагов уменьшилось на 0,19%. Количество лимфобластов и нейтрофилов достоверно не изменилось.

Клеточный состав **в мозговых тяжях** данной группы в целом незначительно отличался от контрольных показателей: не было достоверных изменений в содержании лимфоцитов (малых), плазмоцитов (незрелых) и клеток-

нейтрофилов. Увеличилось количество средних лимфоцитов (на 1,75%) и зрелых плазмоцитов (на 4,51%). Уменьшилось количество плазмобластов (в 2,4 раза) и клеток на стадии митоза (в 4,3 раза). Также уменьшилось количество макрофагов (на 0,49%) и ретикулярных клеток (на 0,89%).

В зоне мозговых синусов сократилось количество средних лимфоцитов (на 5,79%), малых лимфоцитов (на 10,99%), макрофагов (на 0,42%), плазмобластов (в 1,5 раза). Увеличилось содержание зрелых и незрелых плазмоцитов (на 9,98% и 4,14% соответственно). Так же увеличилось количество ретикулярных клеток (на 1,3%), клеток-нейтрофилов (на 0,15%), тучных клеток (на 0,25%).

3.3.3. Морфофункциональное исследование селезенки у животных опытных групп Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки

В гиперпластический период развития болезни масса селезенки в опытной группе АГ + СК близка к контрольным значениям, как и в группе СК, в то время как в группе АГ масса селезенки увеличилась по сравнению с контролем в 5,3 раз (Таблица 17).

Таблица 17 – Изменение массы селезенки (мг) опытных групп мышей BALB/c в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни

АГ	СК	АГ + СК	К
Гиперпластический период			
708 ± 37,51*	161,67 ± 10,82	143,33 ± 12,03Δ	134,33 ± 5,05
Терминальный период			
2944,78 ± 574,71*	157,11 ± 9,69	593,22 ± 48,56*Δ♥	134,44 ± 1,76

Примечание: *Различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой (АГ) ($P \leq 0,05$); ♥ различия достоверны в сравнении с опытной группой (СК) ($P \leq 0,05$)

В терминальный период наблюдения в группе АГ + СК масса селезенки увеличилась в 4,41 раз по сравнению с контрольными значениями и была в 5 раз меньше, чем в группе АГ. У животных, которым вводили только стволовые клетки, масса селезенки достоверно не отличалась от контрольных значений.

Морфологическое исследование селезенки животных группы АГ + СК в гиперпластический период развития болезни показало, что красная пульпа была диффузно кровенаполнена. Лимфатические фолликулы среднего размера, герминативный центр был несколько увеличен, стенки центральных артерий не изменены, плохо различаемые клетки миелоидного ряда выявлялись группами на разных участках селезенки; мы встречали признаки, подтверждающие активизацию процессов ангиогенеза (увеличенное количество вновь образованных капилляров по сравнению с контрольной группой) (Рисунок 19 (б, в)).

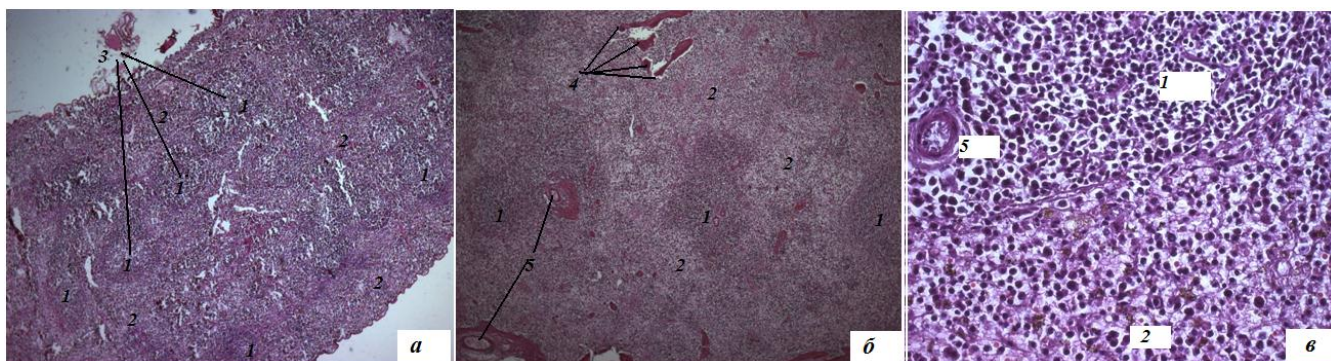


Рисунок 19. Селезенка животных опытных групп Стволовые клетки (а) и Антиген + Стволовые клетки (б, в) в гиперпластический период развития болезни, окраска гематоксилином и эозином; а) увеличение X 10, б) увеличение X 50, в) увеличение X 400. 1- белая пульпа, 2- красная пульпа, 3- реактивный центр, 4) трабекулы, 5) центральная артерия. На рисунке (а) видно диффузное умеренное кровенаполнение красной пульпы, слияние некоторых лимфоидных фолликулов, выраженное просветление реактивного центра. В группе АГ + СК (б, в) просматривается ретикулярная ткань красной пульпы, лимфатический фолликул с увеличенной зоной просветления и центральной артерией, а также малодифференцированные миелоцитарные клетки

В этот же период у мышей, которым вводили только стволовые клетки, морфологическое исследование селезенки показало, что красная пульпа преобладала над белой. Основу красной пульпы составляла умеренно кровенаполненная ретикулярная ткань (Рисунок 19 (а)). Кровеносные сосуды, расположенные в ней, главным образом, синусоидного типа. Среди клеточных элементов крови, наполняющих тяжи и синусы красной пульпы были различимы плазмобласты, незрелые плазмоциты, эритробласты. Лимфатические фолликулы располагались в виде шаровидных скоплений, некоторые лимфоидные фолликулы сливались. В большинстве фолликулов мы встречали выраженное просветление герминативных центров. Также в них были различимы мантийный слой и маргинальная зона. В целом гистологическая картина селезенки мышей группы СК не отличалась от контрольной группы.

Гистологические изменения селезенки мышей группы Антиген + Стволовые клетки в терминальном периоде развития болезни характеризовались наличием очаговых кровоизлияний в пульпе, некоторым увеличением герминативных центров лимфоидных фолликулов, наличием в паренхиме гигантских многоядерных клеток (Рисунок 20 (б, в)).

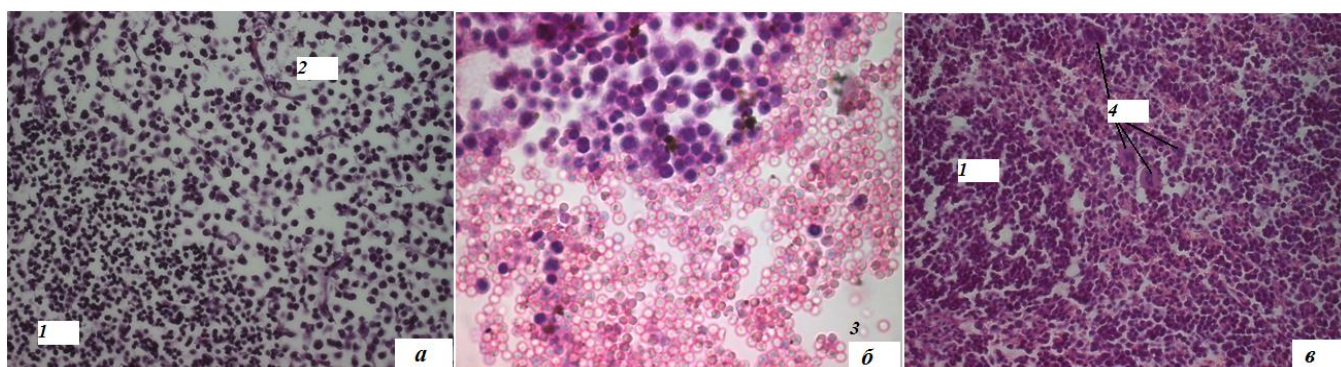


Рисунок 20 – Селезенка животных опытных групп Стволовые клетки (а) и Антиген + Стволовые клетки (б, в) в терминальный период развития болезни, окраска гематоксилином и эозином; а) увеличение X 400, б) увеличение X 1000, в) увеличение X 100. 1- лимфоидный фолликул, 2- красная пульпа, 3- очаги кровоизлияния, 4) гигантские многоядерные клетки. На рисунке (а) видна умеренная делимфатизация красной пульпы. На рисунке (б) – наличие очаговых

кровоизлияний в пульпе; на рисунке (в) – лимфатический фолликул с герминативным центром, наличие гигантских многоядерных клеток

В этот же период наблюдения на микропрепаратах селезенки животных, которым вводили только стволовые клетки при общем сохранении структуры органа отмечалась умеренная делимфатизация красной пульпы (Рисунок 20 (а)).

Основные морфофункциональные изменения селезенки у животных, которым вводили мезенхимальные стволовые клетки отражены в таблице 18.

Таблица 18 – Морфофункциональные изменения селезенки мышей BALB/c опытных групп СК и АГ + СК в сравнении с группой АГ и Контрольной группой в гиперпластическом (I) и терминальном (II) периоде болезни, ($M \pm m\%$)

Показатель	Период	АГ	СК	АГ + СК	Контроль
Центральная артерия	(I)	0,4 ± 0,05*	1,49 ± 0,06*	0,34 ± 0,04*♥	0,86 ± 0,06
	(II)	0,2 ± 0,03*	1,09 ± 0,07*	0,98 ± 0,07*Δ	0,48 ± 0,02
Периартериальная муфта	(I)	1,05 ± 0,05*	2,83 ± 0,08*	1,33 ± 0,05*Δ♥	1,88 ± 0,04
	(II)	1,33 ± 0,04	3,19 ± 0,13*	1,7 ± 0,06 *Δ♥	1,38 ± 0,09
Герминативный центр	(I)	3,3 ± 0,18*	7,64 ± 0,14*	10,56 ± 0,36*Δ♥	6,93 ± 0,2
	(II)	12,1 ± 0,45*	6,5 ± 0,2*	8,24 ± 0,32*Δ♥	5,56 ± 0,25
Лимфобласты герминативного центра	(I)	3,93 ± 0,23*	2,47 ± 0,15*	3,66 ± 0,28*	1,65 ± 0,12
	(II)	-	1,55 ± 0,09	3,07 ± 0,32*♥*	1,6 ± 0,11
Плазмобласты красной пульпы	(I)	2,45 ± 0,26	4,11 ± 0,21*	3,7 ± 0,25*Δ	1,67 ± 0,13
	(II)	1,88 ± 0,16*	1,92 ± 0,17*	2,41 ± 0,22*	1,19 ± 0,1

Примечание: *Различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой (АГ) ($P \leq 0,05$); ♥различия достоверны в сравнении с опытной группой (СК) ($P \leq 0,05$)

Более подробно изменения структурно-функциональных зон показаны в приложении А, таблице 6.

В гиперпластический период развития вирусного лейкоза в группе АГ + СК мы наблюдали следующие изменения площадей структурно-

функциональных зон селезенки: увеличилась площадь герминативного центра и мантия (на 3,63% и 2,74% соответственно) (при сравнении с контрольной группой) (Приложение А, Таблица 6). При сравнении с группой Антигена площадь герминативного центра увеличилась в 3,2 раза, а мантийная зона на 6,95%. При сравнении с группой Стволовых клеток площадь герминативного центра увеличилась на 2,92%, а площадь мантия увеличилась на 6,54%. Уменьшилась площадь маргинальной зоны на 4,63% (по сравнению с контрольными животными).

По сравнению с группой АГ площадь маргинальной зоны увеличилась в 2,3 раза, а по сравнению с группой СК маргинальная зона уменьшилась на 4,03%. Площадь центральной артерии уменьшилась в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой, а по сравнению с группой Стволовые клетки она уменьшилась в 4,4 раза. Площадь периартериальной муфты уменьшилась на 0,55% по сравнению с контрольной группой, а по сравнению с группой Стволовых клеток она уменьшилась в 2,1раз. В сравнении с группой Антигена площадь периартериальной муфты увеличилась на 0,28%. Тяжи красной пульпы уменьшились на 1,35% по сравнению с контрольной группой и увеличились на 1,82% по сравнению с группой стволовые клетки. Площадь синусов красной пульпы уменьшилась на 23% по сравнению с группой Антигена и на 4,6% по сравнению с группой Стволовых клеток.

В группе СК в этот период мы наблюдали увеличение площади герминативных центров селезенки на 0,71%, центральной артерии на 0,63%, периартериальной муфты в 1,5 раза (Таблица 18). Площадь синусов красной пульпы увеличилась на 5,27%. Уменьшилась площадь мантия на 3,8% и маргинальной зоны на 0,6%. Площадь тяжей красной пульпы уменьшилась на 3,17% по отношению к группе контрольных животных.

В терминальном периоде развития болезни в группе АГ + СК мы наблюдали увеличение площади герминативного центра селезенки на 2,68% по сравнению с контрольной группой животных. Зона мантия и маргинальная зона уменьшились на 0,7% и на 4,01% соответственно. Увеличилась зона центральной

артерии в 2,04 раза. Зона периартериальной муфты увеличилась на 0,32%. Тяжи красной пульпы уменьшились в 2,23 раза, а синусы красной пульпы увеличились в 1,63 раза.

Изменения, ранее происходящие в селезенке у мышей **группы Стволовые клетки**, в отдаленный период наблюдения стали еще более выражены. Так площадь герминативного центра в группе Стволовые клетки увеличилась по отношению к контрольной группе на 0,94%. Площадь мантия уменьшилась на 2,91%. Уменьшилась площадь маргинальной зоны на 2,04% и площадь тяжелой красной пульпы на 13,07%. Увеличилась площадь центральной артерии в 2,27 раз, периартериальной муфты в 2,31 раз. Площадь синусов красной пульпы увеличилась в 1,54 раза (Приложение А, Таблица 6).

Изменения цитоархитектоники структурно-функциональных зон селезенки опытных групп Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки отражено в приложении А, Таблице 7. **В группе АГ + СК клетки в гиперпластический период** развития вирусного лейкоза клеточный состав селезенки отличался от других групп. **В герминативном центре** увеличилось количество лимфобластов в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой; количество средних лимфоцитов увеличилось на 3,07% по сравнению с контролем и на 4,75% по сравнению с группой Стволовых клеток. Количество макрофагов сократилось по сравнению с контрольными показателями (на 2,39%). Количество ретикулярных клеток увеличилось на 0,85% по сравнению с группой Антигена. Количество клеток на стадии митоза возросло в 4,4 раза по сравнению с контрольными значениями и в 1,8 раз по сравнению с группой Стволовые клетки.

В маргинальной зоне мы также наблюдали увеличение содержания лимфоцитов (средних) по сравнению с контролем (в 2,9 раз). Количество ретикулярных клеток сократилось по сравнению с контролем (на 0,77%), и по сравнению с группой Стволовые клетки (на 1,46%). Количество малых лимфоцитов и макрофагов достоверно не изменилось.

В зоне периартериальной муфты количество средних лимфоцитов увеличилось в 2,3 раза по сравнению с контролем, а по сравнению с группой Антигена и Стволовых клеток на 2,68% и на 5,1% соответственно. Количество макрофагов увеличилось на 0,42% по сравнению с группой антигена. Количество ретикулярных клеток увеличилось на 0,83% по сравнению с группой Стволовые клетки.

В тяжях красной пульпы мы наблюдали увеличение бластных форм. Содержание плазмобластов увеличилось (в 2,2 раза) по сравнению с контролем и по сравнению с группой Антигена (в 1,5 раза). Количество незрелых плазмоцитов увеличилось на 9,31% по сравнению с контрольной группой. Увеличилось количество клеток на стадии митоза по сравнению с контролем в 2,4 раза, а по сравнению с группой Антигена в 2 раза. Увеличилось количество макрофагов на 2,11% по сравнению с группой Антигена и уменьшилось на 1,02% по сравнению с группой Стволовые клетки. По сравнению с группой Антигена увеличилось количество ретикулярных клеток на 1,67%. Изменилось количество нейтрофилов: уменьшилось по сравнению с контролем в 7,1 раз, по сравнению с группой Стволовые клетки в 1,6 раз. Количество эритробластов увеличилось в 3,2 раза по сравнению с контролем.

В синусах красной пульпы мы наблюдали уменьшение количества средних лимфоцитов на 2,65% по сравнению с контролем и на 2,42% по сравнению с группой Антигена. По сравнению с контролем уменьшилось количество малых лимфоцитов на 7,18%. Увеличилось количество незрелых плазмоцитов на 4,82% по сравнению с контрольными животными и на 2,59% по сравнению с группой Стволовые клетки. Количество зрелых плазмоцитов увеличилось на 8,06% по сравнению с контролем. Уменьшилось количество макрофагов на 2,85% по сравнению с контролем, на 3,65% по сравнению с группой Антигена и на 2,22% по сравнению с группой Стволовые клетки. Количество нейтрофилов уменьшилось в 4,8 раз по сравнению с контролем. Количество эритробластов увеличилось по сравнению с контролем в 5,8 раз, и по сравнению с группой Стволовых клеток в 9,4 раза.

В этот же период в группе СК мы наблюдали следующие изменения клеточного состава в селезенке: **в герминативном центре** увеличилось количество лимфобластов в 1,5 раза и клеток на стадии митоза в 2,4 раза. Уменьшилось количество средних лимфоцитов и макрофагов на 1,68% и 1,55% соответственно. Количество малых лимфоцитов и ретикулярных клеток не имело достоверных отличий от контрольных значений.

В маргинальной зоне мы наблюдали увеличение количества средних лимфоцитов в 2,5 раза и ретикулярных клеток на 0,69%. Количество малых лимфоцитов и макрофагов достоверно не изменилось по сравнению с контрольной группой.

В зоне периартериальной муфты не было достоверных изменений в количестве малых лимфоцитов, макрофагов и ретикулярных клеток. Несколько увеличилось количество средних лимфоцитов (на 1,43%), эритробласты не выявились.

В тяжах красной пульпы мы отмечали увеличение количества плазмобластов (в 2,5 раза), незрелых плазмоцитов (в 1,6 раз). Увеличилось количество клеток на стадии митоза (в 3,5 раза), эритробластов (в 3,3 раза). Несколько уменьшилось количество зрелых плазмоцитов (на 7,77%), ретикулярных клеток (на 0,78%) и нейтрофилов (в 2,3 раза). Не выявили изменений количества макрофагов и мегакариоцитов по отношению к интактной группе.

В синусах красной пульпы количество средних и малых лимфоцитов уменьшилось (на 2,26% и 6,43% соответственно). Уменьшилось количество макрофагов (на 5,07%) и нейтрофилов (в 3,8 раз) по сравнению с контрольными значениями. Количество незрелых и зрелых плазмоцитов увеличилось (на 2,23% и 14,1% соответственно). Содержание ретикулярных клеток увеличилось на 0,6%. Уменьшилось количество мегакариоцитов в 5,8 раз и эритробластов в 1,6 раз.

В терминальный период развития болезни в группе АГ + СК мы наблюдали следующие изменения цитоархитектоники селезенки мышей. **В герминативном центре** увеличилось количество лимфобластов (в 1,92 раза),

средних лимфоцитов (на 1,8%). Количество макрофагов увеличилось на 1%, так же возросло содержание ретикулярных клеток (в 3,49 раз). Количество клеток на стадии митоза уменьшилось (в 1,48 раз). Уменьшилось количество малых лимфоцитов (на 8,52%).

В маргинальной зоне увеличилось количество средних лимфоцитов и ретикулярных клеток в 3,03 раза и в 4,11 раз соответственно. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 14,81%. Количество макрофагов достоверно не изменилось по сравнению с контрольными значениями.

В периартериальной муфте увеличилось количество средних лимфоцитов и ретикулярных клеток в 2,33 раза и в 4,95 раз соответственно. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 13,86%. Количество макрофагов достоверно не изменилось.

В зоне тяжелой красной пульпы количество плазмобластов увеличилось (в 2,03 раза). Увеличилось содержание незрелых плазмоцитов (на 7,15%), количество зрелых плазмоцитов уменьшилось (на 8,69%). Увеличилось количество клеток на стадии митоза (в 2,15 раз), ретикулярных клеток (в 3,47 раз). Возросло содержание мегакариоцитов и эритробластов (в 1,7 раз и в 7,64 раза соответственно). Уменьшилось количество макрофагов (в 2,01 раз) и нейтрофилов (в 1,7 раз).

В зоне синусов красной пульпы количество лимфоцитов (средних) увеличилось (на 0,78%). Количество малых лимфоцитов уменьшилось (на 6,48%). Количество незрелых плазмоцитов увеличилось (в 7,73 раза), количество зрелых плазмоцитов уменьшилось (на 1,82%). Уменьшилось количество макрофагов и нейтрофилов (в 2,59 раз и в 1,43 раза соответственно). Возросло содержание ретикулярных клеток (в 1,96 раз), мегакариоцитов (в 1,3 раза), эритробластов (в 5,24 раза).

В этот же период клеточный состав селезенки животных **группы СК** тоже несколько изменился. **В герминативном центре** количество лимфобластов и средних лимфоцитов достоверно не отличалось от контрольной группы. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 7,63%. Увеличилось количество

макрофагов на 1,17% и ретикулярных клеток в 5,24 раза. Количество клеток на стадии митоза уменьшилось в 2,93 раза.

В маргинальной зоне увеличилось количество средних лимфоцитов и ретикулярных клеток в 2,68 раза и в 7,83 раза соответственно. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 19,65%. Количество макрофагов достоверно не изменилось по сравнению с животными контрольной группы.

В периартериальной муфте увеличилось количество средних лимфоцитов в 1,96 раз. Количество малых лимфоцитов уменьшилось на 16,84%. Увеличилось количество макрофагов в 2,16 раз. Количество ретикулярных клеток увеличилось в 5,15 раз.

В тяжях красной пульпы увеличилось количество плазмобластов на 0,73% и незрелых плазмоцитов на 1%. Уменьшилось количество зрелых плазмоцитов на 8,69%. Количество клеток на стадии митоза увеличилось в 2,41 раз. Количество макрофагов достоверно не изменилось по отношению к контрольным показателям. Увеличилось количество ретикулярных клеток в 3,46 раз, эритробластов в 6,29 раз и мегакариоцитов на 0,02%. Уменьшилось количество нейтрофилов в 1,74 раза.

В синусах красной пульпы уменьшилось количество средних и малых лимфоцитов на 2,85% и 9,16% соответственно. Количество незрелых плазмоцитов увеличилось в 3,71 раз. Количество зрелых плазмоцитов достоверно не изменилось. Сократилось количество макрофагов (на 4,08 %) и нейтрофилов (в 1,98 раз). Количество ретикулярных клеток и эритробластов увеличилось (в 4,34 раза и в 2,4 раза соответственно). Количество мегакариоцитов достоверно не отличалось от контрольных значений.

Влияние стволовых клеток на спонтанную и стимулированную митогенами пролиферацию спленоцитов отражено в таблице 19. Изучение влияния мезенхимальных стволовых клеток на пролиферативную активность спленоцитов выявило, что при однократном введении МСК увеличивается спонтанная и ConA стимулированная пролиферативная активность (Спон ИС = 1,32, ConA ИС = 1,66), хоть и не так значительно, как при введении

Таблица 19 – Влияние стволовых клеток на спонтанную и стимулированную митогенами пролиферацию спленоцитов в условиях экспериментального вирусного лейкоза

	Вид пролиферативной активности	АГ		СК		АГ + СК		К
		имп/мин	ИС	имп/мин	ИС	имп/мин	ИС	имп/мин
Гипертрофический период	Спон	1067±135,7*	0,13 ± 0,01	10638±422,3*	1,32 ± 0,01	1970±135,4♥Δ*	0,24 ± 0,01	8072±270,1
	Соп	1934±106,6*	0,06 ± 0,001	50692±1065,2*	1,66 ± 0,03	1145±191,1♥Δ*	0,04 ± 0,01	30603±1312,4
	PWM	1178±201,9*	0,58 ± 0,06	2237±101,7	1,1 ± 0,01	772±70,9♥*	0,38 ± 0,01	2033±113,5
Терминальный период	Спон	914±88,92*	0,6 ± 0,1	1999,8±292,7	1,32 ± 0,2	5155±137,8♥*Δ	3,4 ± 0,8	1515±399,9
	Соп	21223±1001,1*	0,4 ± 0,01	48974±291,4*	0,91 ± 0,01	3411±196,2♥*Δ	0,1 ± 0,04	53618±1018,4
	PWM	13202,5±1714,5	1,15 ± 0,03	10966±1010,4	0,95 ± 0,01	10003,4±1216	0,9 ± 0,03	11493±915,5

Примечание: *Различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой (АГ) ($P \leq 0,05$); ♥различия достоверны в сравнении с опытной группой (СК) ($P \leq 0,05$); ИС – индекс стимуляции

субалина. В отдаленном периоде наблюдения индекс спонтанной стимуляции остался повышенным (1,32), а индекс ConA стимулированной пролиферации снизился до 0,91. Индекс PWM стимулированной пролиферации достоверно не отличался от контрольных значений. Однократное введение мезенхимальных стволовых клеток с антигеном не предотвратило угнетения спонтанной и стимулированной пролиферации клеток селезенки (Спон ИС = 0,24, ConA ИС = 0,04, PWM ИС = 0,38) в гиперпластический период заболевания. А в терминальном периоде вызвало увеличение спонтанной пролиферации до 5155 имп/мин (ИС = 3,4) и ConA до 3411 имп/мин (что в 3 раза больше, чем в гиперпластическом периоде).

3.3.4. Резюме

Введение мезенхимальных моноклеарных стволовых клеток вызывает в отдаленный период исследования достоверно значимый эритроцитоз.

Под действием стволовых клеток, в организме как интактных животных, так и инфицированных отмечается увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов в лейкоформуле, что указывает на активацию фагоцитоза. Наблюдается угнетение лимфоцитарного ростка, характеризующееся лимфоцитопенией в группе СК в терминальный период и на протяжении всего периода наблюдения в группе АГ + СК.

Под воздействием стволовых клеток, в период до 2 месяцев после их введения, мы наблюдали увеличение Т-зависимой паракортикальной зоны в подвздошных лимфатических узлах и уменьшение В-зависимой зоны, а так же активизацию герминативных центров, что выразилось в увеличении количества в них лимфобластов и митотически делящихся клеток. В отдаленный период исследования изменения величин как в площади структурно-функциональных зон лимфатического узла, так и в клеточном составе этих зон были незначительные. Из чего мы заключили, что со временем структура лимфатического узла

животных, которым вводили стволовые клетки, стабилизируется и становится близкой к контрольной группе животных.

При одномоментном введении антигена и стволовых клеток в гиперпластический период развития болезни происходит снижение лимфодетоксикационной функции подвздошного лимфатического узла и некоторое угнетение гуморального звена иммунитета (уменьшение площади коркового вещества, вторичных лимфоидных узелков и герминативных центров, уменьшение количества зрелых плазмобластов практически во всех зонах данного лимфатического узла по сравнению с контрольными животными). В терминальный период заболевания в группе АГ + СК мы наблюдали уменьшение площади коркового вещества, коркового плато и мозговых тяжей. В клеточном составе отмечали увеличение количества средних лимфоцитов во всех зонах лимфатического узла и макрофагов, а также уменьшение количества зрелых плазмоцитов в мозговом веществе. Количество незрелых плазмоцитов при этом увеличилось. Увеличение незрелых плазмоцитов и плазмобластов объясняется, скорее всего, выработкой их под действием АГ. Уменьшение количества малых лимфоцитов, увеличение количества средних лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов может быть связано с возрастными изменениями организма.

Введение стволовых клеток одновременно с вирусом лейкоза Раушера сдерживает развитие эритробластоза. Так масса селезенки в гиперпластический период заболевания в группе АГ + СК не имела достоверных отличий от контрольной группы, а в терминальный период развития заболевания масса селезенки группы АГ + СК в 4,41 раза больше контрольной и в 5 раз меньше, чем у животных, которым вводили один АГ.

Морфологические изменения селезенки в гиперпластический период у животных, которым вводили стволовые клетки, свидетельствуют о стимуляции клеточного и гуморального иммунитета: увеличение Т-зависимых зон (центральная артерия, периартериальная муфта), и герминативного центра (и лимфобластов в нем), а так же увеличение количества зрелых и незрелых клеток плазматического ряда в красной пульпе селезенки. В терминальный период эта

разница стала еще более значимой, увеличилось количество ретикулярных клеток во всех зонах селезенки.

Морфофункциональные изменения селезенки на введение антигена совместно с мононуклеарными стволовыми клетками показали еще большее увеличение герминативного центра и мантия в гиперпластическом периоде, чем в группе СК. т.е. совместное введение антигена со стволовыми клетками активировало развитие иммунного ответа в большей степени, с усиленной выработкой лимфобластов, плазмобластов, эритробластов. В терминальном периоде площадь герминативного центра, центральной артерии, периартериальной муфты оставались больше, чем в контрольной группе и чем в группе Антигена. Оставалось повышенное количество ретикулярных клеток во всех структурно-функциональных зонах селезенки. Количество эритробластов было повышено, но оставалось ниже, чем в группе Антигена. Повышенным оставалось количество лимфобластов и незрелых плазмоцитов.

При введении стволовых клеток увеличился уровень спонтанной и конкавалин А стимулированной пролиферации спленоцитов. При этом PWM пролиферация не имела достоверных отличий от контрольной группы. Спонтанная пролиферация оставалась повышенной и в отдаленном периоде наблюдения. При введении стволовых клеток совместно с антигеном спонтанная и митоген стимулированная пролиферация спленоцитов в начальном периоде снижалась, приближаясь по значениям к группе Антигена. В терминальном периоде спонтанная пролиферация возросла, как по сравнению с контролем, так и по сравнению с группой Антигена. Митоген стимулированная пролиферация снизилась.

Таким образом, введение мезенхимальных стволовых клеток интактным и инфицированным вирусом лейкоза Раушера мышам активирует фагоцитоз, достоверно увеличивая в крови животных количество палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов. Под действием мезенхимальных стволовых клеток в гиперпластическом периоде у интактных животных активизируются герминативные центры селезенки, достоверно увеличивается Т-зависимая зона

лимфоидных органов, достоверно возрастает количество клеток плазматического ряда, усиливается пролиферация спленоцитов. В терминальном периоде эта тенденция прослеживается не всегда. Введение мезенхимальных стволовых клеток инфицированным вирусом лейкоза Раушера мышам способствует поддержанию функциональных возможностей лимфоидных клеток в терминальную стадию заболевания, что проявлялось близким к контрольным значениям количеством первичных лимфоидных узелков в подвздошном лимфатическом узле в сравнении с показателями инфицированных животных терминальной стадии болезни, у которых этот показатель достоверно уменьшился.

3.4. Применение биологически активных препаратов в борьбе с лейкозом крупного рогатого скота

Согласно действующим правилам по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота (Приказ №156 Министерства сельского хозяйства РФ от 24.03.2021г) лечение больных лейкозом животных не предусмотрено. В качестве оздоровительных мероприятий в неблагополучных по лейкозу животноводческих хозяйствах инфицированный вирусом лейкоза крупный рогатый скот изолируют, а больных немедленно сдают на убой. Поскольку заболевание может иметь длительный латентный период, скрытое носительство (иммунологическую толерантность – вирусоносительство без антителообразования или серонегативность при наличии сопутствующих инфекций, например, вирусной диареи), процесс оздоровления может растягиваться на несколько лет. Крайне важным является то, что ранняя диагностика лейкоза и иммунодефицита у молодняка крупного рогатого скота, своевременная выбраковка (или изоляция) инфицированных телят остаются единственным способом профилактики и ликвидации лейкоза в животноводческих хозяйствах (Гулюкин М. И., Забережный А. Д., Юров К. П., 2018; Разумовская В. В., Шуцкая А. А., 2019; Bartlett P. C., Ruggiero V. J., Hutchinson H. C. et al., 2020).

Сочетанное применение различных способов диагностики позволяет ускорить выведение из стада инфицированных животных и, при соблюдении рекомендаций по отдельному выращиванию ПЦР-отрицательных и ПЦР-положительных телят, сформировать свободное от лейкоза стадо. Для оптимизации оздоровительной работы и сокращения сроков достижения сельхозпредприятием благополучия по лейкозу, нами разработано методическое пособие, где предложены схемы применения серологической диагностики (Двоеглазов Н. Г., Агаркова Т. А., Русакова Я. Л. и др., 2021).

Доказано, что BLV вызывает иммунодефицитное состояние у животных (даже бессимптомных носителей вируса) (Разумовская В. В., Магер С. Н., 2014; Смирнов П. Н., Тростянский И. В., Храмцов В. В. и др., 2020; Храмцов В. В., Осипова Н. А., Агаркова Т. А., 2009; Konnai S., Murata S., Ohashi K., 2017). В то же время исследователи (Смирнов П. Н., Тростянский И. В., Храмцов В. В. и др., 2020) установили, что от инфицированных BLV коров можно получать свободных от данного вида инфекции телочек для воспроизводства стада (по данным авторов внутриутробная передача BLV происходит в 3-6% случаев). Возникает вопрос, возможно ли улучшение иммунного статуса BLV инфицированных животных, позволяющее увеличить срок эксплуатации продуктивных животных? Проведенное нами исследование *in vivo* показало положительное влияние субалина и мезенхимальных стволовых клеток на иммунологический статус животных, инфицированных ретровирусным лейкозом. Выявленный факт позволяет предполагать модулирующий характер воздействия субалина и мезенхимальных стволовых клеток на клеточное и гуморальное звено иммунной системы в условиях вирусного лейкоза. Мы предполагаем, что следующим этапом исследования может стать изучение данных биологически активных препаратов в условиях BLV. Насколько нам известно, BLV можно рассматривать, как полезную модель для родственного патогена человека – HTLV-1, другого представителя рода дельтаретровирусов, эволюционно близкого к BLV (Gillet N., Florins A., Voxus M. et al., 2007). Как и другие крупные животные – овцы, кролики – крупный рогатый скот, как модель, обеспечивает преимущества при

разработке подходов к длительной терапии и моделированию состояний, связанных с лимфопролиферативными заболеваниями, вызванными ретровирусами (Saidova A. A., 2019). В настоящее время наряду с генно-инженерным вариантом решения проблемы искоренения лейкоза крупного рогатого скота, разработкой вакцин против ВЛКРС, селекцией на устойчивость к заболеванию изучается иммуномодулирующий потенциал мезенхимальных стволовых клеток и пробиотиков. Было бы интересным продолжить исследования в этом направлении, если использовать крупный рогатый скот в качестве модели *in vivo* для вирусной инфекции HTLV-1 (Т-лимфотропный вирус человека (англ. Human T-lymphotropic virus, HTLV)) у людей. Это могло бы помочь как пониманию возможно общих механизмов канцерогенеза, вызванного дельтаретровирусом, так и развитию новых стратегий борьбы с BLV.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе была воспроизведена модель вирусного лейкоза и выявлены закономерности гематологических, иммунологических и морфологических изменений лимфоидных органов у животных в ответ на введение биологически активных препаратов субалин и мезенхимальных стволовых клеток.

Подтверждена безвредность препарата субалин при внутрибрюшинном введении; морфологические изменения лимфоидных органов свидетельствуют о стимулирующем воздействии препарата на Т- и В-клеточное звено иммунной системы интактных животных, усиливающим спонтанную и митоген стимулированную пролиферацию спленоцитов.

При введении препарата субалин совместно с вирусом лейкоза Раушера установлено, что применение субалина в целом стабилизирует инфицированный организм мышей. Усиливается лимфоцитпродуцирующая функция (по сравнению с группой Антигена и контрольной группой), увеличивается количество клеток плазматического ряда. Подтверждено стимулирующее воздействие субалина на пролиферативную активность спленоцитов в условиях ретровирусной инфекции.

Морфофункциональные изменения лимфатических узлов и селезенки при введении мезенхимальных стволовых клеток демонстрируют стимулирующее воздействие последних на иммунную систему интактных животных, что выражается в активизации герминативных центров лимфоузлов и селезенки, увеличении Т-зависимых зон лимфоидных органов, количества клеток плазматического ряда, усилении пролиферации спленоцитов

Одномоментное введение мезенхимальных стволовых клеток с вирусосодержащим материалом вирусного лейкоза Раушера оказывает неоднозначное действие на организм экспериментальных животных. Не выявлено выраженного иммуностимулирующего действия стволовых клеток в условиях развития вирусного лейкоза. Однако введение стволовых клеток сдерживало развитие заболевания. Так установлено, что площадь коркового вещества, вторичных лимфоидных узелков, зрелых плазмобластов в лимфоузлах

уменьшаются у инфицированных животных, не смотря на введение стволовых клеток; также снижается спонтанная, ConA и PWM пролиферация спленоцитов. В то же время масса селезенки в гиперпластический период не отличалась от контрольных значений, а в терминальный период оставалась в 5 раз меньше, чем в группе Антиген.

Полученные результаты могут служить морфологической основой для дальнейших теоретических и экспериментальных исследований функционального состояния иммунной системы при разработке профилактических и терапевтических препаратов в борьбе с ретровирусными лейкозами животных. Так же материалы, представленные в диссертации, могут быть использованы при чтении лекций, проведении практических занятий и написании методических рекомендаций, относящихся к вопросам строения и функции периферических лимфоидных органов в биологических ВУЗах.

Из вышеизложенных данных можно сделать следующие выводы:

1. У инфицированных вирусом лейкоза Раушера мышей установлена нарастающая эритропения и лейкопения, при этом наблюдали более выраженное достоверное угнетение лимфоцитарного роста в гиперпластическом периоде заболевания и снижение спонтанной и митогенстимулированной пролиферации спленоцитов.

2. Переход RLV в терминальную стадию у животных сопровождается потерей дифференциации клеток селезенки в герминативных центрах и маргинальной зоне, появлением эритробластов в зоне периартериальной муфты и перегруженностью ими красной пульпы.

3. Показатели общего клинического анализа крови у контрольных животных и животных, которым вводили препарат субалин, не имеют достоверных отличий; при этом морфофункциональные изменения лимфоидных органов последних показывают стимуляцию В- и Т-клеточного иммунитета.

4. Установлено, что введение препарата Субалин инфицированным вирусом лейкоза Раушера мышам не оказывало значительного влияния на их летальность, но в то же время стимулировало гемопоэз, что характеризовалось достоверным

увеличением количества юных клеток в крови, а также активировало В-звено иммунной системы в терминальной стадии развития заболевания.

5. Введение мезенхимальных стволовых клеток интактным и инфицированным вирусом лейкоза Раушера мышам активирует фагоцитоз, достоверно увеличивая в крови животных количество палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов.

6. Под действием мезенхимальных стволовых клеток в гиперпластическом периоде у интактных животных активизируются герминативные центры селезенки, достоверно увеличивается Т-зависимая зона лимфоидных органов, достоверно возрастает количество клеток плазматического ряда, усиливается пролиферация спленоцитов. В терминальном периоде эта тенденция прослеживается не всегда.

7. Введение мезенхимальных стволовых клеток инфицированным вирусом лейкоза Раушера мышам способствует поддержанию функциональных возможностей лимфоидных клеток в терминальную стадию заболевания, что проявлялось близким к контрольным значениям количеством первичных лимфоидных узелков в подвздошном лимфатическом узле в сравнении с показателями инфицированных животных терминальной стадии болезни, у которых этот показатель достоверно уменьшился.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – антиген

ВИЧ-1 – вирус иммунодефицита человека 1-го типа

ВИЧ-2 – вирус иммунодефицита человека 2-го типа

ВЛКРС – вирус лейкоза крупного рогатого скота

Др. – другие

ЕК – естественные киллеры

К – контроль

КМИ – корково-мозговой индекс

МСК – мезенхимальные стволовые клетки

Пр. – прочее

СК – стволовые клетки

Суб – субалин

ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

Ч – час

B. Subtilis – *Bacillus subtilis*

BLV - Bovine leukemia virus (вирус лейкоза крупного рогатого скота)

BFU-E – erythroid burst-forming unit (ранняя клетка-предшественник эритроцитов)

CFU-C – colony-forming unit-culture(колониеобразующая единица культуры)

CFU-E – colony-forming unit (колониеобразующая единица эритроцитов)

CFU-MK – colony-forming unit megacaryocyte (колониобразующая единица, коммитированная клетка-предшественник мегакариоцитов)

ConA – конканавалин А

FeLV – Feline Leukemia virus (вирус лейкоза кошек)

GvHD – Graft-versus-host disease (болезнь «трансплантант против хозяина»)

HIV-1 – Human immunodeficiency virus types 1 (ВИЧ-1)

HIV-2 – Human immunodeficiency virus types 2 (ВИЧ-2)

HTLV-1 – Human T-lymphotropic virus (Т-лимфотропный вирус человека)

MuLV – Murine leukemia virus (вирус лейкоза мышей)

PWM- Pokeweed mitogen- лектин из *Phytolacca Americana*

RLV- Rauscher Leukemia Virus -вирус лейкоза Раушера

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антипов, Н. В. Морфологические особенности лимфатических узлов / Н. В. Антипов // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10. – № 2. – С. 3-5.
2. Анцырева, Ю. А. Региональные лимфатические узлы при постишемической реперфузии конечностей и в условиях коррекции гелий-неоновым лазером / Ю. А. Анцырева, В. В. Асташов, О. В. Казаков, А. П. Майоров // Лазерная медицина. – 2007. – Том 11. – №4. – С. 27-30.
3. Афанасьев, Б. Ф. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей: настоящее, проблемы, перспективы / Б. Ф. Афанасьев, Л. С. Зубаровская, И. С. Моисеев // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2015. – №2. – С.28-42.
4. Афанасьева, Ю. И. Гистология / Ю. И. Афанасьева, Н. А. Юрина, Б. В. Алешин и др. – М.: Медицина, 1989. – 737 с.
5. Бельтюкова, З. Н. Коррекция иммунного статуса пушных зверей с помощью биологически активных препаратов / З. Н. Бельтюкова, И. И. Окулова, Ю. А. Березина, М. А. Кошурникова // Вестник КрасГАУ. – 2018. – №5. – С. 92-96.
6. Белявская, В. А. Адьювантные свойства рекомбинантного пробиотика, продуцирующего интерферон / В. А. Белявская, Г. Г. Игнатьев, Н. В. Чердынцева, Н. В. Литвяков // ЖМЭИ. – 2001. – №6. – С. 77-82.
7. Белявская, В. А. Биологические эффекты интерферона, продуцируемого рекомбинантными бактериями препарата пробиотика Субалин / В. А. Белявская, Н. В. Чердынцева, В. М. Бондаренко, Н. В. Литвяков // Журн. Микробиол. – 2003. – №6. – С. 102-109.
8. Белявская, В. А. Экспериментальная оценка биобезопасности генно-инженерных бактерий на модели штамма *Bacillus subtilis*, продуцирующего интерферон / В. А. Белявская, Т. А. Кашперова, В. М. Бондаренко, А. А.

- Ильичев, И. Б. Сорокулова, Н. И. Малик // Журн. микробиологии, эпидемиологии, и иммунобиологии. – 2001. – №2. – С. 16-20.
9. Бородин, Ю. И. Общая анатомия лимфатической системы / Ю. И. Бородин, М. Р. Сапин, Л. Е. Этинген и др. – Новосибирск : Наука СО, 1990. – 243 с.
10. Бородин, Ю. И. Проблемы лимфодетоксикации и лимфосанации / Ю. И. Бородин // Проблемы экспериментальной, клинической и профилактической лимфологии : Материалы международного симпозиума. – Новосибирск, 2000. – С.5-9.
11. Бородин, Ю. И. Функциональная анатомия лимфатического узла / Ю. И. Бородин, М. Р. Сапин, Л. Е. Этинген и др. – Новосибирск : Наука СО, 1992. – 257 с.
12. Волкова, С. В. Основы гистологии и гистологической техники / С. В. Волкова, Б. К. Елецкий. – М. : Медицина, 1971. – 272 с.
13. Генджиева, О. Б. Филогенетическое сравнение вируса лейкоза крупного рогатого скота / О. Б. Генджиева // Вестник Калмыцкого Университета. – 2012. – №2(14). – С. 10-16.
14. Горчакова, О. В. Структурно-функциональный ответ лимфоузла на озonoаппликацию в разные возрастные периоды / О. В. Горчакова, В. Н. Горчакова // Бюлл.СО РАМН. – 2013. – Т.44. – №6. – С. 117-123.
15. Грачев, А. Ю. Экспериментальная оценка влияния аэрогенного хронического поступления *V. subtilis* на некоторые показатели иммунитета / А. Ю. Грачев, С. А. Адов, А. Н. Васильев // Мат. юбил. науч. конф., посв. 50-летию Центра ВТП БЗ НИИ микробиологии МО РФ. – Екатеринбург, 1999, – С. 50–51.
16. Гулюкин, М. И., Забережный, А. Д., Юров, К. П. Научно-обоснованная модель противозпизоотических мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота [Электронный ресурс] / М. И. Гулюкин, А. Д. Забережный, К. П. Юров // Ветеринария и кормление. – 2018. – №1. – С. 4-7. – Режим доступа: <http://vetkorm.ru/wp-content/uploads/2020/09/1-2018-1.pdf>

17. Гурцевич, В. Э. Изучение специфических антигенов в различных органах мышей в процессе вирусного лейкемогенеза : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.36 / Гурцевич Владимир Эдуардович. – М., 1970.– 16 с.
18. Жданов, П. И. Показатели естественной резистентности свиней при длительном применении споробактерина / П. И. Жданов // Актуал. Пробл. Вет. – Барнаул, 1995. – С.137–138.
19. Жданов, П. И. Применение споробактерина для повышения сохранности и продуктивности свиней / П. И. Жданов // Ветеринария. – 1994. – №11. – С. 36–40.
20. Западнюк, И. П. Лабораторные животные / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. – Киев: Вища школа, 1983. – 380 с.
21. Калинина, Н. И. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей / Н. И. Калинина, В. Ю. Сысоева, К. А. Рубина, Е. В. Парфенова, В. А. Ткачук // Acta Naturae. – 2011. – Том 3. – №4(11). – С. 32-39.
22. Калуйна, В. А. Морфологические изменения периферической крови и костного мозга у кур, больных эритроидной формой спонтанного лейкоза в динамике / В.А. Калуйна // Тр. /АН ЛССР. – 1967. – Т3(44). – С.116-122.
23. Каркищенко, В. Н. Исследователи предпочитают мышей BALB/c / В. Н. Каркищенко, Е. Ф. Шмидт, Е. В. Брайцева // Биомедицина. – 2007. – №6. – С.57-70.
24. Косых, В. П. Патогенез эритробластоза кур (экспериментальные данные по патогенезу, диагностике и химиотерапии) : дис. ...д-ра вет наук: 16.00.02 / Косых Владимир Петрович. – Омск, 1983. – 360 с.
25. Кравченко, И. Н. Гематологические показатели свободных от патогенной флоры крыс CD (SPRAGUE-DAWLEY) и мышей CD-1 в норме / И. Н.

- Кравченко, О. Н. Хохлова, Н. Н. Кравченко, А. Н. Пужалин и др. // Биомедицина. – 2008. – №2. – С. 20-30.
26. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник; под ред. В. В. Меншикова. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.
27. Литвяков, Н. В. Механизмы иммуотропного и антибластомного действия интерферона, вводимого перорально с помощью бактериального вектора : дисс. ... на соиск. канд. биол. наук: 03.00.13 / Литвяков Николай Васильевич. – Томск, 2002. – 155с.
28. Литвяков, Н. В. Механизмы химиомодулирующего и антиканцерогенного действия интерферона, вводимого перорально с помощью бактериального вектора / Н. В. Литвяков, Н. В. Чердынцева, В. А. Белявская // Сибирский онкологический журнал. – 2003.– №2. – С. 80-82.
29. Литвяков, Н. В. Роль макрофагов в реализации антибластомного действия рекомбинантного пробиотика субалина / Н. В. Литвяков, Н. В. Чердынцева, В. А. Белявская, Е. А. Малиновская, И. С. Ильиных, Е. С. Смольянинов // Вопросы онкологии. – 2001. – Т.47. – №1. – С. 86-89.
30. Малофеев, Ю. М. Морфология системы кроволимфообращения у животных : учеб.-метод. Пособие / Ю. М. Малофеев, С. Н. Чебаков // Алт.гос.аграр.ун-т, Ин-т ветеринар. медицины. – Барнаул : изд-во АГАУ, 2000. – 136с.
31. Мирошников, С. А. Сравнительная морфофункциональная характеристика органов иммунной системы птицы при скармливании ферментного препарата и пробиотика на основе культуры *V. Subtilis* / С. А. Мирошников, О. Ю. Сипайлова // Вестник ОГУ. – 2006. – №5. – С. 232-234.
32. Науменко, О. И. Ультраструктурная и функциональная характеристика клеток субэндостальной области костного мозга при вирусном лейкозогенезе / О. И. Науменко, Н. И. Николаенко, З. А. Бутенко // Стволовая клетка в норме и при патологии. Всесоюзная конференция с

- международным участием под ред. Гольдберг Е.Д., Козлов В.А. –Томск, 1988. – С. 8-9.
33. Околелов, В. И. Картина крови при лейкозе и других болезнях животных / В. И. Околелов, Н. Р. Зорина, В. Ф. Капочкин // Ветеринарный консультант. – 2005. – №6. – С. 18-21.
34. Патент РФ № 1839459. Штамм бактерий *B. subtilis*, обладающий антивирусной и антибактериальной активностью / Смирнов В. В., Белявская В. А., Ильичев А. А., Петренко В. А., Тимофеев И. В., Нестеров А. Е., Резник С. Г., Сорокулова И. Б.; заявитель и патентообладатель ФБУН ГНЦ ВБ Вектор. – 4836055; заявлено 07.06.1990; опубл. 23.07.1994.
35. Петренко, В. М. Нодальные сегменты лимфатической системы / В. М. Петренко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – №12. – С. 1649-1654.
36. Позднякова, О. О. Сравнительная токсичность режимов кондиционирования при ТКМ у детей с острыми лейкозами / О. О. Позднякова, К. Петере, Е. В. Скоробогатова // Педиатрия. – 1997.– №4. – С. 17-20.
37. Поройская, А. В. Морфофункциональная характеристика селезенки и лимфатических узлов при экспериментальном воспроизведении лихорадки Западного Нила : автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.15 / Поройская Анна Владимировна. – Волгоград, 2004. – 102 с.
38. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации №267 от 19.06.2003 «Правила лабораторной практики Российской Федерации», принят Минздрав РФ 19.06.2003 // Российская газета. – 2003. – № 133(09 июля).– С. 12-14.
39. Приказ Минсельхозпрода РФ от 11.05.1999 N 359 «Об утверждении правил по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота», зарегистрировано в Минюсте РФ 04.06.1999 N 1799 [Электронный ресурс]. – Доступ из системы ГАРАНТ// ЭПС «Система ГАРАНТ» : Мобильный

ГАРАНТ онлайн. Интернет-версия. URL : <http://internet.garant.ru> (дата обращения 07.05.2021).

40. Разумовская, В. В. Динамика показателей иммунного ответа у овец, экспериментально инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота / В. В. Разумовская, С. Н. Магер // Инновации и продовольственная безопасность. – 2014. – №1(3). – С.3-11.
41. Разумовская, В. В. Инфекция лейкоза крупного рогатого скота у молодняка в регионах Сибири / В. В. Разумовская, А. А. Шуцкая // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2019. – №6(176). – С. 98-103.
42. Раковщик, А. Л. Морфофункциональная гетерогенность фагоцитирующих клеток маргинальной зоны и красной пульпы селезенки мышей / А. Л. Раковщик, С. Л. Гриф, Н. И. Чурилова // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической морфологии. – 2002. – Выпуск 2. – С. 248.
43. Розина, Э. Н. Иммунологическая идентификация стволовых клеток самоподдерживающихся штаммов эритролейкоза Раушера / Э. Н. Розина, Е. Б. Мечетнер, Е. С. Иевлева // Иммунология и иммунотерапия лейкозов человека и животных : тезисы докладов всесоюзной конференции под ред. О. К. Гаврилова, В. П. Шишкова. – Ташкент, 1984. – С.70-71.
44. Ромейс, Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс. – М. : Иностранная литература, 1954. – 718 с.
45. Руководство по гематологии / ред. А. И. Воробьев. – М. : Ньюдиамед, 2002. – 1т. – 280 с.
46. Румянцев, А. Г. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей / А. Г. Румянцев, А. А. Масчан. – М. : Медицинское информационное агенство, 2003. – 912 с.
47. Русакова, Я. Л. Влияние стволовых клеток на иммунный ответ у мышей BALB/c, зараженных вирусом лейкоза Раушера и переносимость

- препаратов Субалин и Сильверол / Я. Л. Русакова, С. Н. Магер, В. В. Храмцов // Вестник НГАУ. – 2012. – №2(23). – С.75-79.
48. Русакова, Я. Л. Воздействие препарата «Субалин» на гематологические показатели мышей BALB/c, инфицированных вирусом лейкоза Раушера / Я. Л. Русакова, С. Н. Магер, В. В. Храмцов // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В. Р.Филиппова. – 2015. – №3(40). – С.57-62.
49. Сапин, М. Р. Лимфатический узел / М. Р. Сапин, Н. А. Юрина, Л. Е. Этинген. – Москва : Медицина, 1978. – 272 с.
50. Скоробогатова, Е. В. Итоги двадцатилетнего опыта трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей / Е. В. Скоробогатова, Д. Н. Балашов, П. Е. Трахтман, А. А. Масчан и др. // Педиатрия. – 2011. – Т. 90. – №4. – С. 12-16.
51. Смирнов, В. В. Пробиотики на основе живых культур микроорганизмов / В. В. Смирнов, Н. К. Коваленко // Микробиология. – 2002. – № 1. – С. 53-58.
52. Смирнов, В. В. Современные представления о механизмах лечебно-профилактического действия пробиотиков из бактерий рода *Bacillus* / В. В. Смирнов, С. Р. Резник, В. А. Вьюницкая и др. // Микробиол. журн. – 1993. – № 4. – С.92—112.
53. Смирнов, П. Н. Мифы о лейкозе крупного рогатого скота / П. Н. Смирнов, И. В. Тростянский, В. В. Храмцов, В. В. Разумовская и др. // Достижения ветеринарной науки и практики. – 2020. – №1(27). – С. 73-78. DOI:10-31677/2311-0651-2020-27-1-73-78
54. Спасская, Т. А. Экологическая биотехнологическая альтернатива: Пробиотики вместо антибиотиков / Т. А. Спасская // Экология и охрана окружающей среды : тез. докл. 4-й Междунар. (7-й Всерос.) научн.-практ. конф., Рязань, 28-30 сент. 1998 г. – Рязань, 1998. – С. 201-202.
55. Степенова, О. И. Метод взятия крови из малой подкожной вены голени у мышей / О. И. Степенова // Биомедицина. – 2006. – №2. – С. 137-139.

56. Стефанов, С. Б. Визуальная классификация при количественном сравнении изображений / С. Б. Стефанов // *Арх. анат., гистол. и эмбриол.* – 1985. – т.88. – вып. 2. – С.78 -83.
57. Феоктистова, Н. В. Пробиотики на основе бактерий рода *Bacillus* в птицеводстве / Н. В. Феоктистова, А. М. Марданова, Г. Ф. Хадиева, М. Р. Шарипова // *Ученые записки Казанского Университета. Серия: Естественные науки.* – 2017. – Том 159. – №1. – С.85-107.
58. Храмцов, В.В., Осипова, Н. А., Агаркова, Т. А., Двоеглазов, Н. Г. Изучение влияния биологически активных препаратов на иммунобиохимическую реактивность крупного рогатого скота/ В. В. Храмцов, Н.А. Осипова, Т. А. Агаркова, Н. Г. Двоеглазов // *Достижения науки и техники АПК.* – 2009. – №12. – С. 44-47.
59. Хрусталева, С. А. Изучение роли естественных клеток-киллеров в развитии спонтанной регрессии лейкоза Раушера у мышей / С. А. Хрусталева, Н. Н. Клепиков, Л. Я. Шевякова // *Иммунология и иммунотерапия лейкозов человека и животных : тезисы докладов всесоюзной конференции под ред. О. К. Гаврилова, В. П. Шишкова.* – Ташкент, 1984. – С.78-79.
60. Хэм, А. Гистология / А. Хэм, Д. Кормак. – М. : Мир, 1983. – Т. 2. – 256 с.
61. Чердынцева, Н. В. Влияние рекомбинантного пробиотика субалина на функциональную активность иммунокомпетентных клеток [Электронный ресурс] / Н. В. Чердынцева, Н. В. Литвяков, Е. С. Смольянинов, В. А. Белявская // *БЭБиМ.* – 1999. – Т. 127. – Приложение 1. – С. 67-70. – Режим доступа: <http://elibrary.ru/item.asp?id=23254205>. (дата обращения 07.05.2015).
62. Чудновская, Н. В. Антивирусная активность пробиотиков из бацилл / Н. В. Чудновская, С. Л. Рыбалко, И. Б. Сорокулова и др. // *Доп.НАН України.* – 1995. – №2. – С. 124-126.
63. Aggarwal, S. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses / S. Aggarwal, M. F. Pittenger // *Blood.* – 2005. – V. 105. – P. 1815-1822.

64. Aijima, H. Cortical structure of bovine lymph nodes / H. Aijima, K. Horie, H. Nagata, H. Hoshi // *Acta Anat Nippon*. – 1986. – V. 61. – P.173-185.
65. Allen, L. B. In vitro and in vivo enhancement of ddI activity against Rauscher murine leukemia virus by ribavirin / L. B. Allen., D. C. Quenelle, L. Westbrook, B. A. Taylor, M. N. Prichard et al. // *Antiviral Research*. – 1995. – V. 27(3). – P. 317-323.
66. Balan, A. Mesenchymal stromal cells in the antimicrobial host response of hematopoietic stem cell recipients with graft-versus-host disease –friends or foes? [Электронный ресурс] / A. Balan, G. Lucchini, S. Schmidt, A. Schneder, L. Tramsen, S. Kuci, R. Meisel, P. Bader, T. Lehrnbecher // *Leukemia*. – 2014. – V. 28. – P. 1941-1948. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/leu2014127> (дата обращения 12.01.2021).
67. Bartlett, P. C. Current developments in the epidemiology and control of enzootic bovine leukosis as caused by bovine leukemia virus [Электронный ресурс]/ P. C. Bartlett, V. J. Ruggiero, H. C. Hutchinson et al. // *Pathogens*. – 2020. – V. 9(12):1058. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/pathogens9121058> (дата обращения 07.04.2021).
68. Beckermann, B. M. VEGF expression by mesenchymal stem cells contributes to angiogenesis in pancreatic carcinoma [Электронный ресурс] / B. M. Beckermann, G. Kallifatidis, A. Groth, D. Frommhold, A. Apel, J. Mattern, A. V. Salnikov et al. // *Br J Cancer*. – 2008. – V. 99(4). – P. 622-31. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/6604508> (дата обращения 18.06.2015).
69. Begley, D. A., / Finding mouse models of human lymphomas and leukemia's using the Jackson Laboratory mouse tumor biology database [Электронный ресурс] / D. A. Begley, J. P. Sundberg, D. M. Krupke, S. B. Neuhauser et al // *Exp Mol Pathol*. – 2015. – V. 99(3). – P. 533-536. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.07.004> (дата обращения 20.06.2019).

70. Be'lisle, C. Topography of the deep cortex of the lymph nodes of various mammalian species / C. Be'lisle, G. Sainte-Marie // *Anat Rec.* – 1981. – V. 201. – P. 553-561.
71. Be'lisle, C. Tridimensional study of the deep cortex of the rat lymph node. III. Morphology of the deep cortex units / C. Be'lisle, G. Sainte-Marie // *Anat Rec.* – 1981. – V. 199. – P. 213–226.
72. Bernardo, M. E. Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation / M. E. Bernardo, W. E. Fibbe // *Cell Stem Cell.* – 2013. – V. 13. – P. 392-402.
73. Black, P. L. Antiviral activity of biological response modifiers in a murine model of AIDS. Requirement for augmentation of natural killer cell activity and synergy with oral AZT / P. L. Black, K. M. McKinnon, S. L. Wooden, M. A. Ussery // *Int J Immunopharmacol.* – 1996. – V. 18(11). – P. 633-50.
74. Butenko, Z. A. Submicroscopic features of cells in the microenvironment of hematopoietic development of virus-induced Rauscher leukemia / Z. A. Butenko, O. I. Naumenko // *Gematol Transfuziol.* – 1993. – V. 38(6). – P. 29-33.
75. Carlo-Stella, C. Mesenchymal stem cells: biology and clinical applications / C. Carlo-Stella, M. Di Nicola, M. A. Gianni // *Tumori.* – 2002. – V. 88. – P. A4-A7.
76. Carmona-Mora, P. Mouse models of genomic syndromes as tools for understanding the basis of complex traits: an example with the Smith-Magenis and the Potocki-Lupski syndromes [Электронный ресурс] / P. Carmona-Mora, J. Molina, C. A. Encina, K. Walz // *Curr Genomics.* – 2009. – V. 10(4). – P. 259-268. – Режим доступа: <https://doi.org/10.2174/138920209788488508> (дата обращения 14.07.2015).
77. Cesta, M. F. Normal structure, function, and histology of the spleen [Электронный ресурс] // *Toxicol Pathol.* – 2006. – V. 34(5). – P. 455-65. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1080%2F01926230600867743> (дата обращения 14.07.2015).

78. Chaible, L. M. Genetically modified animals for use in research and biotechnology / L. M. Chaible, M. A. Corat, E. Abdelhay, M. L. Dagli // *GenetMolRes.* – 2010. – V. 9(3). – P. 1469-82.
79. Chau, F. Prognostic value of phenotypic alterations in blood lymphocyte subsets in a murine retrovirus-induced immunodeficiency syndrome (MAIDS) [Электронный ресурс] / F. Chau, M. Levacher-Clergeot, B. Desforges, L. Ricatte, M. Sinet // *Clin Exp Immunol.* – 1993. – V. 91(3). – P. 467-72. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1993.tb05926.x> (дата обращения 14.07.2015).
80. Chow, F. P. Effects of in vivo administration of stem cell factor on thrombopoiesis in normal and immunodeficient mice / F. P. Chow, K. Zsebo, A. W. Hamburger // *Exp Hematol.* – 1993. – V. 21(9). – P. 1255-62.
81. Congdon, C. C. Splenic white pulp alteration after antigen injection: relation to time of serum antibody production / C. C. Congdon, T. Makinodan // *Am.J.Pathol.* – 1961. – V. 39. – P. 697-709.
82. Cottier, H. De Novo formation and rapid growth of germinal centers during secondary antibody response to tetanus toxoid in mice / H. Cottier, G. Keiser, N. Odartchenko, M. Hess, R. D. Stoner; In: H. Cottier, N. Odartchenko, R. Schindler, C. C. Congdon (eds.) // *Germinal centres in immune responses*, New York : Springer-Verlag. – 1967 – P. 270-277.
83. Cousin, B. Adult stromal cells derived from human adipose tissue provoke pancreatic cancer cell death both in vitro and in vivo [Электронный ресурс] / B. Cousin, E. Ravet, S. Poqlio, F. De Toni et all. // *PloS One.* – 2009. – V. 4(7). – P. e6278. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006278> (дата обращения 11.07.2015).
84. Cowles, J. On the presence of hemoglobin in erythroleukemia cells / J. Cowles, J. Saikkonen, B. Thorell // *Blood.* – 1958. – V. 13. – P. 1176-84.
85. Cueni, L. N. The lymphatic in health and disease [Электронный ресурс] / L. N. Cueni, M. Demtmar // *Lymphat res Biol.* – 2008. – V. 6(3-4). – P. 109-122. –

Режим доступа: <https://doi.org/10.1089/lrb.2008.1008> (дата обращения 11.07.2015).

86. Dales, S. Viropexis of Herpes simplex Virus by HeLa cells / S. Dales, H. Silverberg // *Virology*. – 1969. – V. 37. – P. 475-480.
87. Djouad, F. Earlier onset of syngeneic tumors in the presence of mesenchymal stem cells [Электронный ресурс] / F. Djouad, C. Bony, F. Apparailly, P. Louis-Pence et al. // *Transplantation*. – 2006. – V. 82(8). – P. 1060-6. DOI: 10.1097/01.tp.0000236098.13804.0b
88. Djouad, F. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals / F. Djouad, P. Ponce, C. Bony, P. Tropel et al. // *Blood*. – 2003. – V. 102(10). – P. 3837-44.
89. Dreger, P. Autologous and allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia / P. Dreger, E. Montserrat // *Leukemia*. – 2002. – V. 16. – P. 985-92.
90. Dunn, T. B. Morphologic changes preceding virus-induced leukemia in rodents / T. B. Dunn // *Acta Uno Intern. Contra Cancrum*. – 1963. – V. 19. – P. 665-67.
91. Eid, P. Oromucosal interferon therapy: pharmacokinetics and pharmacodynamics / P. Eid, J. F. Meritet, C. Maury, A. Lasfar, D. Weill, M. G. Tovey // *J Interferon Cytokine Res*. – 1999. – V. 19(2). – P. 157-69.
92. Fink, M. A. Fluorescent antibody studies of the viral antigen in a murine leukemia (Rauscher) / M. A. Fink, R. A. Malmgren // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1963. – V. 31. – P. 1111-22.
93. Friedman, H. Cellular Basis for the Immunosuppressive Properties of a Leukaemogenic Virus / H. Friedman, W. S. Ceglowsky // *Nature*. – 1968. – V. 218. – P. 1232-1234.
94. Frost, S. D. Germinal centre destruction as a major pathway of HIV pathogenesis / S. D. Frost, A. R. McLean // *J Acquir Immune Defic Syndr.* – 1994. – V. 7(3). – P. 236-44.
95. Gabrilovich, D. I. Effects of murine leukemia viruses on the function of dendritic cells / D. I. Gabriolovich, M. S. Roberts, J. J. Harvey, M. Botcherby,

- P. A. Bedford, S. C. Knight // *European J of Immunology*. – 1993. – V. 23(11). – P. 2735-3055.
96. Gabrilovich, D. I. Murine retrovirus induces defects in the function of dendritic cells at early stages of infection / D. I. Gabriolovich, S. Patterson, J. J. Harvey, G. M. Woods, W. Elsley, S. C. Knight // *Cell. Immunol.* – 1994. – V. 158(1). – P. 167–181.
97. Gillet, N. Mechanisms of leucemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human / N. Gillet, A. Florins, M. Boxus et al. // *Retrovirology*. – 2007. – V. 4(1). – P. 1-32. DOI : 10.1186/1742-4690-4-18.
98. Glasgow, L. A. Interferon and host resistance to Rauscher virus-induced leukemia [Электронный ресурс] / L. A. Glasgow, S. B. Friedman // *J.Virol.* – 1969. – V. 3(2). – P. 99-105. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5774143> (дата обращения 15.05.2014).
99. Gretz, J. E. Cords, channels, corridors and conduits: critical architect ural elements facilitating cell interactions in the lymph node cortex [Электронный ресурс] / J. E. Gretz, A. O. Anderson, S. Shaw // *Immunol Rev.* – 1997. – V. 156. – P. 11-24. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1997.tb00955.x> (дата обращения 15.05.2014).
100. Hanna, M. G., Jr. A comparative study of the immune reaction in germfree and conventional mice / M. G., Jr. Hanna, P. Nettesheim, H. E. Jr. Walburg; In: E. A. Mirand and N.Back (eds.) // *Advances in Experimental Medicine and Biology*, New York : Plenum Press. – 1969. – pp. 237-249.
101. Hanna, M. G., Jr. An autoradiographic stady of the germinal center in spleen white pulp during early intervals of the immune response / M. G. Jr. Hanna // *Lab.Invest.* – 1964. – V. 13. – P. 95-104.
102. Hanna, M. G., Jr. Germinal center changes and plasma cell reaction during the primary immune response / M. G., Jr. Hanna // *Intern. Arch. Allergy Appl. Immunol.* – 1965. – V. 26. – P. 230-251.

103. Hanna, M. G., Jr. Histoproliferative effect of Rauscher Leukemia Virus on lymphatic tissue: histological and ultrastructural studies of germinal centers and their relation to leukemogenesis / M. G. Hanna, A. K. Szakal, R. L. Tyndall // *Cancer research*. – 1970. – V. 30. – P. 1748-1763.
104. Hanna, M. G. Jr. Localization of ^{125}I -labeled antigen in germinal centers of mouse spleen: effects of competitive injection of specific or non-cross-reacting antigen / M.G.Jr. Hanna, M.W. Francis, L.C. Peters// *Immunology*. – 1968. – V. 15. 75-91.
105. Happel, A. U. Weighing in on the risks and benefits of probiotic use in HIV-infected and immunocompromised populations [Электронный ресурс] / A. U. Happel, S. L. Barnabas, R. Froissart, J. S. Passmore // *Benef Microbes*. – 2018. – V. 9(2). – P. 239-246. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3920/BM2017.0106> (дата обращения 12.01.2021).
106. Harrell, M. I. Lymph node mapping in the mouse [Электронный ресурс] / M. I. Harrell, B. M. Iritani, A. Ruddell // *J Immunol Methods*. – 2008. – V. 332(1-2). – P. 170-174. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.jim.2007.11.012> (дата обращения 02.06.2015).
107. Herrmann, R. P. Adult human mesenchymal stromal cells and the treatment of graft versus host disease / R. P. Hermann, M. J. Sturm // *Stem Cells Cloning*. – 2014. – V. 28(7). – P. 45-52.
108. Hoshi, H. Patterns of age-dependent changes in the numbers of lymph follicles and germinal centres in somatic and mesenteric lymph nodes in growing C57Bl/6 mice [Электронный ресурс] / H. Hoshi, K. Horie, H. Nagata, S. Aizawa et al. // *J Anat*. – 2001. – V. 198(Rt2). – P. 189-205. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2001.19820189.x> (дата обращения 22.09.2014).
109. Iwai, H. Bone marrow transplantation therapy using resistant donors for retrovirus-induced leukaemia in mice / H. Iwai, N. K. Day, N. Hamada, M. M. Inaba, S. Ikehara // *Clin Exp Immunol*. – 1994. – V. 95(1). – P. 135-40.

110. Jacobs, A. Myelodysplastic syndromes: pathogenesis, functional abnormalities, and clinical implications [Электронный ресурс] / A. Jacobs // *J Clin Pathol.* – 1985. – V. 38(11). – P. 1201-17. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.38.11.1201> (дата обращения 12.01.2021).
111. Jerusalem, C. Thymic germinal centers as foci of a lymphoma resembling Burkitt's tumor / C. Jerusalem; In: L. Fiore-Donati and M. G. Hanna, Jr.(eds.) // *Lymphatic tissue and germinal centers in immune response*, New York : Plenum Press. – 1969, – P. 497-506.
112. Karnoub, A. E. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis [Электронный ресурс] / A. E. Karnoub, A. B. Dash, A. P. Vo, A. Sullivan, M. W. Brooks et al. // *Nature.* – 2007. – V. 449(7162). – P. 557-63. – Режим доступа: <https://europepmc.org/article/med/17914389> (дата обращения 12.07.2015).
113. Kazemi, A. Effect of Probiotic Supplementation on CD4 Cell Count in HIV-Infected Patients: A Systematic Review and Meta-analysis [Электронный ресурс] / A. Kazemi, K. Djafarian, J. R. Speakman, P. Sabour, S. Soltani, et al. // *J Diet Suppl.* – 2018. – V. 15(5). – P. 776-788. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1080/19390211.2017.1380103> (дата обращения 12.01.2021).
114. Khakoo, A. Y. Yuman mesenchymal stem cells exert potent antitumorigenic effects in a model of Kaposi's sarcoma [Электронный ресурс] / A. Y. Khakoo, S. Pati, S. A. Anderson, W. Reid et al. // *J Exp Med.* – 2006. – V. 203(5). – P. 1235-47. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1084/jem.20051921> (дата обращения 02.07.2014).
115. Konnai, S., Murata, S., Ohashi, K. Immune exhaustion during chronic infections in cattle / S. Konnai, S. Murata, K. Ohashi // *Journal of veterinary medical science.* – 2017. – V. 79(I). – P. 1-5. DOI: 10.1292/jvms.16-0354.
116. Koppenheffer, T. L. C-type virus-lymphocyte interactions in developing mouse thymus / T. L. Koppenheffer, J. H. Jr. Phillips, G. L. Vankin // *Am J Anat.* – 1978. – V. 153(1). – P. 165-70.

117. Kucerova, L. Tumor cell behavior modulation by mesenchymal stromal cells [Электронный ресурс] / L. Kucerova, M. Matuskova, K. Hlubinova, V. Altanerova, C. Altaner // *Mol Cancer*. – 2010. – V. 9. – P. 129. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-129> (дата обращения 12.07.2015).
118. Kyriakou, C. A. Human mesenchymal stem cells (hMSCs) expressing truncated soluble vascular endothelial growth factor receptor (tsFlk-1) following lentiviral-mediated gene transfer inhibit growth of Burkitt's lymphoma in a murine model [Электронный ресурс] / C. A. Kyriakou, K. L. Yong, R. Benjamin, A. Pizzey et al. // *J Gene Med*. – 2006. – V. 8(3). – P. 253-64. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/jgm.840> (дата обращения 02.07.2014).
119. Le Blanc, K. Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells [Электронный ресурс] / K. Le Blanc, H. Samuelsson, B. Gustafsson, M. Remberger, B. Sundberg, J. Arvidson, P. Ljungman, H. Lönnies, S. Nava, O. Ringdén // *Leukemia*. – 2007. – V. 21(8). – P. 1733-8. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/2404777> (дата обращения 12.07.2015).
120. Lobue, J. Viral-associated alterations in hematopoiesis in the mouse / J. Lobue // *Blood Cells*. – 1984. – V. 10(2-3). – P. 211-222.
121. Matsuno, K. Splenic outer periarterial lymphoid sheath (PALS): an immunoproliferative microenvironment constituted by antigen-laden marginal metallophilic and ED 2-positive macrophages in the rat / K. Matsuno, T. Ezaki, M. Kotani // *Cell Tissue Res*. – 1989. – V. 257(3). – P. 459-70. DOI: 10.1007/BF00221456.
122. Medaglini, D. Mucosal and systemic immune responses to a recombinant protein expressed on the surface of the oral commensal bacterium *Streptococcus gordonii* after oral colonization [Электронный ресурс] / D. Medaglini, G. Pozzi, T. P. King, V. A. Fischetti // *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*. – 1995. – V. 92(15). – P. 6868-6872 – Режим доступа: <https://doi.org/10.1073/pnas.92.15.6868> (дата обращения 12.07.2015).

123. Meebius, R. E. Structure and function of the spleen [Электронный ресурс]/ R. E. Meebius, G. Kraal // *Nat Rev Immunol.* – 2005. – V. 5(8). – P. 606-16. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/nri1669> (дата обращения 02.07.2014).
124. Meisel, R. Human but not murine multipotent mesenchymal stromal cells exhibit broad-spectrum antimicrobial effector function mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase / R. Meisel, S. Brockers, K. Heseler, O. Deqistirici et al // *Leukemia.* – 2011. – V. 25(4). – P. 648-54. DOI: 10.1038/leu.2010.310
125. Metcalf, D. Pathogenesis of mouse leukemia caused by Friend Virus / D. Metcalf, J. Furth, R. F. Buffett // *Ibid.* – 1959. – V. 19. – P. 52-58.
126. Metcalf, D. The thymus: Its role in immune response, leukemia development and carcinogenesis / D. Metcalf. – New York : Springer-Verlag, 1966. – 146 p.
127. Millian, S. J., Antibody Production by Mice Infected with Selected Murine Oncogenic Agents / S. J. Millian, M. Schaeffer // *Cancer.* – 1968. – V. 21. – P. 989-999.
128. Mirand, E. A. Modification of the Friend Virus Disease by splenectomy / E. A. Mirand, J. G. Hoffman, J. T. Jr. Grace, P. J. Trudel // *Proc.Soc.Exptl. Biol. Med.* – 1961. – V. 107. – P. 824-28.
129. Morgan, C. Electron microscopy of Herpes Simplex Virus / C. Morgan, H. M. Rose, B. Mednis // *I. Entry. J. Virol.* – 1968. – V. 2. – P. 507-516.
130. Murphy, M. B. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine [Электронный ресурс] / M. B. Murphy, K. Moncivais, A. I. Caplan // *Exp Mol Med.* – 2013. – V. 45(11). – P. e54. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/emm.2013.94> (дата обращения 17.10.2020).
131. Nakajima, Y. Near- Infrared Fluorescence Imaging Directly Visualizes Lymphatic Drainage Pathways and Connections between Superficial and Deep Lymphatic Systems in the Mouse Hindlimb / Y. Nakajima, K. Asano, K. Mukai,

- T. Urai et al. // *Scientific Reports*. – 2018. – V. 8. P. 7078. DOI:10.1038/s41598-018-25383-y.
132. Nanche, D. Generalized immunosuppression: how viruses undermine the immune response [Электронный ресурс] / D. Nanche, M. B. Oldstone // *Cell Mol Life Sci*. – 2000. – V. 57(10). – P. 1399-407. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11078019> (дата обращения 30.11.2012).
133. Okunewick, J.P. Comparison of the effects of CD3 and CD5 donor T cell depletion on graft-versus-leukemia in a murine model for MHC-matched unrelated-donor transplantation [Электронный ресурс] / J. P. Okunewick, D. L. Kociban, L. L. Machen, M. J. Buffo // *Bone Marrow Transplant*. – 1994.– V. 13(1). – P. 11-7. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7517254> (дата обращения 21.09.2015).
134. Okunewick J. P. Rauscher leukemia as a model for cancer therapy studies.II.Variation in response of splenic CFU-S between normal and Rauscher leukemic mice following exposure to hydroxyurea [Электронный ресурс] / J. P. Okunewick, R. F. Meredith, B. J. Brozovich, P. R. Seeman // *Proc Soc Exp Biol Med*. – 1980. – V. 163(1). – P. 132-6. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7352137> (дата обращения 21.09.2015).
135. Okunewick, J. P. Rauscher leukemia as a model for studies of marrow transplantation therapy: results using syngeneic, allogeneic and hybrid donors [Электронный ресурс] / J. P. Okunewick, R. F. Meredith, B. J. Brozovich, A. L. Schieb // *Int J Cancer*. – 1979.– V. 24(4). – P. 438-44. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/43293> (дата обращения 21.09.2015).
136. Oort, J. A histological and autoradiographic study of lymph nodes during the development of contact sensitivity in the guinea-pig / J. Oort, J. L. Turk // *Br J Exp Pathol*. – 1965. – V. 46. – P. 147–154.
137. Otsuka, H. Kupffer cells support extramedullary erythropoiesis induced by nitrogen-containing bisphosphonate in splenectomized mice [Электронный

- ресурс] / H. Otsuka, H. Yagi, Y. Endo, N. Nonaka, M. Nakamura // *Cell Immunol.* – 2011. – V. 271(1). – P. 197-204. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2011.06.025> (дата обращения 12.07.2016).
138. Palmieri, S. Transformation of erythroid cells by Rous sarcoma virus (RSV) [Электронный ресурс] / S. Palmieri // *Virology.* – 1985. – V. 140(2). – P. 269-80. – Режим доступа: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(85\)90365-4](https://doi.org/10.1016/0042-6822(85)90365-4) (дата обращения 12.07.2015).
139. Peterson, R. D. A. Reduced antibody-forming capacity during the incubation period of passage-A Leukemia in C3H Mice / R. D. A. Peterson, R. Hendricson, R. A. Good // *Proc. Soc. Exptl. Med.* – 1963.– V. 114. – P. 517-520.
140. Попова, Т. Г. Whole proteome analysis of mouse lymph nodes in cutaneous anthrax [Электронный ресурс] / Т. Г. Попова, V. Espina, W. Zhou, C. Mueller et al. // *PLoS One.* – 2014. – V. 9(10). P. e 110873. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110873> (дата обращения 24.03.2018).
141. Potter, E. L. Liver and Gallbladder / E. L. Potter // In: *Patology of the fetus and infant*, Chicago : Year Book Medical Publishers, Inc. – 1961, – P. 379-414.
142. Prantl, L. Adipose tissue-derived stem cells promote prostate tumor growth [Электронный ресурс] / L. Prantl, F. Muehlberg, N. M. Navone, Y. H. Song et al. // *Prostate.* – 2010. – 70(15). – P. 1709-15. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/pros.21206> (дата обращения 14.08.2015).
143. Qiao, L. Suppression of tumorigenesis by human mesenchymal stem cells in a hepatoma model [Электронный ресурс] / L. Qiao, Z. Xu, T. Zhao, M. Shi et al. // *Cell Res.* – 2008. – V. 18(4). – P. 500-7. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/cr.2008.40> (дата обращения 14.08.2015).
144. Ramasamy, R. The immunosuppressive effects of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells target T cell proliferation but not its effector

- function/ R. Ramasamy, C. K. Tong, H. F. Seow, S. Vidyadan, F. Dazzi // Cell immunol. – 2008. – V. 251. – P. 131-136.
145. Rauscher, F. J. A virus-induced disease of mice characterized by erythrocytopenia and lymphoid leukemia / F. J. Rauscher // J. Natl. Cancer Inst. – 1962. – V. 29. – P. 515-43.
146. Ricks, D. M. Optimized lentiviral transduction of mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells [Электронный ресурс] / D. M. Ricks, R. Kutner, X. Y. Zhang, D. A. Welsh, J. Reiser // Stem Cells Dev. – 2008. – V. 17(3). – P. 441-50. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1089/scd.2007.0194> (дата обращения 24.03.2018).
147. Roberts, M. S. Murine leukaemia virus infections as model for retroviral disease in humans / M. S. Roberts, J. J. Harvey, S. E. Macatonia, S. C. Knight // Advances in Experimental Medicine and biology. – 1993. – V. 329. – P. 533-537.
148. Rocchietta, J. The use of *Bacillus subtilis* in the treatment the diseases .Minnerva / J. Rocchietta // Med. – 1969. – V. 60. – P. 117-123.
149. Ruprecht, R. M. Murine models for antiretroviral therapy / R. M. Ruprecht // Intervirology. – 1989. – V. 30(1). – P. 2-11.
150. Saidova, A. A. Bovine stem cells: methodology and applications / A. A. Saidova // SOJ Veterinary Sciences. – 2019. – V. 5(1). – P. 1-9. DOI: 10.15226/2381-2907/5/1/00164
151. Sainte-Marie, G. Overall architecture and pattern of lymph flow in the rat lymph node [Электронный ресурс] / G. Sainte-Marie, F. S. Peng, C. Be'lisle // Am J Anat. – 1982. – V. 164(4). – P. 275-309. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/aja.1001640402> (дата обращения 12.07.2015).
152. Sainte-Marie, G. The lymph node revisited: development, morphology, functioning and role in triggering primary immune responses [Электронный ресурс] / G. Sainte-Marie // The anatomical record. – 2010. – 293:320-337. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/ar.21051> (дата обращения 12.07.2015).

153. Saito, H., Reticular meshwork of the spleen in rats studied by electron microscopy [Электронный ресурс] / H. Saito, Y. Yokoi, S. Watanabe, J. Tajima et al. // *Am J Anat.* – 1988. – V. 181(3). – P. 235-52. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/aja.1001810303> (дата обращения 24.03.2018).
154. Salaman, M. H. The Immunodepressive effect of Friend Virus / M. N. Salaman, N. Wedderburn // *Immunology.* – 1966. – V. 10. – P. 445-458.
155. Satodate, R. Scanning electron microscopical studies of the arterial terminals in the red pulp of the rat spleen [Электронный ресурс] / R. Satodate, H. Tanaka, S. Sasou, T. Sakuma, H. Kaizuka // *AnatRec.* – 1986. – V. 215(3). – P. 214-6. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/ar.1092150304> (дата обращения 02.07.2014).
156. Scheinberg, D. A. Leukemic cell targeting and therapy by monoclonal antibody in a mouse model system [Электронный ресурс] / D. A. Scheinberg, M. Strand // *Cancer Res.* – 1982. – V. 42(1). – P. 44-9. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6947860> (дата обращения 21.09.2015).
157. Scheri, G. C. Modulation of Tryptophan /Serotonin Pathway by Probiotic Supplementation in Human Immunodeficiency Virus-Positive Patients: Preliminary Results of a New Study Approach [Электронный ресурс] / G. C. Scheri, S. N. Fard, I. Schietroma, A. Mastrangelo, C. Pinacchio et al. // *Int J Tryptophan Res.* – 2017. – V. 10. – P. 1-7. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1177/1178646917710668> (дата обращения 02.07.2014).
158. Schmidt, E. E. Comparative aspects of splenic microcirculatory pathways in mammals: the region bordering the white pulp / E. E. Schmidt, I. C. MacDonald, A. C. Groom // *Scanning Microsc.* – 1993. – V. 7(2). – P. 613-28.
159. Secchiero, P. Human bone marrow mesenchymal stem cells display anti-cancer activity in SCID mice bearing disseminated non-Hodgkin's lymphoma xenografts [Электронный ресурс] / P. Secchiero, S. Zorzet, C. Tripodo, F. Corallini et al. // *PLoS One.* – 2010. – V. 5(6). – P. e 11140. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011140> (дата обращения 21.09.2015).

160. Seman, G. Viropexis of type B particles in reticulum cell sarcoma of RIII/Dm Stain Mice / G. Seman, L. Dmochowski // *Cancer research*. – 1973. – V. 33. – P. 1238-1246.
161. Shao, L. Lymphatic mapping of mice with systemic lymphoproliferative disorder: Usefulness as an inter-lymph node metastasis model of cancer [Электронный ресурс] / L. Shao, Sh. Mori, Y. Yagishita, T. Okuno et al. // *Journal of Immunological Methods*. – 2013. – V. 389. – P. 69-78. – Режим доступа: <http://doi.org/10.1016/j.jim.2013.01.004> (дата обращения 02.07.2014).
162. Siegel, B. V. Depressed antibody response in the mouse infected with Rauscher Leukemia Virus / B. V. Siegel, J. I. Morton // *Immunology*. – 1966. – V. 10. – P. 559-562.
163. Siegler, R. Comparative pathogenesis of murine viral lymphoma / R. Siegler, M. A. Rich // *Cancer Res*. – 1964. – V. 24. – P. 1406-17.
164. Shinagawa, K. Mesenchymal stem cells enhance growth and metastasis of colon cancer [Электронный ресурс] / K. Shinagawa, Y. Kitadai, M. Tanaka, T. Sumida et al. // *Int J Cancer*. – 2010. – V. 127(10). – P. 2323-33. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/ijc.25440> (дата обращения 24.03.2018).
165. Sinkovics, J. G. Antileukemia and antitumor effects of the graft-versus-host disease: a new immunovirological approach [Электронный ресурс] / J. G. Sinkovics // *Acta Microbiol Immunol Hung*. – 2010. – V. 57(4). – P. 253-347. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1556/amicr.57.2010.4.2> (дата обращения 02.07.2014).
166. Song, N. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells inhibit leukemia/lymphoma cell proliferation in vitro and in mouse model of allogeneic bone marrow transplant [Электронный ресурс] / N. Song, L. Gao, H. Qiu et al. // *Int J Mol Med*. – 2015. – V. 36(1). – P. 139-149. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2191> (дата обращения 24.03.2018).

167. Sorrentino, A. Isolation and characterization of CD146+ multipotent mesenchymal stromal cells / A. Sorrentino, M. Ferracin, G. Castelli, M. Biffoni et al. // *Exp Hematol.* – 2008. – V. 36(8). – P. 1035-46.
168. Sun, D. Tumorigenesis of murine erythroleukemia cell line transfected with exogenous p53 gene / D. Sun, J. Wang, W. Yao, L. Gu, Z. Wen, C. Shu // *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2004. – V. 30(2). – P. 117-26.
169. Sun, R. Anatomy and histology characteristics of lymph node in nude mice / R. Sun, B. Gao, C. B. Gao // *Journal of Peking University (Health Sciences).* – 2017. – V. 49(5). – P. 893-989. DOI:10.3969 / j.issn.1671-167X.2017.05.027.
170. *The Guide for Care and Use of Laboratory Animals: LAR publication.* – Washington : National Academy Press, 1996.– 246 p.
171. Torsvik, A. Spontaneous malignant transformation of human mesenchymal stem cells reflects cross-contamination: putting the research field on track-letter / A. Torsvik, G. V. Rosland, A. Svendsen, A. Molven et al. // *Cancer Res.* – 2010. – V. 70(15). – P. 6393-6. DOI: 10.1158 / 0008-5472.CAN-10-1305 .
172. Turner, V. M. Influence of ageing on the microarchitecture of the spleen and lymph nodes [Электронный ресурс] / V. M. Turner, N. A. Mabbott // *Biogerontology.* – 2017. – 18(5). – P. 723-738. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1007/s10522-017-9707-7> (дата обращения 22.03.2021).
173. Uccelli, A. Mesenchymal stem cells in health and disease [Электронный ресурс] / A. Uccelli, L. Moretta, V. Pistoia // *Nat Rev Immunol.* – 2008. – V. 8(9). – P. 726-36. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/nri2395> (дата обращения 21.09.2015).
174. Umar, M. H. Aspects of the pathogenesis of the Rauscher murine leukemia virus infection // Erasmus University Rotterdam. – 1977. – 126p.
175. Van den Broeck, W. L. M. Anatomy and nomenclature of murine lymph nodes: Descriptive study and nomenclatory standardization in BALB/cAnNCrI mice [Электронный ресурс] / W. Van den Broeck, A. Derore, P. Simoens // *J. Immunol Methods.* – 2006. –V. 312(1-2). – P. 12-9. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.jim.2006.01.022> (дата обращения 21.09.2015).

176. Walrath, J. C. Chaoter 4 – Genetically engineered mouse in cancer research [Электронный ресурс] / J.C. Walrath, J. J. Hawes, T. V. Dyke, K. M. Reily // *Adv Cancer Res.* – 2010. – V. 106. – P. 113-164. – Режим доступа: [https://doi.org/10.1016/S0065-230X\(10\)06004-5](https://doi.org/10.1016/S0065-230X(10)06004-5) (дата обращения 27.02.2021).
177. Wang, B. Mouse dendritic cell migration in abdominal lymph nodes by intraperitoneal administration / B. Wang, Ch. San, S. Wang, N. Shang et al. // *Am J Transl Res.* – 2018. – V. 10(9). – P. 2859-2867. PMID: 30323872
178. Willard-Mack, C. L. Normal structure, function, and histology of lymph nodes [Электронный ресурс] / C. L. Willard-Mack // *Toxicol Pathol.* – 2006. – V. 34(5). – P. 409-24. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1080%2F01926230600867727> (дата обращения 02.07.2014).
179. Yokoro, K. Cytology and pathogenesis of Rauscher Virus Disease in splenectomized mice / K. Yokoro, B. Thorell // *Cancer Research.* – 1966. – V. 26(1). – P. 536-543.
180. Zanotti, L. Encapsulated mesenchymal stem cells for in vivo immunomodulation [Электронный ресурс] / L. Zanotti, A. Sarukhan, E. Dander, M. Castor, J. Cibella, C. Soldani et al. // *Leukemia.* – 2013. – V. 27. – P. 500–503. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/leu.2012.202> (дата обращения 24.03.2018).
181. Zhu, W. Mesenchymal stem cells derived from bone marrow favor tumor cell growth in vivo [Электронный ресурс] / W. Zhu, W. Xu, R. Jiang, H. Qian, M. Chen et al. // *Exp.Mol.Pathol.* – 2006. – V. 80(3). – P. 267-74. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2005.07.004> (дата обращения 24.03.2018).
182. Zhu, Y. Human mesenchymal stem cells inhibit cancer cell proliferation by secreting DKK-1 [Электронный ресурс] / Y. Zhu, Z. Sun, Q. Han, L. Liao, J. Wang et al. // *Leukemia.* – 2009. – V. 23(5). – P. 925-33. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/leu.2008.384> (дата обращения 12.07.2015).

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

	Стр.
Рисунок 1. Схематическое изображение расположения лимфатических узлов у мыши.....	40
Рисунок 2. Кривая выживаемости мышей опытной и контрольной групп.....	53
Таблица 1. Изменение гематологических показателей контрольной группы животных (К) и группы Антигена (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни.....	55
Таблица 2. Лейкоцитарная формула контрольной группы мышей BALB/c (К) и группы Антигена (АГ) в гиперпластическом (I) и терминальном (II) периодах болезни.....	55
Рисунок 3. Подвздошный медиальный лимфоузел животных контрольной группы (а, б) и группы Антиген (в) в гиперпластический период развития болезни.....	56
Таблица 3. Относительные площади структурно-функциональных зон лимфоузлов животных контрольной группы (К) и группы Антигена (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни.....	58
Таблица 4. Клеточный состав структурно-функциональных зон лимфоузлов животных контрольной группы и группы Антиген в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни.....	60
Рисунок 4. Подвздошный медиальный лимфоузел животных контрольной группы (а, б) и группы Антиген (в) в терминальном периоде развития болезни.....	63
Рисунок 5. Изменение массы селезенки (мг) контрольной группы животных (К) и группы антигена (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) периоды наблюдения.....	66
Рисунок 6. Изменение соотношения белой и красной пульпы селезенки контрольной группы животных (К) гиперпластический (I) и терминальный (II) периоды эксперимента.....	66

Рисунок 7. Изменение соотношения красной и белой пульпы селезенки группы антигена (АГ) В гиперпластический (I) и терминальный (II) период эксперимента.....	67
Рисунок 8. Селезенка контрольной группы животных.....	67
Рисунок 9. Селезенка животных группы Антиген в гиперпластический период болезни.....	68
Рисунок 10. Селезенка животных группы Антиген в терминальный период болезни.....	69
Таблица 5. Относительные площади структурно-функциональных зон селезенки животных контрольной группы (К) и группы Антиген (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни.....	69
Таблица 6. Клеточный состав структурно-функциональных зон селезенки контрольной группы (К) и группы Антигена (АГ) в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни.....	71
Таблица 7. Уровень пролиферативной активности спленоцитов <i>in vitro</i> в опытной (Антиген) и контрольной группе.....	75
Рисунок 11. Кривая выживаемости мышей опытной и контрольной групп.....	80
Таблица 8. Динамика гематологических показателей опытных (Антиген, Субалин и Антиген + Субалин) и контрольной групп животных.....	81
Таблица 9. Динамика показателей лейкограммы крови животных опытных (АГ, Суб и АГ + Суб) и контрольной групп мышей BALB/c в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни.....	82
Рисунок 12.. Подвздошный медиальный лимфоузел животных группы Субалин и Антиген + Субалин в гиперпластический и терминальный период развития болезни.....	83
Таблица 10. Морфофункциональные изменения лимфатических узлов мышей BALB/c опытной группы АГ, Суб и АГ + Суб в сравнении с контрольной группой в гиперпластическом (I) и терминальном (II) периоде болезни.....	84

Таблица 11. Изменение массы селезенки (мг) мышей BALB/c опытных групп Субалин и Антиген+Субалин в гиперпластическом и терминальном периоде наблюдения.....	91
Рисунок 13. Селезенка животных группы Субалин в гиперпластический период болезни.....	91
Рисунок 14. Селезенка животных группы Антиген + Субалин в гиперпластический период болезни.....	92
Рисунок 15. Селезенка животных опытных групп Субалин и Антиген + Субалин в терминальный период развития болезни.....	93
Таблица 12. Относительные площади структурно-функциональных зон селезенки опытных групп Антиген, Субалин, Антиген + Субалин и контрольной группы в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни.....	94
Таблица 13. Влияние препарата субалин на спонтанную и стимулированную митогенами пролиферацию спленоцитов в условиях экспериментального вирусного лейкоза.....	100
Рисунок 16. Кривая выживаемости мышей опытной и контрольной групп.....	104
Таблица 14. Динамика гематологических показателей опытных (АГ, СК, АГ + СК) и контрольной групп животных.....	105
Таблица 15. Динамика показателей лейкограммы крови животных группы Антиген, Стволовые клетки, Антиген + Стволовые клетки и контрольной групп мышей BALB/c в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни.....	106
Рисунок 17. Подвздошный медиальный лимфоузел животных группы Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки в гиперпластический период развития болезни.....	107
Таблица 16. Морфофункциональные изменения лимфатических узлов мышей BALB/c опытной группы АГ, СК и АГ + СК в сравнении с контрольной группой в гиперпластическом (I) и терминальном (II) периоде.....	109
Рисунок 18. Медиальный подвздошный лимфоузел животных группы Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки в терминальный период развития	

болезни.....	113
Таблица 17. Изменение массы селезенки (мг) опытных групп мышей BALB/c в гиперпластический (I) и терминальный (II) период болезни.....	115
Рисунок 19. Селезенка животных опытных групп Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки в гиперпластический период развития болезни.....	116
Рисунок 20. Селезенка животных опытных групп Стволовые клетки и Антиген + Стволовые клетки в терминальный период развития болезни.....	117
Таблица 18. Морфофункциональные изменения селезенки мышей BALB/c опытных групп СК и АГ + СК в сравнении с группой АГ и Контрольной группой в гиперпластическом (I) и терминальном (II) периоде болезни.....	118
Таблица 19. Влияние стволовых клеток на спонтанную и стимулированную митогенами пролиферацию спленоцитов в условиях экспериментального вирусного лейкоза.....	125

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(Обязательное)
Табличный материал

Таблица А. 1 – Относительные площади структурно-функциональных зон лимфатических узлов опытных групп Антиген, Субалин, Антиген + Субалин и контрольной группы в гиперпластический (I) и терминальный (II) период заболевания ($M \pm m$) (%)

Структурно-функциональные зоны	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Герминативный центр вторичных лимфоидных узелков	$0,81 \pm 0,07$ *	$0,15 \pm 0,03$ *	$2,5 \pm 0,09$	$0,87 \pm 0,06$	$1,2 \pm 0,08$ * Δ ●	$0,72 \pm 0,06$ * Δ	$2,86 \pm 0,11$	$1,04 \pm 0,07$
Мантий вторичных лимфоидных узелков	$1,13 \pm 0,11$ *	$0,37 \pm 0,04$ *	$3,12 \pm 0,07$	$1,8 \pm 0,07$ *	$2,07 \pm 0,12$ * Δ ●	$1,86 \pm 0,09$ * Δ	$3,41 \pm 0,07$	$2,82 \pm 0,2$
Вторичные лимфоидные узелки	$1,94 \pm 0,19$ *	$0,52 \pm 0,08$ *	$5,62 \pm 0,16$ *	$2,67 \pm 0,13$ *	$3,27 \pm 0,2$ Δ ●	$2,58 \pm 0,15$ * Δ	$6,21 \pm 0,11$	$3,86 \pm 0,23$
Первичные лимфоидные узелки	$1,15 \pm 0,07$ *	$0,41 \pm 0,06$ *	$1,34 \pm 0,17$	$1,88 \pm 0,08$	$1,52 \pm 0,1$ Δ	$0,96 \pm 0,06$ * Δ ●	$1,83 \pm 0,15$	$2,29 \pm 0,18$
Корковое плато	$0,9 \pm 0,09$ *	$0,63 \pm 0,07$ *	$1,92 \pm 0,09$	$2,06 \pm 0,1$ *	$1,39 \pm 0,15$ * Δ ●	$0,99 \pm 0,9$ *	$1,75 \pm 0,1$	$3,34 \pm 0,17$
Паракортикальная зона	$29,3 \pm 1,15$	$21,76 \pm 0,92$	$31,27 \pm 0,59$	$27,14 \pm 0,96$	$27,32 \pm 1,1$	$22,45 \pm 0,62$	$23,71 \pm 1,1$	$40,1 \pm 1,63$
Мозговые тяжи	$43,15 \pm 1,21$	$48,72 \pm 1,44^*$	$33,37 \pm 0,72^*$	$44,18 \pm 1,36^*$	$35,6 \pm 0,56$ * Δ	$40,22 \pm 1,25^*$ * Δ	$40,1 \pm 0,37$	$31,79 \pm 1,08$

Продолжение Таблицы А. 1

Структурно-функциональные зоны	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Мозговые синусы	21,35 ± 0,42*	26,81 ± 1,3*	23,37 ± 0,62	19,31 ± 0,71*	27,85 ± 1,2 *Δ●	30,67 ± 0,94*●	23,83 ± 0,67	16,5 ± 0,42
Краевой синус	0,89 ± 0,07	0,11 ± 0,02*	1,4 ± 0,08*	1,1 ± 0,03*	1,09 ± 0,08*	0,88 ± 0,1*Δ	0,65 ± 0,1	0,54 ± 0,05
Капсула	1,27 ± 0,09*	0,53 ± 0,05*	1,67 ± 0,03	1,63 ± 0,04	1,94 ± 0,06Δ●	1,04 ± 0,09*Δ●	1,82 ± 0,06	1,39 ± 0,08
Трабекулы	0,03 ± 0,01	0,5 ± 0,07*	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,12 ± 0,02Δ●	0,2 ± 0,02●	0,05 ± 0,02	0,21 ± 0,06
В-зона	47,15 ± 2,3	50,28 ± 2,75	42,25 ± 1,14*	50,78 ± 3,15	41,78 ± 1,01*	44,75 ± 2,36	49,93 ± 1,95	41,28 ± 2,51
Корковое вещество	33,3 ± 2,32	23,32 ± 1,56*	40,15 ± 1,01*	33,74 ± 1,93*	33,5 ± 1,55●	26,98 ± 1,73*●	33,57 ± 1,37	49,56 ± 2,33
Мозговое вещество	64,5 ± 3,5	75,53 ± 4,28	56,74 ± 1,34*	63,49 ± 2,77*	63,45 ± 1,76●	70,89 ± 2,19*	63,89 ± 1,32	48,3 ± 1,53
Корково-мозговой индекс	0,52 ± 0,03	0,31 ± 0,02*	0,70 ± 0,01*	0,53 ± 0,03*	0,53 ± 0,16	0,38 ± 0,03*●	0,53 ± 0,02	1,03 ± 0,05

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$); ● различия достоверны в сравнении с опытной группой Суб ($P \leq 0,05$)

Приложение А

Таблица А. 2 – Цитоархитектоника структурно-функциональных зон лимфатических узлов опытных групп Антиген, Субалин, Антиген + Субалин и контрольной группы в гиперпластический (I) и терминальный (II) период заболевания ($M \pm m$) (%)

Клеточные элементы	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Герминативный центр вторичных лимфоидных узлов								
Лимфобласты	10,14 ± 0,34 *	9,6 ± 0,53 *	3,62 ± 0,22	6,94 ± 0,41	8,75 ± 0,16 *Δ●	17,13 ± 0,4 *Δ●	3,77 ± 0,17	6,82 ± 0,16
Средние лимфоциты	20,95 ± 0,5 *	27,5 ± 0,62 *	19,38 ± 0,6	17,23 ± 0,7 *	19,01 ± 0,42 *	16,89 ± 1,0 *Δ	16,0 ± 0,94	13,13 ± 0,3
Малые лимфоциты	60,51 ± 2,0 *	48,57 ± 1,47 *	71,61 ± 0,11	69,0 ± 1,56	66,43 ± 1,12 *●	58,88 ± 1,6 *Δ●	73,87 ± 1,12	72,44 ± 1,5
Макрофаги	2,21 ± 0,13	5,5 ± 0,15 *	1,29 ± 0,09 *	1,71 ± 0,09	1,44 ± 0,1Δ	1,37 ± 0,1 *Δ	1,8 ± 0,11	1,85 ± 0,08
Ретикулярные клетки	2,7 ± 0,13 *	3,1 ± 0,14	2,81 ± 0,17	3,1 ± 0,18	1,86 ± 0,09 *Δ●	1,92 ± 0,09 *Δ●	3,3 ± 0,15	3,15 ± 0,16
Митотически делящ. клетки	2,81 ± 0,17 *	4,9 ± 0,31 *	1,2 ± 0,08	1,81 ± 0,1	2,32 ± 0,06 *Δ●	3,57 ± 0,05 *Δ●	1,06 ± 0,07	2,24 ± 0,16
Нейтрофилы	0,68 ± 0,08*	0,74 ± 0,08*	0,19 ± 0,05	0,23 ± 0,05	0,20 ± 0,08Δ	0,23 ± 0,05 Δ	0,21 ± 0,05	0,36 ± 0,07

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 2

Клеточные элементы	Антиген		Субалин		Антиген+Субалин		Здоровые	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Паракортикальная зона								
Лимфобласты	5,88 ± 0,5 *	3,49 ± 0,11 *	2,31 ± 0,11	0,53 ± 0,05 *	3,37 ± 0,12 *Δ●	1,17 ± 0,09 *Δ●	2,26 ± 0,13	0,24 ± 0,05
Средние лимфоциты	15,8 ± 0,62 *	18,44 ± 0,9 *	8,2 ± 0,4 *	4,55 ± 0,2 *	10,44 ± 0,62 Δ●	4,55 ± 0,03 *Δ	10,1 ± 0,43	2,39 ± 0,09
Малые лимфоциты	74,37 ± 1,98 *	68,6 ± 0,86 *	85,94 ± 1,25	91,2 ± 2,5	83,4 ± 1,87Δ	91,09 ± 1,7ΔΔ	84,3 ± 1,87	94,43 ± 1,14
Макрофаги	1,13 ± 0,07*	5,3 ± 0,14*	0,72 ± 0,07	0,9 ± 0,07	0,68 ± 0,08Δ	0,97 ± 0,07ΔΔ	0,69 ± 0,08	0,97 ± 0,07
Ретикулярные клетки	2,56 ± 0,08	3,76 ± 0,12 *	2,56 ± 0,13	2,71 ± 0,17 *	1,84 ± 0,14 *Δ●	1,91 ± 0,08 Δ●	2,5 ± 0,15	1,81 ± 0,06
Нейтрофилы	0,26 ± 0,03	0,41 ± 0,07*	0,26 ± 0,05	0,29 ± 0,05	0,26 ± 0,04	0,32 ± 0,04	0,16 ± 0,04	0,17 ± 0,04
Мозговые тязи								
Средние лимфоциты	9,08 ± 0,45 *	13,0 ± 0,63 *	11,08 ± 0,32 *	9,31 ± 0,63 *	13,74 ± 0,14 *Δ●	9,01 ± 0,61 Δ	6,8 ± 0,37	6,85 ± 0,48
Малые лимфоциты	20,3 ± 1,0	15,32 ± 0,74 *	19,74 ± 0,2	24,19 ± 1,28 *	20,01 ± 0,2	26,80 ± 0,41 *Δ	20,82 ± 1,13	32,0 ± 0,94
Плазмобласты	4,27 ± 0,19 *	4,97 ± 0,42 *	3,7 ± 0,15 *	1,91 ± 0,22 *	4,07 ± 0,2 *	2,11 ± 0,22 *Δ	2,94 ± 0,2	3,48 ± 0,15

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 2

Клеточные элементы	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Мозговые тяжи								
Незрелые плазмобласты	21,12 ± 0,51 *	20,3 ± 1,03 *	21,2 ± 0,52 *	15,64 ± 0,92 *	15,03 ± 1,0 Δ●	10,42 ± 1,66 Δ●	15,1 ± 0,78	11,2 ± 0,64
Зрелые плазмобласты	36,82 ± 0,96 *	32,55 ± 1,13 *	37,17 ± 1,1 *	42,39 ± 1,67	40,16 ± 1,97 *	44,21 ± 1,6 *Δ	48,0 ± 1,91	38,82 ± 1,0
Макрофаги	2,12 ± 0,09	5,56 ± 0,43 *	1,99 ± 0,06	1,56 ± 0,11 *	2,05 ± 0,1	1,94 ± 0,08 Δ	1,77 ± 0,16	2,1 ± 0,1
Ретикулярные клетки	3,52 ± 0,11	4,86 ± 0,3 *	3,11 ± 0,17	3,7 ± 0,23	3,30 ± 0,16	3,35 ± 0,12	3,26 ± 0,21	3,84 ± 0,17
Митотически делящ. клетки	1,8 ± 0,11 *	2,39 ± 0,31 *	1,2 ± 0,06 *	0,61 ± 0,12 *	0,92 ± 0,1 Δ	1,7 ± 0,11 ●	0,61 ± 0,1	1,38 ± 0,09
Нейтрофилы	0,97 ± 0,11	1,07 ± 0,1*	0,82 ± 0,13	0,69 ± 0,12	0,71 ± 0,1	0,47 ± 0,08Δ	0,65 ± 0,13	0,33 ± 0,06
Мозговые синусы								
Средние лимфоциты	15,07 ± 0,46 *	11,24 ± 0,54 *	15,24 ± 0,52 *	12,8 ± 0,26 *	13,19 ± 0,46 Δ●	12,41 ± 0,55 *	12,03 ± 0,39	15,06 ± 0,68
Малые лимфоциты	25,22 ± 0,66 *	17,6 ± 0,78 *	25,56 ± 1,41 *	20,0 ± 0,93 *	30,0 ± 1,22 *Δ●	25,4 ± 1,06 *Δ●	39,56 ± 2,78	31,18 ± 1,2

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 2

Клеточные элементы	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Мозговые синусы								
Плазмобласты	1,92 ± 0,18 *	2,67 ± 0,09 *	1,97 ± 0,12 *	0,54 ± 0,07 *	1,17 ± 0,15 Δ●	0,52 ± 0,06*Δ	0,98 ± 0,19	1,16 ± 0,12
Незрелые Плазмоциты	14,96 ± 0,58 *	17,5 ± 0,65 *	18,89 ± 0,52 *	16,47 ± 0,77 *	18,95 ± 0,98 *Δ	15,47 ± 0,6 *	8,84 ± 0,45	12,53 ± 0,62
Зрелые плазмоциты	36,78 ± 1,1 *	36,6 ± 1,19 *	27,24 ± 0,67	41,63 ± 2,23 *	25,16 ± 1,77 Δ	38,14 ± 1,8 *	25,88 ± 1,84	30,22 ± 1,14
Макрофаги	2,32 ± 0,15*	7,86 ± 0,52*	3,5 ± 0,3*	2,97 ± 0,23*	5,07 ± 0,15Δ●	3,12 ± 0,2*Δ	5,16 ± 0,19	4,3 ± 0,23
Ретикулярные клетки	3,02 ± 0,15 *	4,14 ± 0,24	5,56 ± 0,24	4,05 ± 0,2	4,74 ± 0,36 Δ	3,88 ± 0,25	5,9 ± 0,26	4,7 ± 0,36
Нейтрофилы	0,55 ± 0,04	1,86 ± 0,15*	1,08 ± 0,12	0,97 ± 0,16	1,05 ± 0,11Δ	0,77 ± 0,09Δ	1,06 ± 0,24	0,51 ± 0,07
Тучные клетки	0,15 ± 0,05*	0,57 ± 0,06	0,94 ± 0,08	0,59 ± 0,09	0,68 ± 0,04Δ	0,3 ± 0,08	0,57 ± 0,15	0,35 ± 0,09

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$); ● различия достоверны в сравнении с опытной группой Суб ($P \leq 0,05$)

Приложение А

Таблица А. 3 – Цитоархитектоника структурно-функциональных зон селезенки опытных групп Антиген, Субалин, Антиген + Субалин и контрольной группы в гиперпластический (I) и терминальный (II) период заболевания ($M \pm m$) (%)

Клеточные элементы	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Герминативный центр								
Лимфобласты	$3,93 \pm 0,23^*$	-	$3,70 \pm 0,11^*$	$3,11 \pm 0,2^*$	$3,52 \pm 0,32^*$	$2,02 \pm 0,22\Delta$	$1,65 \pm 0,12$	$1,6 \pm 0,11$
Средние лимфоциты	$16,71 \pm 0,7^*$	-	$14,18 \pm 0,64^*$	$14,1 \pm 0,76^*$	$11,5 \pm 0,74\Delta$	$8,94 \pm 0,64\Delta$	$12,23 \pm 0,21$	$10,1 \pm 0,35$
Малые лимфоциты	$67,73 \pm 1,39$	-	$69,57 \pm 2,12$	$71,67 \pm 3,65^*$	$73,24 \pm 1,6$	$77,75 \pm 1,5$	$73,25 \pm 3,2$	$82,3 \pm 1,12$
Макрофаги	$4,24 \pm 0,2^*$	-	$5,77 \pm 0,13$	$4,73 \pm 0,23^*$	$4,3 \pm 0,31^* \bullet$	$4,04 \pm 0,43$	$6,55 \pm 0,49$	$3,0 \pm 0,15$
Ретикулярные клетки	$5,51 \pm 0,18$	-	$4,97 \pm 0,35$	$5,27 \pm 0,25^*$	$5,98 \pm 0,18$	$6,27 \pm 0,13^* \bullet$	$6,0 \pm 0,55$	$1,85 \pm 0,1$
Клетки на стадии митоза	$1,87 \pm 0,18^*$	-	$1,8 \pm 0,08^*$	$1,1 \pm 0,09$	$1,5 \pm 0,11^*$	$0,97 \pm 0,15$	$0,3 \pm 0,1$	$1,17 \pm 0,18$
Маргинальная зона								
Средние лимфоциты	$12,77 \pm 0,46^*$	-	$7,21 \pm 0,49^*$	$9,31 \pm 0,51^*$	$16,76 \pm 0,45 \bullet$ $*\Delta$	$19,12 \pm 0,5^* \bullet$	$4,16 \pm 0,42$	$4,72 \pm 0,2$
Малые лимфоциты	$77,67 \pm 1,41$	-	$77,48 \pm 2,40$	$75,27 \pm 2,36^*$	$75,7 \pm 2,14$	$70,45 \pm 1,94^*$	$84,45 \pm 4,81$	$90,15 \pm 2,3$

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 3

Клеточные элементы	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Маргинальная зона								
Макрофаги	3,49 ± 0,37	-	7,55 ± 0,29*	6,45 ± 0,37*	4,25 ± 0,25●	3,97 ± 0,34●	4,23 ± 0,34	3,4 ± 0,21
Ретикулярные клетки	6,08 ± 0,26	-	7,75 ± 0,25	8,96 ± 0,25*	6,27 ± 0,26●	6,45 ± 0,19*●	7,15 ± 0,37	1,73 ± 0,19
Периартериальная муфта								
Средние лимфоциты	8,87 ± 0,49*	21,92 ± 0,92*	4,53 ± 0,12	5,0 ± 0,32	13,58 ± 0,8*●Δ	11,57 ± 0,68* ●Δ	5,02 ± 0,31	4,78 ± 0,3
Малые лимфоциты	81,49 ± 2,17	48,91 ± 2,61*	84,13 ± 2,7	82,48 ± 2,4*	74,85 ± 0,96*● Δ	70,65 ± 1,16* ●Δ	84,06 ± 3,32	89,54 ± 1,45
Макрофаги	3,25 ± 0,15	4,12 ± 0,12	7,12 ± 0,50	5,94 ± 0,56*	4,27 ± 0,21●Δ	8,27 ± 0,27* Δ	4,9 ± 0,39	3,8 ± 0,26
Ретикулярные клетки	6,38 ± 0,15	11,71 ± 0,78*	4,20 ± 0,33	6,56 ± 0,35*	6,83 ± 0,14●	9,53 ± 0,19*●	6,02 ± 0,56	1,88 ± 0,1
Эритробласты	-	13,35 ± 0,54	-	-	-	-	-	-
Тяжи красной пульпы								
Плазмобласты	2,45 ± 0,26	1,88 ± 0,16*	5,12 ± 0,11*	3,06 ± 0,21*	3,54 ± 0,21●*Δ	2,19 ± 0,31*	1,67 ± 0,13	1,19 ± 0,1

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 3

Клеточные элементы	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Незрелые плазмоциты	20,93 ± 1,15*	14,0 ± 1,25	15,95 ± 0,58*	13,05 ± 0,63*	14,28 ± 0,38* Δ	12,51 ± 0,41 *	10,0 ± 0,63	11,0 ± 0,35
Зрелые плазмоциты	60,64 ± 2,0	48,65 ± 1,87*	62,93 ± 0,94	66,53 ± 1,24*	69,0 ± 1,0●Δ	72,63 ± 1,0●Δ	66,2 ± 2,05	71,28 ± 1,83
Клетки на стадии митоза	0,52 ± 0,11	0,61 ± 0,13	1,5 ± 0,02*	1,2 ± 0,12*	1,08 ± 0,12●* Δ	0,96 ± 0,02* Δ	0,43 ± 0,1	0,34 ± 0,08
Макрофаги	5,82 ± 0,23*	6,13 ± 0,45*	5,93 ± 0,37*	8,13 ± 0,34*	4,14 ± 0,16* ●Δ	5,54 ± 0,16* Δ	8,67 ± 0,58	11,56 ± 0,46
Ретикулярные клетки	6,23 ± 0,21 *	13,23 ± 0,63*	6,0 ± 0,23*	6,5 ± 0,21 *	6,6 ± 0,36*	4,6 ± 0,71●Δ	8,52 ± 0,55	2,66 ± 0,28
Нейтрофилы	0,82 ± 0,11 *	1,15 ± 0,15	1,29 ± 0,1*	0,57 ± 0,1	0,54 ± 0,09*	1,04 ± 0,1●	3,69 ± 0,34	1,67 ± 0,17
мегакариоциты	0,5 ± 0,07	0,4 ± 0,07	0,44 ± 0,15	0,43 ± 0,11	0,16 ± 0,05Δ	0,09 ± 0,07Δ	0,29 ± 0,11	0,17 ± 0,06
Эритробласты	2,1 ± 0,17*	13,96 ± 0,54*	0,64 ± 0,06	0,54 ± 0,08*	0,67 ± 0,12	0,44 ± 0,09*	0,53 ± 0,16	0,14 ± 0,05
Синусы красной пульпы								
Средние лимфоциты	7,2 ± 0,37	8,58 ± 0,52*	8,58 ± 0,42	7,73 ± 0,33*	8,2 ± 0,46	6,72 ± 0,16* ●	7,43 ± 0,4	5,79 ± 0,25

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 3

Клеточные элементы	АГ		Суб		АГ + Суб		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Малые лимфоциты	23,61 ± 1,55	14,0 ± 0,9*	23,84 ± 0,14	21,34 ± 0,84	17,8 ± 0,69*●Δ	14,88 ± 0,5●*	26,88 ± 1,89	21,54 ± 1,06
Незрелые плазмоциты	8,95 ± 0,52*	14,13 ± 1,07*	13,7 ± 0,33*	11,7 ± 0,63*	14,29 ± 0,77*Δ	15,79 ± 0,27* ●	5,04 ± 0,18	1,92 ± 0,16
Зрелые плазмоциты	44,47 ± 1,72*	31,72 ± 1,66*	38,3 ± 0,65	36,3 ± 0,78*	45,1 ± 1,08*●	48,9 ± 1,03●Δ	37,1 ± 1,43	49,12 ± 0,97
Макрофаги	5,47 ± 0,31*	5,07 ± 0,5*	7,9 ± 0,55*	11,82 ± 0,7*	6,09 ± 0,21*	4,59 ± 0,6*●	11,97 ± 0,61	15,18 ± 0,47
Ретикулярные клетки	6,44 ± 0,25	7,38 ± 0,7*	4,43 ± 0,18*	6,93 ± 0,38*	7,39 ± 0,24●	7,89 ± 0,31*	7,13 ± 0,11	3,63 ± 0,19
Нейтрофилы	0,64 ± 0,1*	1,02 ± 0,13*	2,52 ± 0,2*	3,0 ± 0,2*	0,27 ± 0,09*Δ	0,5 ± 0,11*●Δ	3,59 ± 0,2	2,41 ± 0,21
Мегакариоциты	0,49 ± 0,09	0,26 ± 0,09	0,20 ± 0,09	0,3 ± 0,11	0,19 ± 0,06	0,22 ± 0,04	0,35 ± 0,11	0,16 ± 0,06
Эритробласты	2,72 ± 0,3*	17,81 ± 1,0*	0,52 ± 0,13	0,88 ± 0,11*	0,7 ± 0,15Δ	0,5 ± 0,05*●Δ	0,5 ± 0,1	0,25 ± 0,07

Примечание: *различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой АГ ($P \leq 0,05$); ● различия достоверны в сравнении с опытной группой Суб ($P \leq 0,05$)

Приложение А

Таблица А. 4 – Относительные площади структурно-функциональных зон медиальных подвздошных лимфатических узлов животных опытных групп АГ, СК, АГ + СК и контрольной группы в гиперпластический (I) и терминальный (II) период заболевания ($M \pm m$) (%)

Структурно-функциональные зоны	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Герминативный центр вторичных лимфоидных узелков	0,81 ± 0,07 *	0,15 ± 0,03 *Δ	2,0 ± 0,2 *	0,63 ± 0,07 *	0,76 ± 0,09 *♥	0,54 ± 0,1 *Δ	2,86 ± 0,11	1,04 ± 0,07
Мантий вторичных лимфоидных узелков	1,13 ± 0,11 *	0,37 ± 0,04 *Δ	1,49 ± 0,12 *	1,22 ± 0,14 *	1,37 ± 0,09 *	1,01 ± 0,09 *Δ	3,41 ± 0,07	2,82 ± 0,2
Трабекулы	0,03 ± 0,01	0,5 ± 0,07 *Δ	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,02 *	0,08 ± 0,03	0,18 ± 0,06 Δ	0,05 ± 0,02	0,21 ± 0,06
Вторичные лимфоидные узелки	1,94 ± 0,19 *	0,52 ± 0,08 *Δ	3,49 ± 0,28 *	1,85 ± 0,18 *	2,13 ± 0,08 *♥	1,55 ± 0,19 *Δ	6,21 ± 0,11	3,86 ± 0,23
Первичные лимфоидные узелки	1,15 ± 0,07 *	0,41 ± 0,06 *Δ	1,28 ± 0,06 *	2,32 ± 0,16	2,81 ± 0,1 *Δ♥	2,04 ± 0,07 Δ	1,83 ± 0,15	2,29 ± 0,18
Корковое плато	0,9 ± 0,09 *	0,63 ± 0,07 *	1,39 ± 0,07 *	1,29 ± 0,15 *	1,26 ± 0,09 *	0,93 ± 0,15 *	1,75 ± 0,1	3,34 ± 0,17
Паракортикальная зона	29,3 ± 1,15 *	21,76 ± 0,92 *Δ	30,71 ± 0,63 *	45,23 ± 1,78	24,1 ± 0,9 Δ♥	17,9 ± 1,1 *♥	23,71 ± 1,1	40,1 ± 1,63
Мозговые тяжи	43,15 ± 1,21	48,72 ± 1,44 *Δ	37,36 ± 0,82 *	31,96 ± 1,82	39,0 ± 1,61	44,2 ± 1,09 *♥	40,1 ± 0,37	31,79 ± 1,08
Мозговые синусы	21,35 ± 0,42 *	26,81 ± 1,3 *Δ	23,96 ± 0,63	15,74 ± 0,95	26,94 ± 1,17 Δ	30,45 ± 1,3 *♥	23,83 ± 0,67	16,5 ± 0,42
Краевой синус	0,89 ± 0,07	0,11 ± 0,02 *Δ	0,72 ± 0,05	0,5 ± 0,03	1,38 ± 0,13 *Δ♥	0,96 ± 0,11 *Δ♥	0,65 ± 0,1	0,54 ± 0,05
Капсула	1,27 ± 0,09 *	0,53 ± 0,05 *Δ	1,07 ± 0,05 *	1,07 ± 0,05 *	2,29 ± 0,09 *Δ♥	2,04 ± 0,05 *Δ♥	1,82 ± 0,06	1,39 ± 0,08
Трабекулы	0,03 ± 0,01	0,5 ± 0,07 *Δ	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,02 *	0,08 ± 0,03	0,18 ± 0,06 Δ	0,05 ± 0,02	0,21 ± 0,06

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 4

Структурно-функциональные зоны	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
В-зона	47,15 ± 2,3	50,28 ± 2,75	43,52 ± 2,1	37,42 ± 3,5	45,24 ± 1,52	48,72 ± 1,41 ♥	49,93 ± 1,95	41,28 ± 2,51
Корковое вещество	33,3 ± 2,32	23,32 ± 1,56 *Δ	36,86 ± 2,46	50,7 ± 3,7	30,28 ± 1,03	22,42 ± 1,18 *♥	33,57 ± 1,37	49,56 ± 2,33
Мозговое вещество	64,5 ± 3,5	75,53 ± 4,28*	61,32 ± 2,55	47,7 ± 2,75	65,94 ± 1,33	74,65 ± 2,07 *♥	63,89 ± 1,32	48,3 ± 1,53
Корково-мозговой индекс	0,52 ± 0,03	0,31 ± 0,02 *Δ	0,6 ± 0,04	1,1 ± 0,06	0,46 ± 0,02 ♥	0,30 ± 0,02 *♥	0,53 ± 0,02	1,03 ± 0,05

Примечание: *Различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой (АГ) ($P \leq 0,05$); ♥ различия достоверны в сравнении с опытной группой (СК) ($P \leq 0,05$)

Приложение А

Таблица А. 5 – Цитоархитектоника структурно-функциональных зон лимфатических узлов опытных групп Антиген, Стволовые клетки, Антиген + Стволовые клетки и контроль в гиперпластический (I) и терминальный (II) период заболевания ($M \pm m$) (%)

Клеточные элементы	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Герминативный центр вторичных лимфоидных узелков								
Лимфобласты	10,14 ± 0,34*	9,6 ± 0,53*	14,03 ± 1,0*	6,56 ± 0,24	9,17 ± 0,41*♥	7,43 ± 0,35Δ	3,77 ± 0,17	6,82 ± 0,16
Средние лимфоциты	20,95 ± 0,5*	27,5 ± 0,62 *Δ	19,56 ± 1,09	16,41 ± 1,05 *	20,77 ± 0,78 *	16,52 ± 0,51 *Δ	16,0 ± 0,94	13,13 ± 0,3
Малые лимфоциты	60,51 ± 2,0 *	48,57 ± 1,47 *Δ	58,14 ± 1,62 *	70,71 ± 1,24	64,75 ± 2,5 *	67,44 ± 1,21 Δ	73,87 ± 1,12	72,44 ± 1,5
Макрофаги	2,21 ± 0,13	5,5 ± 0,15 *Δ	1,35 ± 0,14	1,1 ± 0,06 *	1,32 ± 0,08 *Δ	3,01 ± 0,09 ♥*Δ	1,8 ± 0,11	1,85 ± 0,08
Ретикулярные клетки	2,7 ± 0,13 *	3,1 ± 0,14	2,8 ± 0,18 *	2,83 ± 0,1	1,88 ± 0,07 *Δ♥	2,64 ± 0,16 *	3,3 ± 0,15	3,15 ± 0,16
Митотически делящ. клетки	2,81 ± 0,17*	4,9 ± 0,31 *Δ	3,63 ± 0,25 *	2,13 ± 0,13	1,91 ± 0,08 *Δ♥	2,59 ± 0,31 Δ	1,06 ± 0,07	2,24 ± 0,16
Нейтрофилы	0,68 ± 0,08 *	0,74 ± 0,08 *	0,48 ± 0,06 *	0,27 ± 0,05	0,21 ± 0,06 Δ♥	0,37 ± 0,04 Δ	0,21 ± 0,05	0,36 ± 0,07

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 5

Клеточные элементы	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Паракортикальная зона								
Лимфобласты	5,88 ± 0,5*	3,49 ± 0,1*Δ	1,4 ± 0,09*	0,26 ± 0,03	1,08 ± 0,14*Δ	0,22 ± 0,06Δ	2,26 ± 0,13	0,24 ± 0,05
Средние лимфоциты	15,8 ± 0,62*	18,44 ± 0,9 *	7,76 ± 0,23*	2,81 ± 0,12	11,23 ± 0,12 *Δ♥	3,12 ± 0,44 Δ	10,1 ± 0,43	2,39 ± 0,09
Малые лимфоциты	74,37 ± 1,98 *	68,6 ± 0,86 *Δ	87,57 ± 1,1	93,7 ± 2,49	84,02 ± 2,1Δ	92,35 ± 2,11 Δ	84,3 ± 1,87	94,43 ± 1,14
Макрофаги	1,13 ± 0,07*	5,3 ± 0,14 *Δ	0,96 ± 0,07	0,78 ± 0,06	1,07 ± 0,08 *	2,15 ± 0,22*Δ ♥	0,69 ± 0,08	0,97 ± 0,07
Ретикулярные клетки	2,56 ± 0,08	3,76 ± 0,12*Δ	2,13 ± 0,12	2,24 ± 0,09*	2,46 ± 0,2	1,96 ± 0,08Δ	2,5 ± 0,15	1,81 ± 0,06
Нейтрофилы	0,26 ± 0,03	0,41 ± 0,07*	0,18 ± 0,04	0,21 ± 0,04	0,14 ± 0,04	0,19 ± 0,05	0,16 ± 0,04	0,17 ± 0,04
Мозговые тязи								
Средние лимфоциты	9,08 ± 0,45 *	13,0 ± 0,63*Δ	14,17 ± 0,85 *	8,6 ± 0,58	23,4 ± 0,73 *Δ♥	14,42 ± 0,71 *♥	6,8 ± 0,37	6,85 ± 0,48
Малые лимфоциты	20,3 ± 1,0	15,32 ± 0,74* Δ	19,83 ± 1,23	30,0 ± 2,21	17,62 ± 0,77	25,33 ± 0,44 Δ	20,82 ± 1,13	32,0 ± 0,94

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 5

Клеточные элементы	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Плазмобласты	4,27 ± 0,19*	4,97 ± 0,42*	4,33 ± 0,22*	1,44 ± 0,08*	2,25 ± 0,2Δ♥	4,04 ± 0,13♥	2,94 ± 0,2	3,48 ± 0,15
Незрелые плазмобласты	21,12±0,51 *	20,3 ± 1,03*	21,95 ± 1,03*	11,37 ± 0,67	25,82 ± 1,14*Δ	20,11 ± 1,01*♥	15,1 ± 0,78	11,2 ± 0,64
Зрелые плазмобласты	36,82 ± 0,96 *	32,55 ± 1,13 *Δ	31,79 ± 0,67 *	43,33 ± 2,37	24,72 ± 0,92 *Δ♥	27,54 ± 2,02 *♥	48,0 ± 1,91	38,82 ± 1,0
Макрофаги	2,12 ± 0,09	5,56 ± 0,43 *Δ	1,97 ± 0,23	1,61 ± 0,16	2,05 ± 0,12	3,02 ± 0,21 *Δ♥	1,77 ± 0,16	2,1 ± 0,1
Ретикулярные клетки	3,52 ± 0,11	4,86 ± 0,3*Δ	3,74 ± 0,15	2,95 ± 0,19*	3,25 ± 0,2	4,04 ± 0,32 ♥	3,26 ± 0,21	3,84 ± 0,17
Митотически делящ.клетки	1,8 ± 0,11 *	2,39 ± 0,31*	1,67 ± 0,16 *	0,32 ± 0,07 *	0,63 ± 0,1 Δ♥	1,06 ± 0,08 Δ♥	0,61 ± 0,1	1,38 ± 0,09
Нейтрофилы	0,97 ± 0,11	1,07 ± 0,1*	0,54 ± 0,06	0,4 ± 0,07	0,23 ± 0,08Δ♥	0,45 ± 0,08Δ	0,65 ± 0,13	0,33 ± 0,06
Мозговые синусы								
Средние лимфоциты	15,07 ± 0,46 *	11,24 ± 0,54 *Δ	11,91 ± 0,53	9,27 ± 0,48*	22,79 ± 0,95 *Δ♥	18,13 ± 0,24 *Δ♥	12,03 ± 0,39	15,06 ± 0,68
Малые лимфоциты	25,22 ± 0,66 *	17,6 ± 0,78*Δ	25,17 ± 1,46*	20,19 ± 0,93*	32,1 ± 1,16Δ♥	27,42 ± 1,1Δ♥	39,56 ± 2,78	31,18 ± 1,2

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 5

Клеточные элементы	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Плазмобласты	1,92 ± 0,18*	2,67 ± 0,09*Δ	3,95 ± 0,28*	0,76 ± 0,11*	0,52 ± 0,11Δ♥	1,41 ± 0,07Δ♥	0,98 ± 0,19	1,16 ± 0,12
Незрелые Плазмоциты	14,96 ± 0,58*	17,5 ± 0,65*Δ	19,98 ± 0,94*	16,67 ± 0,86*	18,97 ± 0,97*Δ	15,94 ± 0,9	8,84 ± 0,45	12,53 ± 0,62
Зрелые плазмоциты	36,78 ± 1,1*	36,6 ± 1,19*	27,48 ± 1,25	40,2 ± 1,18*	19,11 ± 0,61 *Δ♥	27,59 ± 1,09 Δ♥	25,88 ± 1,84	30,22 ± 1,14
Макрофаги	2,32 ± 0,15 *	7,86 ± 0,52*Δ	4,35 ± 0,36	3,88 ± 0,3	2,08 ± 0,11*♥	3,15 ± 0,24 *Δ	5,16 ± 0,19	4,3 ± 0,23
Ретикулярные клетки	3,02 ± 0,15*	4,14 ± 0,24Δ	4,97 ± 0,25	6,0 ± 0,08*	3,54 ± 0,22*♥	5,22 ± 0,14 Δ♥	5,9 ± 0,26	4,7 ± 0,36
Нейтрофилы	0,55 ± 0,04 *	1,86 ± 0,15*Δ	1,02 ± 0,11	0,66 ± 0,05	0,38 ± 0,07 *♥	0,82 ± 0,09 Δ	1,06 ± 0,24	0,51 ± 0,07
Тучные клетки	0,15 ± 0,05*	0,57 ± 0,06 Δ	1,19 ± 0,08 *	0,6 ± 0,08 *	0,52 ± 0,11 Δ♥	0,31 ± 0,06 Δ♥	0,57 ± 0,15	0,35 ± 0,09

Примечание: *Различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой (АГ) ($P \leq 0,05$); ♥различия достоверны в сравнении с опытной группой (СК) ($P \leq 0,05$)

Приложение А

Таблица А. 6 – Относительные площади структурно-функциональных зон селезенки опытных групп Антиген, Стволовые клетки, Антиген + Стволовые клетки и контрольной группы в гиперпластический (I) и терминальный (II) период заболевания ($M \pm m$) (%)

Структурно-функциональные зоны	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Герминативный центр	$3,3 \pm 0,18^*$	$12,1 \pm 0,45^*$	$7,64 \pm 0,14^*$	$6,5 \pm 0,2^*$	$10,56 \pm 0,36^* \Delta \heartsuit$	$8,24 \pm 0,32^* \Delta \heartsuit$	$6,93 \pm 0,2$	$5,56 \pm 0,25$
Мантый	$8,72 \pm 0,38^*$	-	$9,13 \pm 0,15^*$	$10,14 \pm 0,24^*$	$15,67 \pm 0,41^* \Delta \heartsuit$	$12,35 \pm 0,28 \heartsuit$	$12,93 \pm 0,32$	$13,05 \pm 0,25$
Маргинальная зона	$6,02 \pm 0,34^*$	$16,24 \pm 0,29^*$	$17,77 \pm 0,27$	$22,0 \pm 0,34^*$	$13,74 \pm 0,37^* \Delta \heartsuit$	$20,03 \pm 0,56^* \Delta \heartsuit$	$18,37 \pm 0,26$	$24,04 \pm 0,41$
Центральная артерия	$0,4 \pm 0,05^*$	$0,2 \pm 0,03^*$	$1,49 \pm 0,06^*$	$1,09 \pm 0,07^*$	$0,34 \pm 0,04^* \heartsuit$	$0,98 \pm 0,07^* \Delta$	$0,86 \pm 0,06$	$0,48 \pm 0,02$
Периартериальная муфта	$1,05 \pm 0,05^*$	$1,33 \pm 0,04$	$2,83 \pm 0,08^*$	$3,19 \pm 0,13^*$	$1,33 \pm 0,05^* \Delta \heartsuit$	$1,7 \pm 0,06^* \Delta \heartsuit$	$1,88 \pm 0,04$	$1,38 \pm 0,09$
Тяжи красной пульпы	$11,83 \pm 0,34^*$	$10,92 \pm 0,75^*$	$10,83 \pm 0,11^*$	$15,44 \pm 0,32^*$	$12,65 \pm 0,25^* \heartsuit$	$12,8 \pm 0,25^* \heartsuit$	$14,0 \pm 0,35$	$28,51 \pm 0,91$
Синусы красной пульпы	$68,7 \pm 1,34^*$	$59,2 \pm 0,52^*$	$50,3 \pm 0,33^*$	$41,65 \pm 0,86^*$	$45,7 \pm 0,55 \Delta \heartsuit$	$43,92 \pm 0,85^* \Delta$	$45,03 \pm 0,37$	$26,96 \pm 0,64$

Примечание: *Различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой (АГ) ($P \leq 0,05$); \heartsuit различия достоверны в сравнении с опытной группой (СК) ($P \leq 0,05$)

Приложение А

Таблица А. 7 – Цитоархитектоника структурно-функциональных зон селезенки опытных групп Антиген, Стволовые клетки, Антиген + Стволовые клетки и контрольной группы в гиперпластический (I) и терминальный (II) период заболевания ($M \pm m$) (%)

Клеточные элементы	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Герминативный центр								
Лимфобласты	$3,93 \pm 0,23^*$	-	$2,47 \pm 0,15^*$	$1,55 \pm 0,09$	$3,66 \pm 0,28^*$	$3,07 \pm 0,32^{\heartsuit*}$	$1,65 \pm 0,12$	$1,6 \pm 0,11$
Средние лимфоциты	$16,71 \pm 0,7^*$	-	$10,55 \pm 0,54^*$	$9,51 \pm 0,37$	$15,3 \pm 0,73^{\heartsuit*}$	$11,9 \pm 0,69^{\heartsuit}$	$12,23 \pm 0,21$	$10,1 \pm 0,35$
Малые лимфоциты	$67,73 \pm 1,39$	-	$75,44 \pm 2,05$	$74,67 \pm 1,73^*$	$69,22 \pm 1,68$	$73,78 \pm 2,51^*$	$73,25 \pm 3,2$	$82,3 \pm 1,12$
Макрофаги	$4,24 \pm 0,2^*$	-	$5,0 \pm 0,41$	$4,17 \pm 0,26^*$	$4,16 \pm 0,32^*$	$4,0 \pm 0,1^*$	$6,55 \pm 0,49$	$3,0 \pm 0,15$
Ретикулярные клетки	$5,51 \pm 0,18$	-	$5,81 \pm 0,32$	$9,7 \pm 0,31^*$	$6,35 \pm 0,19\Delta$	$6,45 \pm 0,21^{\heartsuit*}$	$6,0 \pm 0,55$	$1,85 \pm 0,1$
Клетки на стадии митоза	$1,87 \pm 0,18^*$	-	$0,71 \pm 0,12$	$0,4 \pm 0,08^*$	$1,31 \pm 0,17^{\heartsuit*}$	$0,79 \pm 0,09^{\heartsuit}$	$0,3 \pm 0,1$	$1,17 \pm 0,18$
Маргинальная зона								
Средние лимфоциты	$12,77 \pm 0,46^*$	-	$10,29 \pm 0,59^*$	$12,65 \pm 0,7^*$	$12,13 \pm 0,5^*$	$14,3 \pm 0,51^*$	$4,16 \pm 0,42$	$4,72 \pm 0,2$
Малые лимфоциты	$77,67 \pm 1,41$	-	$77,06 \pm 3,0$	$70,5 \pm 2,18^*$	$77,5 \pm 1,6$	$75,34 \pm 2,18^*$	$84,45 \pm 4,81$	$90,15 \pm 2,3$

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 7

Клеточные элементы	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Маргинальная зона								
Макрофаги	3,49 ± 0,37	-	4,0 ± 0,27	3,31 ± 0,24	4,49 ± 0,18	3,24 ± 0,13	4,23 ± 0,34	3,4 ± 0,21
Ретикулярные клетки	6,08 ± 0,26	-	7,84 ± 0,25	13,54 ± 0,87*	6,38 ± 0,26♥	7,11 ± 0,31*♥	7,15 ± 0,37	1,73 ± 0,19
Периартериальная муфта								
Средние лимфоциты	8,87 ± 0,49*	21,92 ± 0,92*	6,45 ± 0,37	9,38 ± 0,16*	11,55 ± 0,81Δ♥	11,14 ± 0,28Δ*♥	5,02 ± 0,31	4,78 ± 0,3
Малые лимфоциты	81,49 ± 2,17	48,91 ± 2,61*	83,3 ± 3,0	72,7 ± 2,29*	76,28 ± 2,64	75,68 ± 1,38*Δ	84,06 ± 3,32	89,54 ± 1,45
Макрофаги	3,25 ± 0,15	4,12 ± 0,12	4,58 ± 0,33	8,22 ± 2,57*	5,32 ± 0,35Δ	3,89 ± 0,33♥	4,9 ± 0,39	3,8 ± 0,26
Ретикулярные клетки	6,38 ± 0,15	11,71 ± 0,78*	5,65 ± 0,22	9,69 ± 0,28*	6,85 ± 0,23♥	9,3 ± 0,42*Δ	6,02 ± 0,56	1,88 ± 0,1
Эритробласты	-	13,35 ± 0,54	-	-	-	-	-	-
Тяжи красной пульпы								
Плазмобласты	2,45 ± 0,26	1,88 ± 0,16*	4,11 ± 0,21*	1,92 ± 0,17*	3,7 ± 0,25*Δ	2,41 ± 0,22*	1,67 ± 0,13	1,19 ± 0,1

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 7

Клеточные элементы	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Тяжи красной пульпы								
Незрелые плазмоциты	20,93 ± 1,15*	14,0 ± 1,25	15,51 ± 0,65*	12,0 ± 0,49	19,31 ± 1,49*	18,15 ± 0,72*Δ♥	10,0 ± 0,63	11,0 ± 0,35
Зрелые плазмоциты	60,64 ± 2,0	48,65 ± 1,87*	58,43 ± 0,45*	62,59 ± 0,81*	57,75 ± 2,41	62,59 ± 2,87*Δ	66,2 ± 2,05	71,28 ± 1,83
Клетки на стадии митоза	0,52 ± 0,11	0,61 ± 0,13	1,49 ± 0,13*	0,82 ± 0,11*	1,05 ± 0,13*Δ	0,73 ± 0,13	0,43 ± 0,1	0,34 ± 0,08
Макрофаги	5,82 ± 0,23*	6,13 ± 0,45*	8,95 ± 0,31	11,43 ± 0,37	7,93 ± 0,33Δ	5,75 ± 0,23*♥	8,67 ± 0,58	11,56 ± 0,46
Ретикулярные клетки	6,23 ± 0,21*	13,23 ± 0,63*	7,74 ± 0,2	9,2 ± 0,22*	7,9 ± 0,46Δ	9,22 ± 0,46*Δ	8,52 ± 0,55	2,66 ± 0,28
Нейтрофилы	0,82 ± 0,11*	1,15 ± 0,15	1,59 ± 0,16*	0,96 ± 0,1	0,52 ± 0,11*♥	0,98 ± 0,13	3,69 ± 0,34	1,67 ± 0,17
Мегакариоциты	0,5 ± 0,07	0,4 ± 0,07	0,45 ± 0,06	0,19 ± 0,05	0,16 ± 0,07	0,29 ± 0,05	0,29 ± 0,11	0,17 ± 0,06
Эритробласты	2,1 ± 0,17*	13,96 ± 0,54*	1,73 ± 0,2*	0,88 ± 0,16*	1,67 ± 0,18*	1,07 ± 0,16*	0,53 ± 0,16	0,14 ± 0,05
Синусы красной пульпы								
Средние лимфоциты	7,2 ± 0,37	8,58 ± 0,52*	5,17 ± 0,17*	2,94 ± 0,25*	4,78 ± 0,22*Δ	6,57 ± 0,36*♥	7,43 ± 0,4	5,79 ± 0,25

Приложение А

Продолжение Таблицы А. 7

Клеточные элементы	АГ		СК		АГ + СК		К	
	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)	(I)	(II)
Синусы красной пульпы								
Малые лимфоциты	23,61 ± 1,55	14,0 ± 0,9*	20,45 ± 0,22*	12,38 ± 0,46*	19,7 ± 0,95*	15,06 ± 0,57*♥	26,88 ± 1,89	21,54 ± 1,06
Незрелые плазмоциты	8,95 ± 0,52*	14,13 ± 1,07*	7,27 ± 0,37*	7,12 ± 0,44*	9,86 ± 0,36*♥	14,85 ± 0,38*♥	5,04 ± 0,18	1,92 ± 0,16
Зрелые плазмоциты	44,47 ± 1,72*	31,72 ± 1,66*	51,2 ± 0,9*	48,66 ± 1,6	45,16 ± 1,66*	47,3 ± 1,5Δ	37,1 ± 1,43	49,12 ± 0,97
Макрофаги	5,47 ± 0,31*	5,07 ± 0,5*	6,9 ± 0,12*	11,1 ± 0,56*	9,12 ± 0,11Δ*♥	5,87 ± 0,43*♥	11,97 ± 0,61	15,18 ± 0,47
Ретикулярные клетки	6,44 ± 0,25	7,38 ± 0,7*	7,73 ± 0,12*	15,76 ± 1,1*	7,51 ± 0,34	7,13 ± 0,23*♥	7,13 ± 0,11	3,63 ± 0,19
Нейтрофилы	0,64 ± 0,1*	1,02 ± 0,13*	0,94 ± 0,11*	1,22 ± 0,16*	0,75 ± 0,18*	1,69 ± 0,14*Δ	3,59 ± 0,2	2,41 ± 0,21
Мегакариоциты	0,49 ± 0,09	0,26 ± 0,09	0,06 ± 0,03	0,23 ± 0,06	0,22 ± 0,11	0,21 ± 0,05	0,35 ± 0,11	0,16 ± 0,06
Эритробласты	2,72 ± 0,3*	17,81 ± 1,0*	0,31 ± 0,06	0,6 ± 0,14	2,91 ± 0,27*♥	1,31 ± 0,2*Δ♥	0,5 ± 0,1	0,25 ± 0,07

Примечание: *Различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P \leq 0,05$); Δ различия достоверны в сравнении с опытной группой (АГ) ($P \leq 0,05$); ♥различия достоверны в сравнении с опытной группой (СК) ($P \leq 0,05$)

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Новосибирский государственный аграрный университет»
Факультет ветеринарной медицины

«Применение препарата Субалин для повышения иммунного
статуса телят в хозяйствах неблагополучных по лейкозу крупного
рогатого скота»

Новосибирск 2021

Применение препарата Субалин для повышения иммунного статуса телят в хозяйствах, неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота: Рекомендации. – Новосибирск, 2021. – 19 с.

ISBN

В настоящих рекомендациях рассматривается препарат Субалин (пробиотик на основе рекомбинантного штамма *V. Subtilis*). Представлены результаты исследования его воздействия на иммунную систему животных, носителей ВЛКРС и экспериментально зараженных вирусным лейкозом мышей.

Рекомендации рассчитаны на ветеринарных специалистов животноводческих хозяйств. Также могут использоваться в профильных вузах в учебном процессе при изучении вопросов ветеринарной эпизоотологии и иммунологии.

Рекомендации подготовили:

Русакова Я.Л., Магер С.Н., Агаркова Т.А.

Рецензент:

д.в.н., профессор Шкиль Н.А.

д.в.н., профессор, Ноздрин Г. А.

Ответственный за выпуск

к.в.н., доцент, Глущенко Е.Е.

Рассмотрено и утверждено на Ученом совете факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ (протокол № 10 от 03.06.2021).

ВЫПИСКА

из протокола заседания Ученого совета

Факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ
от 03 июля 2021 г. Протокол № 10

ПРИСУТСТВОВАЛИ: 13 членов ученого совета из 16.

Горб Н.Н., Барсукова Е.Н., Вольф В.Т., Глущенко В.В., Зайко О.А.,
Зубарева И.М., Колганова О.А., Лазарева М.В., Логинов С.И., Магер С.Н.,
Наумкин И.В., Ноздрин Г.А., Стацевич Л.Н.

СЛУШАЛИ.

Магера С.Н. Представившего рекомендации «Применение препарата Субалин для повышения иммунного статуса телят в хозяйствах неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота». Авторы: Русакова Я.Л., д-р ветеринар. наук, проф. Магер С.Н., канд. ветеринар. наук, доц. Агаркова Т.А. Рецензенты: д-р ветеринар. наук, проф. Шкиль Н.А., д-р ветеринар. наук, проф. Ноздрин Г.А.

РЕШИЛИ.

Рекомендации «Применение препарата Субалин для повышения иммунного статуса телят в хозяйствах неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота». Авторы: Русакова Я.Л., д-р ветеринар. наук, проф. Магер С.Н., канд. ветеринар. наук, доц. Агаркова Т.А. – утвердить.

ПРОГОЛОСОВАЛИ: «За» - единогласно.

Зам. председателя

Ученого совета _____ / В.В. Глущенко

Верно: секретарь

Ученого совета _____ / Н.Н. Горб/



Открытое Акционерное Общество**«Решетовское»**

Новосибирская область, Кочковский район, с. Решёты ул. Комарова, 21. Телефон-
факс-8-383-56-25-121. Р/счет40702810125090000004, К/счет 30101810700000000784
Новосибирский РФ АО « Россельхозбанк» ОКПО 0595772 ОГРН 1035405011102
ИНН 5426103004 БИК 045004784.Электронный адрес: surinamasha2016@yandex.ru

СПРАВКА**О внедрении результатов исследования**

Представленные рекомендации «Применение препарата Субалин дл
повышения иммунного статуса телят в хозяйствах неблагополучных п
лейкозу крупного рогатого скота» (авторы Русакова Я.Л., Магер С.Н
Агаркова Т.А.) содержат научно обоснованную информацию, интересную дл
ветеринарных специалистов. Используются в проведении оздоровительнс
профилактических мероприятий от лейкоза крупного рогатого скота.

Директор ОАО «Решетовское»



В.Н. Прохоренко

16.08.2021 г.



ООО «Ярковское»

632472, НСО, Доволенский район, с. Ярқы, ул. Ливенская, 29.; ИНН 5420103858, КЭП
542001001, ОГРН 1105456000430; Ф/с 40702810825180000023, Новосибирский ФФ АО «Россельхозбанк»;
БИК 045004784, к/сч 30101810700000000784

СПРАВКА

О внедрении результатов исследования

Рекомендации «Применение препарата Субалин для повышения иммунного статуса телят в хозяйствах неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота», разработанные коллективом авторов: Русакова Я.Л., Магер С.Н., Агаркова Т.А. представляют интерес для ветеринарных специалистов и использовались в практическом животноводстве при оздоровлении хозяйства от лейкоза.

Директор ООО «Ярковское»

15.08.2021 г.



С. П. Михеев

ЗАО «Озёрское»

НСО Каргатский район с. Мамонтовое р/с 40702810725120000002
Новосибирский РФ АО «Россельхозбанк», БИК 045004784
к/сч 30101810700000000784 Код ОКОНХ 21110 ОКПО 00596702
ИНН 5423100090 КПП 542301001
Тел/факс: 8-383-65-42-336, 42-310 эл.почта: ozerskoe@mail.ru

СПРАВКА

О внедрении результатов исследования

В рекомендациях «Применение препарата Субалин для повышения иммунного статуса телят в хозяйствах неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота» (Русакова Я.Л., Магер С.Н., Агаркова Т.А., 2021) представлена актуальная информация по повышению устойчивости к заболеванию вирусным лейкозом телят до 6-месячного возраста. Данное пособие используется ветеринарными специалистами при выращивании телят.

Генеральный директор
ЗАО «Озерское»
09.09.2021 г.



С.А. Гайдук