

УДК 615.37:616.98:578:619  
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2021.4.41

## ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРИ ТЕРАПИИ АЛЕУТСКОЙ БОЛЕЗНИ НОРОК АЛЛОФЕРОНОМ

Сухинин А.А.1 - д.б.н., проф. (ORCID 0000-0002-1245-3440),  
Гумберидзе М.М.1 – асп. (ORCID 0000-0003-0513-4430), Никонов Б.А.2 – ведущий специалист, Гусев В.И.2 - ведущий специалист по перспективным исследованиям (ORCID 0000-0001-5551-1287), Евсегнеева И.В.2 - директор по развитию (ORCID 0000-0001-5435-8938), Беккер Г.П.2 - генеральный директор (ORCID 0000-0001-6302-450X).  
(1-ФГБОУ ВО СПбГУВМ, 2 - ООО «Аллоферон»)

**Ключевые слова:** аллоферон, иммунокомплексные болезни, антитело-зависимое усиление, Алеутская болезнь норок

**Key words:** alloferon, immunocomplex diseases, antibody-dependent enhancement, Aleutian mink disease.



### РЕФЕРАТ

На сегодняшний день, вирусный плазмодитоз норок широко распространен по всему миру, в связи с отсутствием эффективных средств лечения. Ключевую роль в исходе болезни, зачастую играет поражение почек, связанное с развитием гломерулонефрита в результате гипергаммаглобулинемии. Именно по этой причине актуальной становится проблема поиска средства лечения и профилактики Алеутской болезни норок. Исследования проводили на норках породы сапфир в возрасте от 30 до 40 дней больных вирусным плазмодитозом, подтверждённым в реакции иммуноэлектроосмосфореза. Подопытная и контрольная группы состояли из 20 животных в каждой. Норкам подопытной группы вводили подкожно двукратно с интервалом в 6 дней аллоферон в дозе 0,5 мг на голову, а норкам контрольной группы – физиологический раствор (NaCl 0,9%) в таком же объеме и кратности. На протяжении исследования вели учет павших норок, по окончании эксперимента – проводили гистологические исследования внутренних органов. Проведенный опыт показал, что применение аллоферона привело к сокращению смертности, а так же снижению в несколько раз интенсивности плазмодитарной инфильтрации органов и тканей у подопытных норок.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время Алеутская болезнь норок представляет серьезную угрозу для молодой и перспективной для нашей страны отрасли звероводства, нанося колоссальный ущерб, связанный с высокой смертностью, отсутствием способов лечения, профилактики и как следствием низкой рентабельностью производства. В большинстве случаев, гибель животных связана с развитием гломерулонефрита

вследствие повышения уровня иммуноглобулинов и накопления большого количества иммунных комплексов, циркулирующих в крови, которые фиксируются на базальной мембране почечных клубочков и нарушают их циркуляцию [1]. Последующий их фагоцитоз тканевыми макрофагами, а так же активация системы комплемента, привлекающая дополнительные фагоциты, может сопровождаться выделением лизосомальных

ферментов, в результате чего происходит развитие реактивного воспаления и дистрофических изменений [3,4]. Подобное расстройство иммунного статуса серьезно осложняет патогенез основного патологического процесса, а полученные повреждения нередко оказываются решающими в исходе болезни. В связи с вышесказанным, актуальной становится проблема поиска средства лечения и профилактики вирусного плазмодитоза норок. Перспективным направлением на данный момент является использование противовирусных и иммуномодулирующих средств на основе аллоферона - синтетического олигопептида, состоящего из 13 L-аминокислот, разработанным отечественным ученым С.И. Чернышом [2]. Аллоферон выступает индуктором синтеза эндогенных интерферонов, способен локально, в присутствии антигена, активировать систему естественных киллеров (NK/NC-клетки) способен стимулировать распознавание и лизис дефектных клеток цитотоксическими лимфоцитами, а также способствует восстановлению функциональной активности Т-клеточного иммунитета, что важно для реализации противовирусного ответа [2,6,7].

В связи с вышесказанным, целью нашего исследования являлось изучение влияния аллоферона на гистологические изменения внутренних органов на примере больных Алеутской болезнью норок.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследование проводили на базе звероводческого хозяйства в Северо-Западном федеральном округе. Объектами исследования явились норки породы сапфир, в возрасте от 30 до 40 дней, с подтвержденным в реакции иммуноэлектросмофореза (РИЭОФ) вирусным плазмодитозом [5]. Две группы норок (по 20 животных в каждой - 10 самцов и самок) содержались в одинаковых условиях, соответствовавших зооветеринарным требованиям, с соблюдением стандартного рациона кормления. Животным из подопытной группы №1 подкожно вводили аллоферон в дозе 0,5 мг на голову двукратно с интервалом в 6 дней, а норкам из кон-

трольной группы №2 вводили физиологический раствор (NaCl 0,9%) в таком же объеме и кратности. На протяжении 6 месяцев исследования, вели учет павших норок, а по окончании эксперимента, в период забоя основного поголовья, оставшихся зверьков в возрасте 190 дней подвергали диагностическому убою и отбирали почки, печень, селезенку и половые органы для дальнейшего гистологического исследования. Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы Statistika 10.0, (Stat.Soft, Inc., США) и Microsoft Office Excel 2016. Органы отбирали целиком не позднее 10–15 минут после убоя. Материал фиксировали в 10% буферном растворе формалина в течение 24-48 ч при температуре 18-25°C и по общепринятой методике заливали в парафин. Срезы изготавливали на микротоме, толщину препарата устанавливали в диапазоне 5-7 мкм, приклеивали к стеклам и окрашивали гематоксилин-эозином. Анализ полученных препаратов проводили под микроскопом ЛОМО Микромед-5, микрофотографии сделаны с помощью камеры МС-3; фото и анализ изображений сделаны в программе MCview.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

На протяжении всего эксперимента сохранность в подопытной группе составила 100 %, а в контрольной - 75%.

Гистологический анализ структуры почек животных контрольной группы показал наличие мезангиальной пролиферации, отека клубочков, плохо различимых капиллярных петель (рис.1), а также лимфоплазмодитарной инфильтрации – характерных признаков гломерулонефрита. В мозговом веществе встречались очаговые, местами сливающиеся кровоизлияния и микроскопические участки кальциноза. У норок в подопытной группе также наблюдалось лимфо-плазматическая инфильтрация, и признаки пролиферации мезангиальных клеток, однако в значительно меньшей мере, чем у контроля. На рисунке 2 видно, что увеличение мезангиального матрикса и облитерация просветов капилляров выражены

в меньшей степени, чем у контрольных животных.

Гистологические срезы печени животных контрольной группы позволяют утверждать о наличии тотальной гидропической дистрофии гепатоцитов и очаговой лимфо-плазматической инфильтрации стромы (рис.3). Встречалась умеренная гиперплазия эпителия желчевыводящих протоков, кровенаполненные синусоидные капилляры. В группе норок с применением аллоферона данные изменения были менее выраженные.

В селезенке у всех животных обнару-

жили гиперплазию. Вокруг кровеносных сосудов имелись очаговые скопления большого количества плазматических клеток.

На гистологических срезах яичников самок контрольной группы были обнаружены все виды фолликулов, притом, что количество погибших ооцитов преобладало. В группе подопытных у самок число примордиальных фолликулов было значительно больше по сравнению с атретическими.

Лимфоцитарно-плазматическая инфильтрация была в 2,5

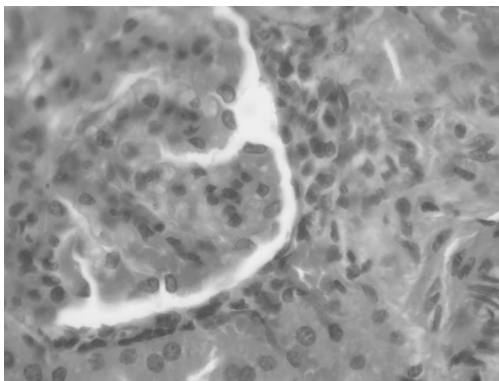


Рис. 1. Прлиферация мезангиальных клеток и увеличение мезангиального матрикса. Капиллярные петли плохо различимы у норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином ЛОМО Микромед-5, увеличение  $\times 40$ ).

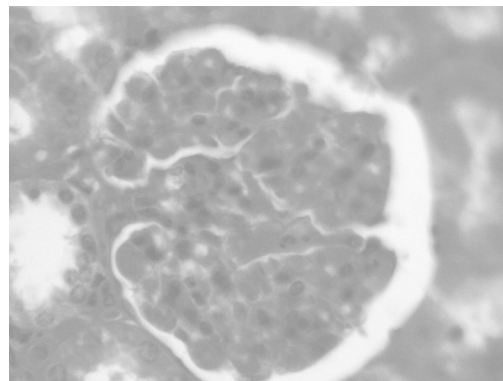


Рис. 2. Прлиферация мезангиальных клеток и меньшая степень облитерации капилляров у норок подопытной группы (окрашивание гематоксилином и эозином ЛОМО Микромед-5, увеличение  $\times 40$ ).

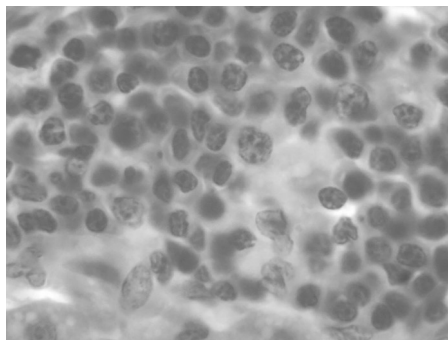


Рис. 3. Плазмоциты в печени норок контрольной группы (окрашивание гематоксилином и эозином ЛОМО Микромед-5, увеличение  $\times 100$ ).

– 3 раза менее выражена, чем у контрольных животных. У самцов контрольной группы в извитых канальцах семенников присутствовали очаги лимфо-плазмацитарной инфильтрации. В подопытной группе данные изменения носили менее выраженный характер.

#### ВЫВОДЫ

Проведенные нами исследования показали, что у зверьков в эксперименте развились типичные для Алеутской болезни лимфоплазмацитарная инфильтрации органов и тканей, тотальная гидропическая дистрофия гепатоцитов, гиперплазия соединительной ткани в селезенке, а также признаки присущие развитию гломерулонефрита. Однако характер данных изменений в группе норок с применением аллоферона был гораздо менее выражен. Кроме того, общая картина снижения интенсивности изменений, полнокровие кровеносных сосудов, отсутствие очагов кровоизлияний, низкая степень апоптоза ооцитов, может свидетельствовать о регенерации и восстановлении функций повреждённых органов.

Проведенные исследования показали высокую эффективность применения аллоферона при Алеутской болезни норок. Изменения внутренних органов у животных в подопытной группе оказались менее выражены, чем в контрольной и более характерны для выздоравливающих. На основе чего можно сделать заключение, о целесообразности применения средств с аллофероном при вирусном плазмацитозе, для снижения экономического ущерба от данной болезни.

#### ASSESSMENT OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN INTERNAL ORGANS IN THE TREATMENT OF ALEUTIAN MINK DISEASE WITH ALLOFERON

A.A. Sukhinin1 – Dr. Habil. (Biol. Sci.), professor, Gumberidze M.M.1 - Postgraduate student, Gusev V. I.2 - leading specialist in advanced research, Evsegneeva I. V.2 - Development Director, Nikonov B. A.2 - leading specialist, Becker G. P.2 - General Director.

(1-St. Petersburg State University of Veterinary Medicine; 2 – LLC «Alloferon»)

#### ABSTRACT

Nowdays, viral plasmocytosis of mink is widespread all over the world, due to the lack of effective treatments. A key role in the outcome of the disease is often played by kidney damage associated with the development of glomerulonephritis as a result of hypergammaglobulinemia. It is for this reason that the problem of finding a remedy for the treatment and prevention of Aleutian mink disease becomes urgent. The studies were carried out on mink of the sapphire breed at the age of 30 to 40 days in patients with viral plasmocytosis, confirmed by molecular genetic analysis. The experimental and control groups consisted of 20 animals each. The minks of the experimental group were injected subcutaneously twice with an interval of 6 days with alloferon at a dose of 0.5 mg per head, and the minks of the control group were injected with saline solution (NaCl 0.9%) in the same volume and multiplicity. During the study, records of fallen minks were kept. At the end of the experiment, histological studies of internal organs were carried out. The conducted experience showed that the use of alloferon led to a reduction in mortality, as well as a several-fold decrease in the intensity of plasmocytic infiltration of organs and tissues in experimental minks.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Инфекционные болезни животных: учеб. пособие / Б. Ф. Бессарабов, А. А. Вашутин, Е. С. Воронин [и др.]. — М.: Колос, 2007. — 671 с
2. Патент № 2 172 322 РФ, МПК С 07 К 7/06, 7/08, А 61 К 38/08, 38/10, А 61 Р 37/02 Черныш С.И., Ким Су Ин., Беккер Г.П., Махалдиани Н.Б., Хоффманн Ж., Бюле Ф. Аллофероны-иммуномодулирующие пептиды; заявитель и патентообладатель Энтофарм Ко., Лтд. №99127725/04; заявл. 27.12.1999; опубл. 20.08.2001;
3. Тирикова, О.В. Гломерулонефриты: учеб. пособие / О.В. Тирикова, И.А. Филатова: под ред. Н. М. Козловой. ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, Кафедра факультетской терапии. – Иркутск: ИГМУ, 2017. – 44с.
4. Хронический гломерулонефрит: клиника, диагностика, лечение на амбулатор-

ном этапе: учеб. пособие / С.М. Лобанова, М.С. Булгаков, А.Г. Автандилов, Н.А. Михайлова; ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования». – М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2016. – 38 с.

5. Сухинин, А.А. Лабораторная диагностика вирусных болезней: учеб. пособие / А.А. Сухинин. – Санкт-Петербург: 2019. -124с.

6. The effect of alloferon on the enhancement of NK cell cytotoxicity against cancer

via the up-regulation of perforin/granzyme B secretion. / S. Bae, K. Oh, H. Kim [et al] // Immunobiology. - 2013. - Vol. 218(8). - P. 1026-33.

7. Antibody-dependent cell cytotoxicity: immunotherapy strategies enhancing effector NK cells / MC Ochoa, L. Minute, I. Rodriguez, [et al] // Immunol Cell Biol. - 2017. - Vol. 95(4). – P. 347-355.

# ИНФОРМАЦИЯ

**По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятий при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.**

**Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.**

**Тел/факс (812) 365-69-35,  
Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49,  
e-mail: 3656935@gmail.com**