

© Коллектив авторов, 2013  
УДК 616.98:(615.281+615.373):001.891.53  
DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2013.08030>  
ISSN – 2073-8137

## ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ ЧУМЫ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

И. Ю. Борздова, О. В. Логвиненко, Е. Л. Ракитина, А. А. Борздов, Е. Б. Жилченко, Д. Г. Пономаренко, М. В. Костюченко

Ставропольский противочумный институт

**По данным ВОЗ, в последние годы отмечается регулярная активность очагов чумы в Монголии, Казахстане, США и КНР. Кроме того, чуму можно считать возвратившейся инфекцией в Индии, Алжире и Эквадоре. Данная инфекция актуальна и в нашей стране, поскольку природные очаги существуют на территории как собственно России, так и ряда смежных государств. В последние годы возбудитель чумы привлек внимание и на общемировом уровне как наиболее вероятное средство биотерроризма [2, 3, 6].**

В настоящее время достигнуты большие успехи в этиотропном лечении чумной инфекции, основанном на использовании антибиоти-

ков широкого спектра действия, сульфаниламидных, нитрофурановых препаратов и т. д. [7]. Использование высокоэффективных бактерицидных препаратов освобождает организм от возбудителя, однако сопровождается интенсивным распадом микробных клеток и выделением в системный кровоток разнообразных токсических и ферментных факторов, в том числе эндотоксина. Персистенция токсинов в организме сопровождается формированием вторичных иммунопатологических нарушений, которые и определяют тяжесть течения и исход заболевания. Наличие вторичных иммунодефицитных состояний обуславливает необходимость совершенствования традиционных и разработку новых схем терапии. В этом плане актуальным является применение на фоне этиотропной терапии иммуномодулирующих средств, способствующих целенаправленной коррекции иммунитета и метаболических нарушений.

Целью нашей работы явилось изучение сочетанного влияния цефепима и имунофана на показатели клеточного иммунитета при экспериментальной чуме у лабораторных животных.

**Материал и методы.** Беспородных белых мышей весом 18–20 г заражали подкожно в паховую область вирулентным штаммом *Y. pestis C-775* в дозе  $1 \times 10^5$  м.к. на животное в 0,2 мл физиологического раствора. За сутки до заражения животные внутримышечно получали имунофан в дозе 0,01 мкг/мышь, с последующим введением препарата на 2 и 4 сутки после заражения.

Лечение начинали через 24 часа после заражения. Цефепим (Бристол-Майерс Сквибб, Италия) вводили внутримышечно через каждые 24 часа в течение 5 дней в дозе 1,0 мг/мышь, что соответствовало терапевтической дозе.

Срок наблюдения за животными составлял 30 дней. Контролем являлись иммунологические показатели в группах интактных белых мышей (К 1) и зараженных животных, не получавших антибактериальную терапию (К 2).

Большую роль в оценке эффективности проводимой этиотропной терапии играют структурно-функциональные изменения в клет-

Борздова Ирина Юрьевна,  
кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории диагностики природно-очаговых инфекций ФКУЗ Ставропольского противочумного института;  
тел.: 8(8652)260312, 9054175101; e-mail: snipchi@mail.stv.ru

Логвиненко Ольга Васильевна,  
кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патоморфологии ООИЗ ФКУЗ Ставропольского противочумного института;  
тел.: 8(8652)260312; e-mail: snipchi@mail.stv.ru

Ракитина Екатерина Львовна,  
кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патоморфологии ООИЗ ФКУЗ Ставропольского противочумного института;  
тел.: 8(8652)260312; e-mail: snipchi@mail.stv.ru

Борздов Александр Анатольевич,  
младший научный сотрудник научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных инфекций ФКУЗ Ставропольского противочумного института;  
тел.: 8(8652)260312; e-mail: snipchi@mail.stv.ru

Жилченко Елена Борисовна,  
кандидат биологических наук, заведующая лабораторией «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ставропольского противочумного института;  
тел.: 8(8652)260312; e-mail: snipchi@mail.stv.ru

Пonomаренко Дмитрий Григорьевич,  
заведующий лабораторией патоморфологии ООИЗ, старший научный сотрудник ФКУЗ Ставропольского противочумного института;  
тел.: 8(8652)260312; e-mail: snipchi@mail.stv.ru

Костюченко Марина Владимировна,  
сотрудник лаборатории патоморфологии ООИЗ ФКУЗ Ставропольского противочумного института;  
тел.: 8(8652)260312; e-mail: snipchi@mail.stv.ru

ках системы мононуклеарных фагоцитов, которые недостаточно исследованы. Для оценки интенсивности образования в фагоцитирующих клетках метаболитов кислорода использовали НСТ-тест [1]. Состояние микробицидных систем изучали по содержанию катионных белков (КБ) [4] и активности миелопероксидазы (МПО), результаты оценивали в цитохимическом показателе (ЦХП) [5]. Субпопуляционный состав лимфоцитов крови устанавливали методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител фирмы Invitrogen. Определяли CD3 – Т-лимфоциты, CD4 – Т-хелперы, CD8 – Т-цитотоксические, CD19 – В-лимфоциты. На протяжении каждого опыта осуществляли бактериологический контроль заражения и эффективности этиотропной терапии экспериментальной чумы. Исследования проводили на 3, 5, 7, 14, 21 и 30 сутки после начала лечения. Так же об эффективности лечения судили по продолжительности жизни белых мышей. Обеззараживание исследуемого материала проводили согласно СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности».

Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью программы Statistica 6.0.

**Результаты и обсуждение.** В результате исследования было установлено, что при лечении зараженных животных цефепимом в комплексе с имунофаном выжили все белые мыши. Аналогичные результаты получили в группе животных, не получавших иммуномодулятор. У белых мышей, не подвергшихся лечению, гибель составила 100 % через 3–5 суток после заражения.

Анализ функциональной активности нейтрофилов крови белых мышей выявил подавление кислородной активности клеток, определяемой в НСТ-тесте при формировании инфекционного процесса –  $1,2 \pm 0,5$  % (К 1 –  $6,9 \pm 1,03$  %). Известно, что имунофан стимулирует метаболические реакции фагоцитирующих клеток, в связи с чем использование цефепима в комплексе с иммуномодулятором сопровождалось усилением образования активных форм кислорода через 5 суток ( $8,25 \pm 1,9$  %) после заражения. В последующие сроки отмечали тенденцию снижения искомого показателя до  $8,0 \pm 1,04$  %. Через 30 суток уровень НСТ-теста соответствовал  $7,9 \pm 0,93$  %, что превышало значения в группе К 1. При лечении белых мышей цефепимом показатели НСТ-теста через 14 суток составляли  $4,67 \pm 1,94$  %, через 30 суток  $5,2 \pm 1,2$  % (рис. 1).

Аналогичную картину наблюдали при определении кислородзависимых микробицидных систем нейтрофилов крови. Отмечали резкое понижение активности МПО  $0,35 \pm 0,19$  (К 1 –  $1,49 \pm 0,20$ ) и уровня КБ  $0,25 \pm 0,07$  (К 1 –  $0,50 \pm 0,09$ ) через 3 суток после заражения в группе К 2. В нейтрофилах крови белых мышей, которым проводили этиотропную терапию цефепимом, на 3 и 5 сутки после заражения активность МПО составляла  $0,87 \pm 0,04$ ;  $0,85 \pm 0,07$ ,

содержание КБ  $0,3 \pm 0,06$ ;  $0,31 \pm 0,07$ . При дополнительном использовании иммуномодулятора в эти же сроки активность МПО составляла  $0,86 \pm 0,03$  и  $0,89 \pm 0,19$ . В последующем отмечали постепенное восстановление активности исследуемых показателей. Проведенные исследования позволили установить, что быстрее всего восстанавливалась активность фермента в группе белых мышей, получавших комплексное лечение антибактериальным препаратом и иммуномодулятором. Следует отметить, что через 14 суток при использовании цефепима активность МПО в нейтрофилах крови составляла  $1,02 \pm 0,08$ , при дополнительном введении имунофана –  $1,3 \pm 0,09$ .

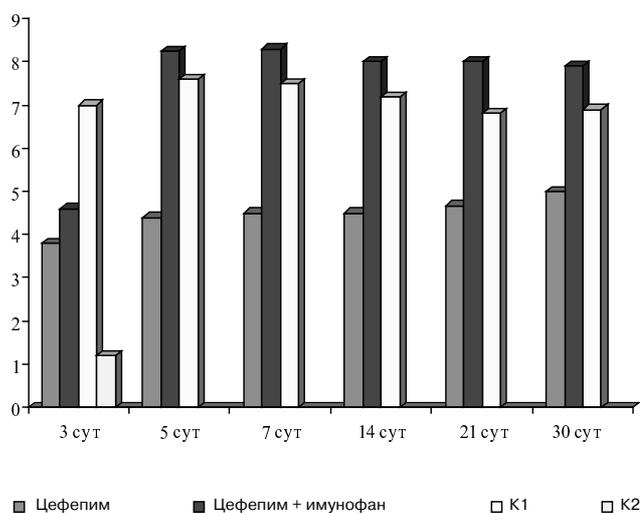


Рис. 1. Состояние функциональной активности нейтрофилов крови в НСТ-тесте в динамике проведения этиотропной терапии среди исследуемых групп животных

Анализ изменения содержания КБ в нейтрофилах крови на 3 сутки у животных вышеуказанных экспериментальных групп не выявил статистически значимых изменений. Через 7 суток уровень определяемого показателя при использовании цефепима составлял  $0,33 \pm 0,05$ , у животных, дополнительно получавших имунофан,  $0,36 \pm 0,06$ . На 21 сутки полученные результаты были в пределах контрольных значений:  $0,45 \pm 0,08$  – цефепим,  $0,43 \pm 0,06$  – цефепим + имунофан;  $0,48 \pm 0,09$  – интактные животные.

В результате оценки Т- и В- систем иммунитета получены следующие результаты. Как представлено на рисунке 2, через 3 суток в группе животных, не получавших лечение, происходит снижение общего количества зрелых Т-лимфоцитов ( $54,43 \pm 4,27$  %) и активация лимфоцитов, несущих маркеры CD8 ( $41,66 \pm 2,50$  %). У экспериментальных животных, которым предварительно вводили имунофан, количество клеток, несущих маркер CD3, составляло  $62,64 \pm 2,33$  %, цитотоксических лимфоцитов –  $36,15 \pm 2,13$  %. Аналогичные показатели в группе белых мышей, леченых только

цефепимом, составляли: CD3 –  $60,75 \pm 4,75$  %, CD8 –  $39,23 \pm 3,25$  %. Через 14 суток у животных, получавших цефепим, уровень лимфоцитов, несущих маркер CD3, составлял  $64,33 \pm 1,93$  %, у белых мышей, получивших дополнительно иммуномодулятор, –  $68,81 \pm 2,85$  %. Через 5–7 суток отмечено увеличение количества клеток, несущих маркер CD4, при использовании цефепима –  $32,82 \pm 3,55$  %, цефепима в комплексе с иммунофаном –  $37,25 \pm 2,33$  %. После 14 суток прослеживалась тенденция к снижению Т-цитотоксических лимфоцитов, быстрее всего этот процесс проходил в группе животных, дополнительно получавших иммунофан.

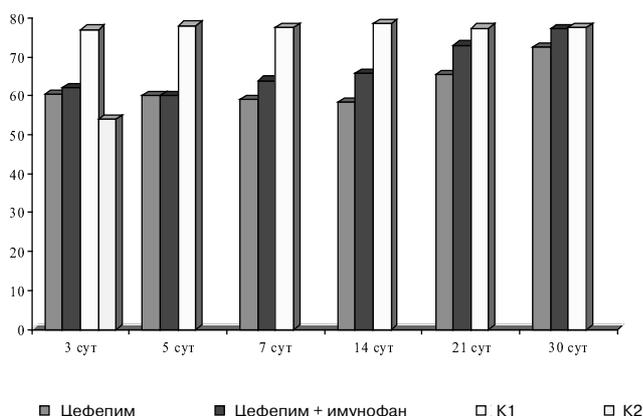


Рис. 2. Изменение содержания Т-лимфоцитов у белых мышей в динамике проведения этиотропной терапии среди исследуемых групп животных

Статистический анализ выявил, что процент зрелых лимфоцитов, несущих маркер CD3, при использовании свободного цефепима на 30 сутки проведения эксперимента не достигает значений в группе К 1.

Несмотря на то что использование свободного цефепима и цефепима совместно с иммунофаном способствует 100 % выживаемости животных, зараженных вирулентным штаммом *Y. pestis C-775*, динамика изменения определяемых иммунологических показателей была различной. Анализ результатов иммунологического исследования выявил, что количество цитотоксических лимфоцитов было выше у мышей, не получавших иммуномодулирующий препарат. У животных, которым вводили иммунофан, отмечали активацию зрелых Т-лимфоцитов, Т-хелперов, интенсификацию образования в фагоцитирующих клетках метаболитов кислорода, определяемых в НСТ-тесте, и миелопероксидазной активности.

**Заключение.** Таким образом, полученные данные свидетельствуют об активации клеточного иммунного ответа при использовании в терапии инфекционной болезни иммуномодулирующего препарата. В связи с вышеизложенным, можно говорить о перспективе применения иммунофана для коррекции иммунологического фона макроорганизма при проведении комплексной терапии экспериментальной чумной инфекции.

## Литература

1. Виксман, М. Е. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия : метод. рекомендации / М. Е. Виксман, А. Н. Маянский. – Казань, 1979. – 16 с.
2. Куличенко, А. Н. Эпизоотическая активность Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы / А. Н. Куличенко, Ю. М. Евченко, Г. А. Мозлоев и др. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2011. – № 4(110). – С. 23–26.
3. Онищенко, Г. Г. Биотерроризм: национальная и глобальная угроза / Г. Г. Онищенко, Л. С. Сандакчиев, С. В. Нетесов, Р. А. Мартынюк // Вестник Российской академии наук. – 2003. – Т. 7, № 3. – С. 195–204.

## References

1. Viksman M. E., Mayansky A. N. Sposob otsenki funktsionalnoy aktivnosti neytrofilov cheloveka po reaktzii vosstanovleniya nitrosinogo tetrazoliya: Metod. Rekomendatsii. Kazan; 1979. 16 p.
2. Kulichenko A. N. *Problemy osobo opasnykh infektsy. – Problems of especially dangerous infections.* 2011;4:23-26.
3. Onishchenko G. G., Sandakhchiyev L. S., Netesov S. V., Martynyuk R. A. *Vestnik Rossyskoy akademii nauk. – Herald of the Russian Academy of Sciences.* 2003;7(3):195-204.

4. Пигаревский, В. Е. Лизосомальный катионный тест // Клиническая морфология нейтрофильных гранулоцитов / под ред. В. Е. Пигаревского. – Л., 1988. – С. 87–101.
5. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / под ред. проф. В. В. Миньшикова. – М. : Медицина, 1987.
6. Топорков, В. П. Динамика заболеваемости чумой в мире / В. П. Топорков, Л. Н. Величко, А. Е. Шиянова, О. В. Кедрова // Проблемы особо опасных инфекций. – 2008. – № 3 (97). – С. 22–25.
7. Ефременко, Д. В. Изучение возможности направленной доставки липосомальных препаратов в органы и ткани макроорганизма / Д. В. Ефременко, Т. В. Таран, А. С. Кочарян и др. // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2008. – № 3. – С. 3–5.

4. Pigarevsky V.E. Lizoosomalny kationny test // Klinicheskaya morfologiya neytrofilnykh granulotsitov. L.; 1988. P. 87-101.
5. Laboratornye metody issledovaniya v klinike : spravochnik. – Moskva: «Meditsina»; 1987.
6. Toporkov V. P., Velichko L. N., Shiyanova A. E., Kedrova O. V. *Problemy osobo opasnykh infektsy. – Problems of especially dangerous infections.* 2008;3(97):22-25.
7. Yefremenko D. V., Taran T. V., Kocharyan A. S., Golovinskaya T. M., Kuznetsova I. V., Baby A. M., Yefremenko A. A. // *Meditsinsky Vestnik Severnogo Kavkaza. – Medical News of North Caucasus.* 2008;3:3-5.

**ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ  
И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ  
ПРИ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ ЧУМЫ  
У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**  
И. Ю. БОРЗДОВА, О. В. ЛОГВИНЕНКО,  
Е. Л. РАКИТИНА, А. А. БОРЗДОВ,  
Е. Б. ЖИЛЧЕНКО, Д. Г. ПОНОМАРЕНКО,  
М. В. КОСТЮЧЕНКО

**IMMUNOMODULATORY  
AND ANTIBACTERIAL PREPARATIONS  
IN ETIOTROPIC THERAPY  
OF PLAGUE  
IN EXPERIMENTAL ANIMALS**  
BORZDOVA I. YU., LOGVINENKO O. V.,  
RAKITINA E. L., BORZDOV A. A.,  
ZHILCHENKO E. B., PONOMARENKO D. G.,  
KOSTJUCHENKO M. V.

Цель исследования – изучение сочетанного влияния цефепима и имунофана на некоторые показатели клеточного иммунитета при экспериментальной чуме у лабораторных животных

Изучены изменения клеточного иммунитета при лечении экспериментальной чумной инфекции цефепимом и имунофаном.

Анализ результатов выявил увеличение количества цитотоксических лимфоцитов у мышей, не получавших иммуномодулирующий препарат. У животных, которым вводили имунофан, отмечали активацию клеточного звена иммунитета начиная с 5–7 суток проведения эксперимента.

Использование имунофана для коррекции иммунологического фона макроорганизма при проведении комплексной терапии экспериментальной чумной инфекции является перспективным.

**Ключевые слова:** клеточный иммунитет, имунофан, цефепим, экспериментальная чумная инфекция

The purpose of research was studying of combined influence of cefepim and imunofan on some parameters of cellular immunity in laboratory animals with experimental plague.

The data analysis has revealed an expression cytotoxic lymphocytes in mice without immunomodulatory therapy. Marked activation of cellular immunity was observed after imunofan application since 5–7 day of experiment.

Conclusion: use of imunofan for correction of the immunological background is perspective approach in complex therapy of experimental plague.

**Key words:** cellular immunity, imunofan, cefepim, experimental plague infection

© О. Ю. Лежнина, А. А. Коробкеев, 2013  
УДК 611.12:616.132.2-008.63  
DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2013.08031>  
ISSN – 2073-8137

## ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ СУБЭПИКАРДИАЛЬНОГО АРТЕРИАЛЬНОГО РУСЛА СЕРДЦА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

О. Ю. Лежнина, А. А. Коробкеев

Ставропольский государственный медицинский университет

**Статистические данные, характеризующие смертность от сердечно-сосудистых заболеваний, отражают первенство инфарктов миокарда в России. Следует отметить более высокую распро-**

**страненность ишемической болезни сердца с возрастом [10, 11]. Ранее проведенные исследования показали, что в 40 % наблюдений выявлено нарушение васкуляризации участков миокарда на диафрагмальной поверхности сердца при снижении общего просвета ветвей правой венечной артерии и задней межжелудочковой ветви [2].**

Для выявления особенностей кровоснабжения сердца была изучена архитектоника венечных артерий и их ветвей [3, 6], организация венозного русла органа [1, 4], представлена информация о взаимной пространственной то-

Лежнина Оксана Юрьевна,  
кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии  
Ставропольского государственного медицинского университета;  
тел.: (8652) 353229; e-mail: okliz26@mail.ru

Коробкеев Александр Анатольевич,  
доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой анатомии  
Ставропольского государственного медицинского университета;  
тел.: (8652) 353229; e-mail: Korobkeev@stgma.ru