

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ БИОСПОРИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМОРФНОЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

Л. И. ДРОЗДОВА,

доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой,  
Уральский государственный аграрный университет  
(620075, г. Екатеринбург, ул. К. Либкнехта, д. 42)

Л. И. ТИМИНА,

соискатель, научный сотрудник,

А. В. САМЕДОВА,

кандидат медицинских наук, 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства  
обороны РФ

(620048, г. Екатеринбург, ул. Звездная, д. 1; тел.: 8 (343) 256-00-88)

**Ключевые слова:** иммобилизационный стресс, биоспорин, иммунная система, полиморфноядерные лейкоциты.

Актуальность настоящей работы обусловлена низкой адаптационной способностью сельскохозяйственных животных к воздействию многочисленных негативных факторов внешней среды, противоречащих естественным физиологическим особенностям макроорганизма. Предупреждение или минимизация отрицательных последствий стрессов является одним из важнейших факторов сохранения здоровья, повышения продуктивности животных и снижения затрат на получение продукции. Однако в большинстве случаев используемые в ветеринарии лекарственные средства, помимо своих положительных качеств, обладают рядом побочных эффектов, что является существенным недостатком, особенно при необходимости их длительного использования. Поэтому применяемые на сегодняшний день в животноводстве фармакологические препараты не способны в полной мере решить проблемы дезадаптации организма животных к воздействию многочисленных негативных факторов. Учитывая данное обстоятельство, становится очевидной необходимость поиска лекарственных средств, применение которых позволило бы ограничить чрезмерную стресс-реакцию организма животных и вызываемые ее негативным действием нарушения со стороны иммунной системы и нормофлоры кишечника. Перспективными средствами предупреждения и снижения негативных последствий стрессов являются пробиотики, которые до недавнего времени использовали в основном для коррекции микрофлоры желудочно-кишечного тракта. В настоящей работе изучено влияние пробиотического препарата биоспорин на адаптивные возможности иммунной системы организма экспериментальных животных при их многократной иммобилизации. На основании полученных результатов установлено, что системное хроническое ограничение движения мышей приводит к снижению поглотительной способности и метаболической активности полиморфноядерных фагоцитов.

## THE RESEARCH OF THE INFLUENCE OF BIOSPORIN ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE POLYMORPH NUCLEAR BLOOD LEUKOCYTES OF LABORATORY ANIMALS UNDER THE IMMOBILIZATION STRESS

L. I. DROZDOVA,

doctor of veterinary science, professor, honored scientist of Russia, head of the department,  
Ural State Agrarian University

(42 K. Libknehta Str., 620075, Ekaterinburg)

L. I. TIMINA,

applicant, researcher,

A. V. SAMEDOVA, candidate of medical sciences,

48<sup>th</sup> research institute for the Ministry of Defence of the Russian Federation

(1 Zvezdnaya Str., 620048, Ekaterinburg; tel.: +7 (343) 256-00-88)

**Keywords:** immobilization stress, biosporin, immunity system, polymorph nuclear neutrophils.

The relevance of this work is due to the low adaptive capacity of farm animals to the effects of numerous negative factors of the environment, contrary to the natural physiological characteristics of the microorganism. Prevention or minimization of the negative effects of stress is one of the most important factors in maintaining health, increasing the productivity of animals and reducing product costs. At the present time, drugs are commonly used to ease the adaptation of stressful conditions among the farm animals. However, in most cases, drugs used in veterinary science in addition to its positive qualities have several side effects, which is a significant disadvantage especially for their durable use. In view of this fact, it becomes necessary to find drugs, the use of which would help to limit not only the excessive stress response of the animal organism, but also the negative effect it causes on the functioning of the immune system and intestinal normal flora. This paper investigates the influence of probiotic preparation's "biosporin" on adaptive capacity of constitution's immunity system of laboratory animals by their prolonged immobilization. On the basis of the results it was established that systematic chronic limitation of movement in mice results in reduction of absorbing's capability and metabolic activity of polymorph nuclear phagocytes. The use of "biosporin" by testing the reproduction model of immobilization stress positively influences functional activity of polymorph nuclear neutrophils.

Положительная рецензия представлена И. А. Лебедевой, доктором биологических наук, доцентом,  
ведущим научным сотрудником отдела промышленного производства  
Уральского научно-исследовательского ветеринарного института.

В современных условиях сельскохозяйственные животные постоянно подвергаются воздействию множества стрессовых факторов, как физических, так и психогенных. Стресс снижает резистентность животных, ведет к заболеваемости и падежу, а в конечном итоге – к значительному экономическому ущербу.

Известно, что различные по природе стрессовые факторы трансформируются в общее неспецифическое звено патогенеза многих заболеваний, которое дезорганизует работу различных органов и систем макроорганизма, истощая антистрессовые механизмы защиты. Одной из таких систем, которая становится первой мишенью при воздействии стрессоров, является иммунная система, исследование которой особенно актуально на фоне все возрастающих физиологических и психоэмоциональных нагрузок, связанных в животноводстве с внедрением новых технологий производства.

В последнее время появились все основания для рассмотрения деятельности иммунной системы при стрессе с функционированием кишечной микрофлоры. На основании теоретических и экспериментальных данных показано, что продолжительный или очень сильный стресс негативным образом влияет не только на иммунную систему, но и на нормальную микрофлору кишечника животных. Естественная кишечная нормофлора играет важную пусковую роль в механизме формирования специфического иммунитета и неспецифических защитных реакций организма. В свою очередь, микрофлора находится в прямой зависимости от иммунного статуса макроорганизма. Нарушение равновесия в результате воздействия стрессоров в одной из систем сразу приводит к нарушению равновесия в другой. Поэтому своевременная коррекция кишечной микрофлоры и/или стимулирование иммунной системы имеет большое значение для устойчивости организма животного к воздействию повреждающих факторов.

Увеличение продолжительности и интенсивности воздействия раздражителей вызывает адаптивный эффект стресс-реакции. При низкой адаптационной способности животных снижается их продуктивность, повышается расход кормов и, как следствие, животноводческие предприятия и фермы несут значительные экономические потери. Поэтому повышение адаптивных возможностей организма животных является наиболее мощным механизмом профилактики возникновения патологического состояния.

В связи с этим, одной из основных задач современной ветеринарии является изыскание средств, которые увеличили бы возможности адаптации и устойчивости организма животного к воздействию экстремальных факторов.

Для предупреждения стресса и снижения его отрицательных последствий, повышения общей ре-

зистентности и продуктивности животных, наряду с оптимизацией условий содержания и кормления, предусматривается использование транквилизаторов, иммуностимуляторов, стресс-корректоров и других фармакологических препаратов и биологически активных добавок.

Анализ научной литературы по аспектам фармакологической адаптации заставляет пересмотреть методы коррекции стрессовых состояний сельскохозяйственных животных, что обусловлено рядом побочных эффектов лекарственных средств, используемых в ветеринарии для купирования стрессов [1–3].

При этом все большее внимание ученых и специалистов-практиков привлекают пробиотики, что связано, в первую очередь, с их широким применением в качестве средств лечения острых кишечных инфекций и дисбактериозов различной этиологии у сельскохозяйственных животных [4, 5].

В последнее время в научной литературе все чаще встречаются сообщения (особенно в области ветеринарии и спортивной медицины) об успешном применении пробиотических препаратов в качестве адаптогенов при стрессовых состояниях.

Анализ научных работ последних двух десятилетий свидетельствует о положительном действии пробиотиков на организм человека и животных. Некоторые пробиотические препараты могут повышать устойчивость организма к гипоксии, радиации, жаре, холоду и другим негативным воздействиям, они снимают ощущение усталости и обеспечивают хорошее самочувствие. Под их действием мышечная работа характеризуется более экономичным расходом энергетических ресурсов организма, усиливаются окислительные процессы, улучшается энергетический обмен [6–8]. Среди огромного количества пробиотиков большую популярность завоевал препарат биоспорин, созданный на основе 2-х штаммов спорообразующих бактерий – *B. subtilis* и *B. licheniformis*, обеспечивающих комплексный механизм действия. Положительное действие пробиотика обусловлено, с одной стороны, выраженной антагонистической активностью биоспорина по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, с другой – его иммуностимулирующим влиянием на макроорганизм.

Учитывая фармакологическое действие биоспорина, а также тот факт, что основными мишенями при воздействии стресса становятся иммунная система и микрофлора желудочно-кишечного тракта, представлялось актуальным изучить его влияние на адаптивные реакции организма лабораторных животных при экспериментальном стрессе.

Известно, что адаптационные механизмы макроорганизма слагаются из неспецифических компонентов, показателями которых могут выступать раз-

личные иммунологические параметры. В последние годы усиленно развиваются исследования, направленные на изучение изменений функциональных свойств лейкоцитов крови как показателя адаптивности организма.

Особое внимание с этих позиций привлекают клетки – эффекторы естественной резистентности организма, в частности, нейтрофильные фагоциты. Многообразные функции фагоцитирующих клеток, такие как фагоцитарная, метаболическая активность, безусловно, заслуживают внимания в качестве информативных показателей состояния адаптационных систем организма.

**Цель и методика исследований.** Цель данной работы заключалась в изучении влияния биоспорина на функциональную активность полиморфноядерных лейкоцитов (ПЯЛ) крови лабораторных животных в условиях иммобилизационного стресса.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- исследовать влияние биоспорина на поглотительную активность ПЯЛ в крови экспериментальных животных в условиях хронического иммобилизационного стресса;

- исследовать влияние биоспорина на кислород-зависимый потенциал ПЯЛ в условиях хронического иммобилизационного стресса.

Для выявления адаптационных возможностей организма животного к повреждающим факторам нами была использована экспериментальная модель иммобилизационного стресса (ИС).

Модель ИС создавали методом фиксации животных в положении на спине в течение 10 суток. Первый раз иммобилизацию проводили с 11<sup>00</sup> ч. до 13<sup>00</sup> ч. После двух часов отдыха вновь иммобилизовали и оставляли на ночь до 8<sup>00</sup> ч. утра. В последующие сутки иммобилизацию повторяли в том же временном режиме.

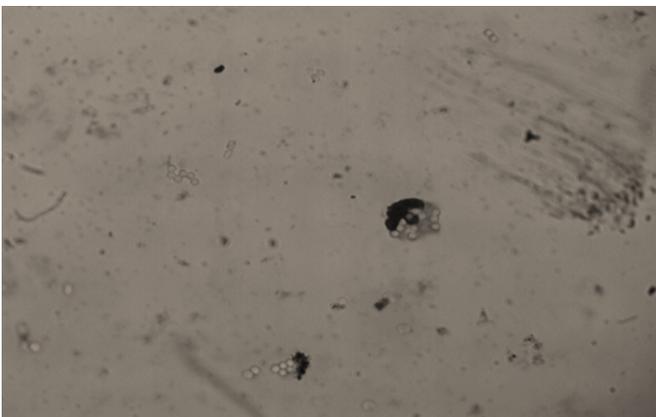


Рис. 1  
Нейтрофильный гранулоцит в крови белой мыши,  
фагоцитировавший частицы латекса, ув. × 1000

Fig. 1  
*Neutrophilic granulocyte phagocytosing latex particles in the blood of a white mouse, magnified by 1000*

В качестве исследуемого препарата, оказывающего возможное влияние на процессы адаптации животных в условиях хронического иммобилизационного стресса, использовали биоспорин сухой в ампулах, который представляет собой живые бактерии *B. subtilis* 3 и *B. licheniformis* 31, лиофильно высушенные в сахарозо-желатиновой среде. Одна доза препарата содержит живых микробных клеток *B. subtilis* 3 – от  $1 \times 10^9$  до  $8 \times 10^9$  и *B. licheniformis* 31 – от  $1 \times 10^8$  до  $2 \times 10^9$ .

Биоспорин вводили однократно внутривентрикулярно в дозе  $1 \times 10^6$  клеток на одно животное в течение 7 суток. На 8 сутки эксперимента мышью подвергали ИС, продолжительность которого составила 10 суток.

Исследования выполнены на 40 беспородных белых мышях обоего пола массой 18–22 г. При проведении экспериментальных исследований было сформировано 4 группы животных:

- в первую группу вошли животные, подвергнутые стрессу после курса введения биоспорина;
- вторую группу составили животные, перенесшие ИС без введения пробиотика;
- животные третьей группы получали биоспорин без стрессирования;
- в четвертую группу вошли интактные животные.

**Результаты исследований.** Влияние биоспорина на клеточные факторы иммунной системы экспериментальных животных в условиях иммобилизационного стресса оценивали по показателям поглотительной активности фагоцитов, которую определяли на модели поглощения латекса по общепринятой методике [9].

В качестве критерия поглотительной способности фагоцитов оценивали фагоцитарный показатель (ФП), указывающий на процент активных клеток на 100 фагоцитов, посчитанных в мазке крови, и фагоцитарное число (ФЧ), позволяющее оценить интенсивность фагоцитоза. На рис. 1 представлен нейтрофильный гранулоцит в крови белой мыши, фагоцитировавший частицы латекса.

Показатели поглотительной активности нейтрофилов в сыворотке крови лабораторных животных в условиях экспериментального хронического иммобилизационного стресса приведены на рис. 2.

Как видно на рис. 2, продолжительная иммобилизация животных второй группы угнетает поглотительную активность нейтрофилов периферической крови (НПК), о чем свидетельствуют показатели фагоцитоза, представленные в диаграмме. Значения ФП и АХ снижены в указанной группе более, чем на 50 % и 40 % соответственно по сравнению с таковыми у животных интактной группы.

У животных, подвергавшихся ИС после предварительного введения биоспорина, активность фагоцитов существенно повышена, что проявляется уве-

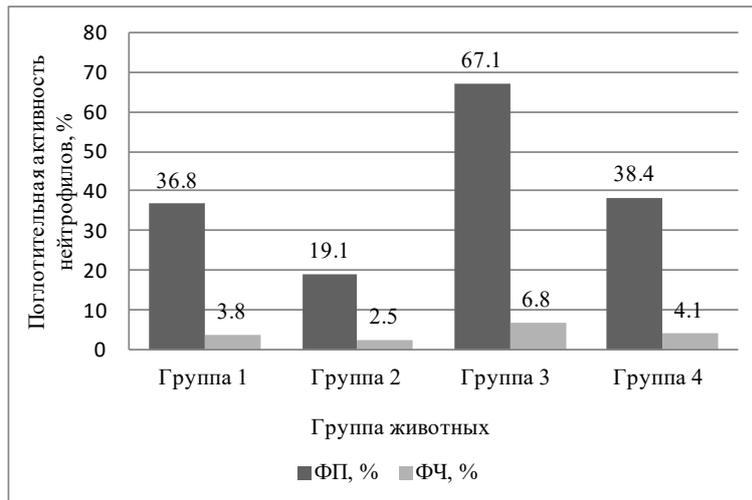


Рис. 2  
Показатели поглотительной активности нейтрофилов в крови лабораторных животных в условиях экспериментального хронического иммобилизационного стресса

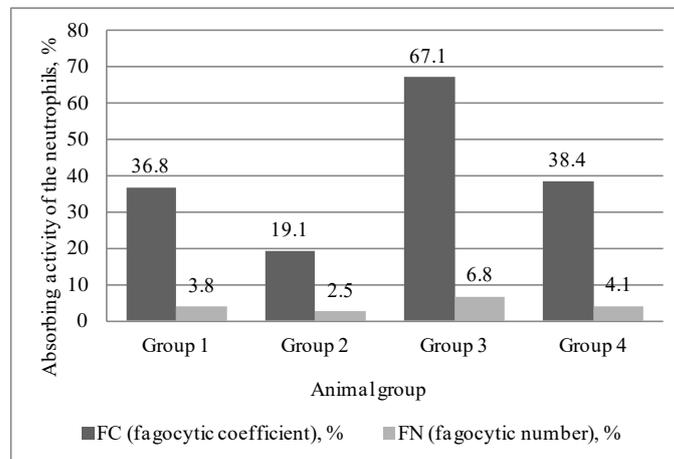


Fig. 2  
Indicators of absorption activity of neutrophils in the blood of laboratory animals under experimental chronic immobilization stress

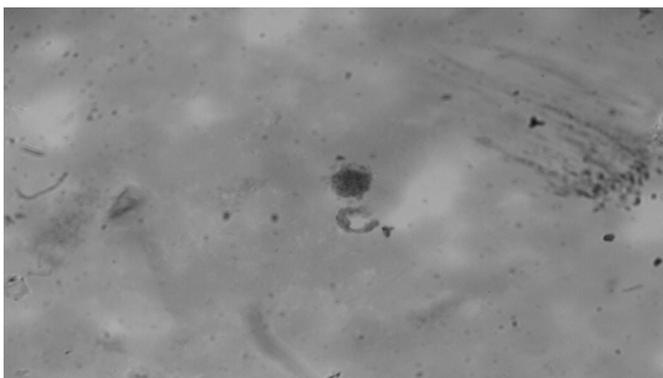


Рис. 3  
Активированный нейтрофильный гранулоцит в крови белой мыши, ув. × 1000  
Fig. 3  
An activated neutrophilic granulocyte in the blood of a white mouse, magnified by 1000

личением ФП почти в два раза по сравнению с таковым у стрессуемых животных без введения пробиотика. Кроме того, установлено положительное влияние биоспорина не только на количество фагоцитов, обладающих поглотительной способностью, но и на степень активности нейтрофильных лейкоцитов. Значение фагоцитарного числа вышеуказанного по-

казателя у животных стрессуемой группы без введения биоспорина более чем в 1,5 раза.

Обращают на себя внимание значения ФП и ФЧ в группе 3, где животные получали биоспорин без стрессирования. Поглотительная активность нейтрофильных фагоцитов настолько высока, что перекрывает указанные значения у животных интактной группы.

С целью оценки бактерицидного потенциала фагоцитов воспроизвели НСТ-тест в двух вариантах – спонтанном и стимулированном [10].

Спонтанный НСТ-тест позволяет оценить степень активации кислородозависимых механизмов киллинга неактивированных клеток. Стимулированный тест с НСТ используют для выявления резервных возможностей внутриклеточных систем нейтрофилов. Наличие темно-синих гранул диформаза в клетке свидетельствует о так называемом «респираторном взрыве». Чем больше гранул, тем больше образовалось активных форм кислорода, тем активнее фагоцит и сильнее кислородозависимый киллинг.

При учете результатов реакции определяли процент НСТ-позитивных клеток в спонтанном и стиму-

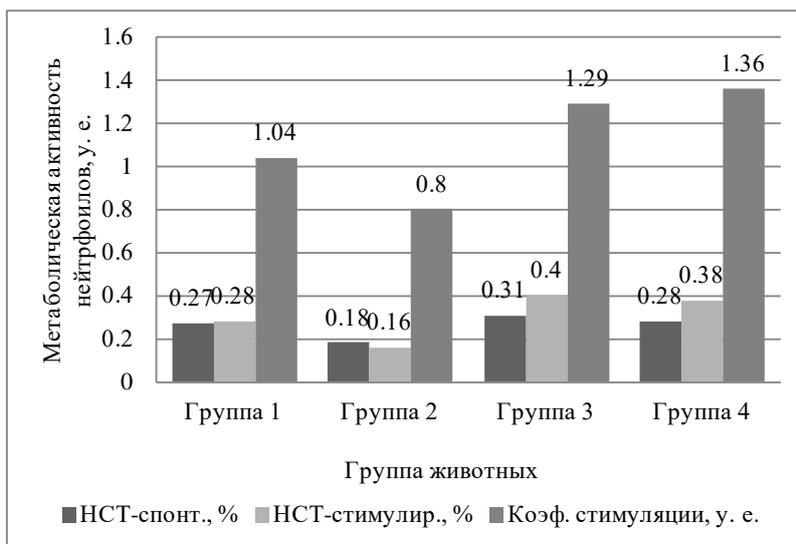


Рис. 4

Показатели спонтанного, стимулированного НСТ-теста и коэффициента стимуляции нейтрофилов периферической крови лабораторных животных в условиях экспериментального хронического иммобилизационного стресса

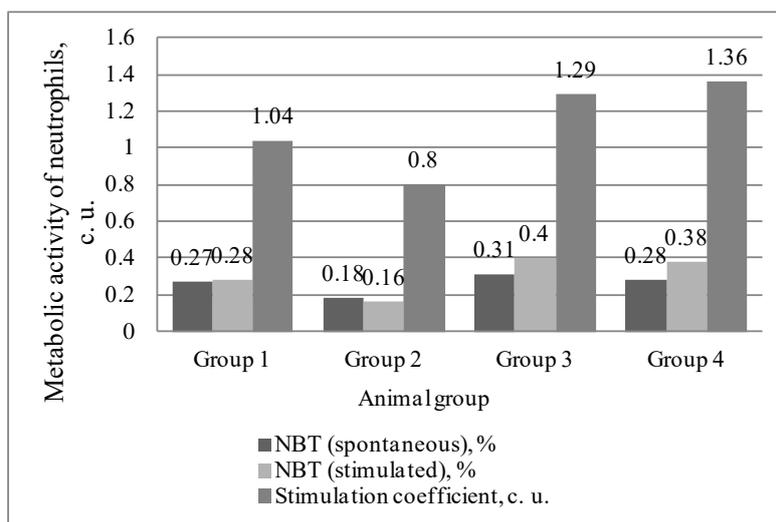


Fig. 4.

Indicators of unprompted and stimulated NBT-test and stimulation coefficient of neutrophils in peripheral blood of laboratory animals under experimental chronic immobilization stress

лированном тестах. Кроме того, рассчитывали коэффициент стимуляции НСТ-теста – К. Это отношение показателя стимулированного НСТ-теста к показателю спонтанного НСТ-теста, выраженному в у.е. На рис. 3 представлен активированный нейтрофильный гранулоцит в крови белой мыши в спонтанном НСТ-тесте.

На рис. 4 представлены показатели НСТ-теста нейтрофилов периферической крови лабораторных животных в условиях ИС.

Результаты НСТ-теста, представленные на рис. 4, указывают на иммуносупрессию кислородозависимого потенциала нейтрофилов периферической крови в группе стрессорируемых животных.

Так, показатели спонтанного и стимулированного тестов в указанной группе снижены по сравнению с таковыми у интактных животных на 35,8 % и 57,0 % соответственно. Данное обстоятельство свидетельствует о низких резервных возможностях внутриклеточных

точных систем фагоцитов. Коэффициент стимуляции в указанной группе не превышает 0,8 у. е., что указывает на недостаточность фагоцитоза.

Предварительное введение пробиотика стрессорируемым животным первой группы приводит к менее значительному снижению показателей метаболической активности фагоцитов по сравнению со второй группой животных. Показатели спонтанного и стимулированного НСТ-теста в первой группе животных выше таковых у животных второй группы в 1,5 и 1,7 раза соответственно, а показатель коэффициента стимуляции выше такового почти в 1,5 раза, что свидетельствует об активации внутриклеточных микробоцидных систем и высокой готовности фагоцитов к завершению фагоцитозу.

#### Выводы. Рекомендации.

1. Предварительное введение биоспорина в условиях хронического стресса приводит к повышению показателей поглотительной активности полиморф-

ноядерных лейкоцитов в крови экспериментальных животных.

2. Введение биоспорина с последующим хроническим стрессом приводит к менее значительному снижению бактерицидной активности фагоцитов, продуцирующих активные формы кислорода в крови экспериментальных животных.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что введение пробиотика на фоне

экспериментального хронического иммобилизационного стресса вызывает формирование адаптивных реакций иммунной системы в организме лабораторных животных. Учитывая антистрессовое действие биоспорина, этот препарат может быть рекомендован для использования в животноводстве с целью снижения влияния стрессов на организм сельскохозяйственных животных.

### Литература

1. Лоуренс Д. Р., Бенитт П. Н. Побочные эффекты лекарственных веществ // Клиническая фармакология. 1991. № 2. Т. 1. С. 639.
2. Бородин В. И. Побочные эффекты транквилизаторов и их роль в пограничной психиатрии // Психиатрия и психофармакотерапия. 2000. № 3. С. 72–74.
3. Бородкин Ю. С. Фармакологическая регуляция состояний дезадаптации. М., 1989. 232 с.
4. Малик Н. И. Ветеринарные пробиотические препараты // Ветеринария. 2001. № 1. С. 23–24.
5. Абакумова Т. В. Использование пробиотиков в качестве реабилитационных средств // Новые пробиотические и иммуностропные препараты в ветеринарии : мат. науч.-практ. конф. Новосибирск, 2004. С. 71–72.
6. Учасов Д. С. Эффективность применения пробиотика «Проваген» при технологическом стрессе у свиней // Вестник Орел ГАУ. 2013. № 1. Т. 40. С. 129.
7. Данилевская А. Н. Целесообразность назначения пробиотиков при стрессе, связанном с процессом отлова и транспортировки овцебыков в условиях республики Саха-Якутия // Мат. межд. науч. конф. М., 2004. 24 с.
8. Макарова Г. А. Фармакологическое обеспечение в системе подготовки спортсменов. М., 2003. 160 с.
9. Фрейдлин И. С. Неспецифическая активация клеток фагоцитирующей системы препаратами липополисахаридов и полисахаридов микробного происхождения // Актуальные вопросы иммунологии. 1981. № 1. С. 139–140.
10. Кондратьева И. А., Ярилин А. А. Практикум по иммунологии : учеб. пособие для вузов. М., 2004. 272 с.

### References

1. Lowrence D. R., Bennet P. N. Side effects of drug substances. Translation from English // Clinical pharmacology. 1991. № 2. Vol. 1. P. 639.
2. Borodin V. I. Tranquillizer's collateral effects and their role in boundary psychiatry // Psychiatry and psychopharmatherapy. 2000. № 3. P. 72–74.
3. Borodkin Y. S. Pharmacological regulation of conditions of disadaptation. M., 1989. 85 p.
4. Malik N. I. Veterinary probiotics products // Veterinary science. 2001. № 1. P. 23–24.
5. Abakumova T. V. Use of probiotics as rehabilitation means // New probiotic and immune preparations in veterinary science : proc. of scien. symp. Novosibirsk, 2003. P. 71–72.
6. Uchasov D. S. Application efficiency of probiotic “Provagen” under technological stress of pigs // Vestnik Orel GAU. 2013. № 1. Vol. 40. P. 129.
7. Danilevskaja A. N. The appropriateness of probiotic appointment for stress linked with capture and transportation of the musk ox in the Saha-Yakutija region // Proc. of int. sc. symp. M., 2004. 24 p.
8. Makarova G. A. Pharmacological providing in system of training of athletes. M., 2003. 160 p.
9. Freidlin I. S. Phagocytic systems' unspecific cell activation with liposaccharide and polysaccharide of microbial origin medication // Relevant questions of immunology. 1981. № 1. P. 139–140.
10. Kondratjeva I. A., Yarilin A. A. Case study in immunology : guideline manual. M., 2004. 272 p.