

СТРУКТУРНАЯ ПЕРЕСТРОЙКА ОРГАНОВ БЕЛЫХ МЫШЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ *YERSINIA PESTIS EV* В СОЧЕТАНИИ С СЕЛЕНОРГАНИЧЕСКИМ СОЕДИНЕНИЕМ 974ZH

Дубровина В.И.,
Старовойтова Т.П.,
Юрьева О.В.,
Витязева С.А.,
Пятидесятникова А.Б.,
Иванова Т.А.,
Корытов К.М.,
Мухтургин Г.Б.,
Балахонов С.В.

ФКУЗ Иркутский
научно-исследовательский
противочумный институт
Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск,
ул. Трилиссера, 78, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Дубровина Валентина Ивановна,
e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Актуальным направлением является поиск средств, повышающих эффективность вакцины *Yersinia pestis EV* НИИЭГ и снижение вызванных ею побочных патологических проявлений. Селенорганические соединения обладают иммуностропными свойствами и повышают антиоксидантный потенциал организма, а также оказывают антидистрофический эффект и противоаллергическое действие. Представлены материалы исследования иммуномодулирующего действия экспериментального селенсодержащего соединения 2,6-дипиридиний-9-селенабицикло[3.3.1]нонан дибромида (974zh) на макроорганизм лабораторных животных.

Цель исследования. Оценить действие селенорганического соединения 974zh на структурную перестройку органов экспериментальных животных в динамике вакцинального процесса, вызванного *Y. pestis EV*.

Методы. Исследование проводили на 70 сертифицированных беспородных белых мышах. Гистологический материал (тимус, лимфатические узлы, селезёнка, надпочечники, печень) заливали в парафин, полутонкие срезы окрашивали гематоксилином и эозином, тионином и по методу Браше. Оценивали степень выраженности патологических изменений в печени и надпочечниках, пролиферацию плазматических клеток и структурное изменение в иммунокомпетентных органах (тимус, лимфатические узлы и селезёнка). Микрофотосъёмку и количественный анализ выполняли с помощью «MoticImagesPlus 2.0». Статистическую обработку проводили с помощью компьютерной программы Statistica (StatSoft Inc., США).

Результаты. Установлено, что совместное введение 974zh и *Y. Pestis EV* приводит к морфофункциональной перестройке иммунокомпетентных органов, усиливает пролиферацию плазматических клеток в селезёнке и лимфатических узлах, нивелирует негативные изменения в печени и надпочечниках.

Заключение. Таким образом, препарат 974zh усиливает иммуногенное действие вакцинного штамма *Y. pestis EV*, увеличивая T- и B-зависимые зоны селезёнки и лимфатических узлов, повышая пролиферацию плазматических клеток, а также заметно сокращает патологические изменения в печени и надпочечниках.

Ключевые слова: *Yersinia pestis EV* НИИЭГ, селенорганическое соединение, селезёнка, тимус, регионарный лимфатический узел, надпочечники

Для цитирования: Дубровина В.И., Старовойтова Т.П., Юрьева О.В., Витязева С.А., Пятидесятникова А.Б., Иванова Т.А., Корытов К.М., Мухтургин Г.Б., Балахонов С.В. Структурная перестройка органов белых мышей, вакцинированных *Yersinia pestis EV* в сочетании с селенорганическим соединением 974zh. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 110-120. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.12

Статья получена: 31.01.2022

Статья принята: 05.05.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

STRUCTURAL REARRANGEMENT OF ORGANS OF WHITE MICE VACCINATED WITH *YERSINIA PESTIS* EV IN COMBINATION WITH ORGANOSELENIUM COMPOUND 974ZH

Dubrovina V.I.,
Starovoitova T.P.,
Yurieva O.V.,
Vityazeva S.A.,
Pyatidesyatnikova A.B.,
Ivanova T.A.,
Korytov K.M.,
Mukhturgin G.B.,
Balakhonov S.V.

Irkutsk Antiplague Research
Institute of Siberia and Far East
of Rospotrebnadzor (Trilissera str. 78,
Irkutsk 664047, Russian Federation)

Corresponding author:
Valentina I. Dubrovina,
e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

ABSTRACT

Introduction. An urgent direction is the search for means that increase the effectiveness of the *Y. pestis* EV NIIEG vaccine and reduce the side pathological manifestations caused by it. Organoselenium compounds have immunotropic properties and increase the antioxidant potential of the body, as well as have an antidystrophic effect and an antiallergic effect. Materials of the study of the immunomodulating effect of the experimental selenium-containing compound 2,6-dipyridinium-9-selenabicyclo[3.3.1]nonane dibromide (974zh) on the macroorganism of laboratory animals are presented.

The aim. To evaluate the effect of the organoselenium compound 974zh on the structural rearrangement of the organs of experimental animals in the dynamics of the vaccine process caused by *Y. pestis* EV.

Methods. The study was carried out on 70 certified outbred white mice. Histological material (thymus, lymph nodes, spleen, adrenal glands, liver) was embedded in paraffin, semi-thin sections were stained with hematoxylin and eosin, thionin, and by the Brachet method. The severity of pathological changes in the liver and adrenal glands, proliferation of plasma cells and structural changes in immunocompetent organs (thymus, lymph nodes and spleen) were assessed. Microphotography and quantitative analysis were performed using MoticImagesPlus 2.0. Statistical processing was carried out using the computer program Statistica.

Results. It has been established that the combined administration of 974zh and *Y. pestis* EV leads to morphological and functional restructuring of immunocompetent organs, enhances the proliferation of plasma cells in the spleen and lymph nodes, and eliminates negative changes in the liver and adrenal glands.

Conclusion. Thus, the 974zh preparation enhances the immunogenic effect of the *Y. pestis* EV vaccine strain, increasing the T- and B-dependent zones of the spleen and lymph nodes, increasing the proliferation of plasma cells, and also significantly reduces pathological changes in the liver and adrenal glands.

Key words: *Yersinia pestis* EV NIIEG, organoselenium compound, spleen, thymus, regional lymph node, adrenal glands

For citation: Dubrovina V.I., Starovoitova T.P., Yurieva O.V., Vityazeva S.A., Pyatidesyatnikova A.B., Ivanova T.A., Korytov K.M., Mukhturgin G.B., Balakhonov S.V. Structural rearrangement of organs of white mice vaccinated with *Yersinia pestis* EV in combination with organoselenium compound 974zh. *Acta biomedical scientifica*. 2022; 7(3): 110-120. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.12

Received: 31.01.2022
Accepted: 05.05.2022
Published: 05.07.2022

ВВЕДЕНИЕ

На территории Российской Федерации для специфической профилактики чумы используют живую чумную вакцину на основе штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, вызывающую развитие иммунитета длительностью до года. Однако её защитные свойства против лёгочной формы чумы человека недостаточно эффективны [1]. В связи с этим поиск иммуoadъювантов, способных повышать эффективность формирования продолжительного противочумного иммунитета, является актуальной задачей. Комплексный морфологический анализ применения полиоксидония с целью повышения эффективности противочумной вакцинации выявил особенности морфофункциональных изменений в иммунокомпетентных органах биомодели [2]. Кроме того, перспективным представляется использование в качестве адъювантов иммуноактиваторов на основе селеносодержащих соединений. По литературным данным известно, что селенорганические препараты обладают антиоксидантным потенциалом, иммуностроительными свойствами и способны модулировать вакцинальный иммуногенез [3–5].

К таким соединениям может относиться экспериментальный препарат 974zh (2,6-дипиридиний-9-селенабицикло[3.3.1]нонан дибромид), разработанный в Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН. Данное соединение находится на стадии изучения и представляет большой интерес [6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить действие селенорганического соединения 974zh на структурную перестройку органов экспериментальных животных в динамике вакцинального процесса, вызванного *Y. pestis* EV

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». В качестве объекта исследования использовали селенорганическое соединение 2,6-дипиридиний-9-селенабицикло[3.3.1]нонан дибромид (974zh), синтезированный в лаборатории халькогенорганических соединений Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского, а также вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ. Предварительно было установлено, что препарат не проявляет токсичность у лабораторных животных в дозе 40 мг/кг [7].

Экспериментальной моделью в опытах служили 70 сертифицированных беспородных белых мышей, стандартных по условиям содержания, возрасту и массе (16–18 г), полученные из питомника ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (РД 42-26-3...3738, НПО «Вектор», Новосибирск). В работе соблюдены этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной

медицинской ассоциации. Исследование одобрено локальным этическим комитетом института (протокол № 5 от 01.11.2021). Экспериментальные животные были разделены на три опытные (по 20 особей) и одну контрольную (10 особей) группы. Животных иммунизировали подкожно во внутреннюю поверхность левого бедра: I группе вводили ЕД₅₀ *Y. pestis* EV (10⁴ КОЕ), II группе – селенорганическое соединение 974zh (2,5 мг/кг), III группе – ЕД₅₀ *Y. pestis* EV и препарат 974zh (2,5 мг/кг). Контролем служили интактные белые мыши. Наблюдение за животными осуществляли в течение 21 суток.

Животных выводили из эксперимента под наркозом (работа с животными проводилась в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, а также с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утверждёнными приказом Министерства здравоохранения № 199н от 01.04.2016) на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки с момента иммунизации. Анатомический материал (лимфатические узлы, селезёнка, тимус, надпочечники, печень) для гистологического исследования фиксировали в 10%-м водном растворе формалина (рН 7,0–7,2), обезжизняли в спиртах с возрастающей концентрацией, заливали в парафин. Полутопкие срезы окрашивали общепринятыми методиками (гематоксилин и эозин), плазматические клетки выявляли по методу Браше [8, 9]. Количественную морфометрию объёмных долей коркового и мозгового вещества тимуса, лимфатического узла, надпочечников, а также белой и красной пульпы селезёнки проводили с использованием автоматического анализа изображения (при увеличении окуляра 10, объектива – 10; световой микроскоп «Zeiss», Германия) с помощью видеокамеры «Ахиокам Icc3» (разрешение 2080 × 1540 = 3,3 Мпикс) и компьютерной программы «MoticImagesPlus» (версия 2). Подсчёт числа плазматических клеток проводили с помощью программы «ВидеоТест-Морфология», версия 4 (Санкт-Петербург).

Статистическую значимость результатов исследования получали методами статистической обработки с применением сравнительного анализа по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони с применением компьютерной программ Statistica, версия 6 (StatSoft Inc., США; 19842001, ИПЧИ 31415926535897) и пакета программ Microsoft Office Excel 2003 (Microsoft Corp., США). Данные выражали в виде среднего арифметического (*M*) и стандартного отклонения среднего (*SD*). Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$ по отношению к контролю.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что на 7-е сутки исследования в тимусе животных, иммунизированных *Y. pestis* EV, имеет место статистически значимое снижение доли коркового вещества – в 1,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Начиная с 14-х суток, доля коркового вещества тимуса возрастает, и к 21-м суткам показатель незначительно превышает контрольные значения (рис. 1). В мозговом

веществе тимуса животных I группы с 3-х по 14-е сутки выявлено статистически значимое увеличение количества бластных клеток – в 1,5 и 1,8 раза соответственно по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Установлено, что у мышей II группы в ранние сроки исследования (3-и сутки) доля коркового вещества тимуса соответствовала значению в контроле ($p < 0,05$). Это может быть связано с антиоксидантным действием селенсодержащего соединения и повышением устойчивости организма к стрессовым факторам, которым является *Y. pestis* EV. Начиная с 7-х суток, объём коркового вещества увеличивается и достигает максимального значения к 14–21-м суткам ($59,2 \pm 1,5$ и $58,9 \pm 1,2$ % соответственно), превышая показатели в контрольной группе на 10,2 и 8,8 % ($p < 0,05$) (рис. 1). Можно предположить, что препарат 974zh, обладающий иммунотропными свойствами, стимулирует иммунный ответ, сокращая сроки латентного периода.

С 3-х по 14-е сутки в корковом веществе тимуса экспериментальных животных II группы наблюдается статистически значимое увеличение количества бластных клеток и лимфоцитов – в 1,3–2,1 раза ($p < 0,05$) по сравнению с I группой. К 21-м суткам эти показатели незначительно снижаются, но превышают значения в контрольной группе.

Установлено, что на 7-е сутки в лимфатических узлах животных I группы увеличение объёмной доли коркового вещества (32,1 % – в контроле, 47,2 % – в опыте) в 1,5 раза ($p < 0,05$) превышает значение в контроле (рис. 2). Увеличение произошло за счёт гиперплазии фолликулов, вызванное усиленной стимуляцией В-лимфоцитов к бласттрансформации в герминативном центре лимфатического узла. К 14–21-м суткам данные показатели снижаются, но остаются выше контрольных. Доля паракортикальной зоны лимфатических узлов белых мышей во все сроки исследования не отличалась от показателей в контроле. На 7-е сутки отмечается повышение бластных клеток в реактивных центрах в 3,4 раза ($p < 0,05$) и макрофагов в 2,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

У животных, иммунизированных экспериментальным селенсодержащим соединением 974zh, в регионарном

лимфатическом узле на 7–14-е сутки исследования имело место незначительное увеличение коркового вещества – в 1,2–1,3 ($p < 0,05$) раза по сравнению с контролем.

В кортикальной зоне лимфатических узлов животных II группы на 3-и сутки отмечается увеличение макрофагов в 3,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, в I группе – в 1,4 раза. Максимальное увеличение объёма доли коркового вещества в лимфатических узлах белых мышей, как привитых *Y. pestis* EV, так и *Y. pestis* EV в сочетании с 974zh, приходится на 7-е сутки (рис. 2) исследования и составляет $47,2 \pm 0,8$ и $52,8 \pm 0,9$ %, что в 1,5 и 1,6 раза соответственно ($p < 0,05$) превышает контрольные значения. К 21-м суткам объёмная доля коркового вещества снижается, оставаясь значительно выше показателей в контроле. Доля паракортикальной зоны, которая является Т-зависимой зоной, на 7–14-е сутки исследования увеличена на 2,0–2,5 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными значениями и на 1,5–1,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями I группы. Это свидетельствует об усилении антигензависимой дифференцировки и пролиферации Т-лимфоцитов.

В группе животных, иммунизированных *Y. pestis* EV, в мозговых тяжах лимфатических узлов, начиная с 3-х суток исследования, появляются проплазмоциты и плазмоциты, их максимальное количество приходится на 7-е сутки и составляет $20,9 \pm 0,6$ %, превышая показатели контрольной группы ($0,35 \pm 0,07$ %) в 59,6 раза ($p < 0,05$), что свидетельствует об иммунной перестройке органа в ответ на антигенную стимуляцию. К 21-м суткам количество плазмоцитов статистически значимо снижается – до $6,94 \pm 0,53$ %, но превышает контрольные значения в 18,3 раза ($p < 0,01$) (рис. 3).

У животных, иммунизированных *Y. pestis* EV в сочетании с 974zh, на 3–7-е сутки отмечено увеличение содержания макрофагов и плазматических клеток в 1,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с I группой. Максимальное их значение приходится на 7-е сутки и составляет $22,24 \pm 0,83$ % ($p < 0,05$) с последующим снижением к 21-м суткам до $9,07 \pm 0,53$ %.

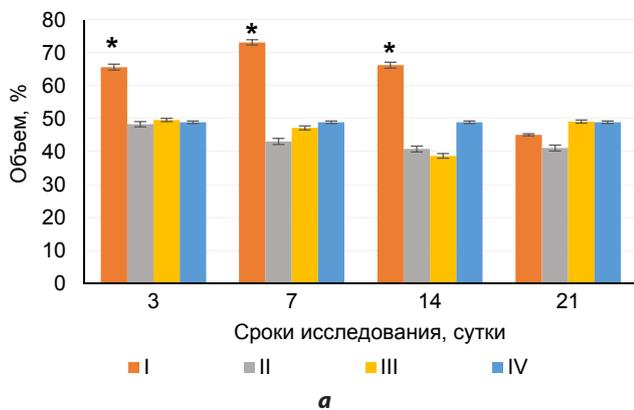


РИС. 1. Соотношение объёмных долей мозгового (а) и коркового (б) вещества тимуса экспериментальных животных ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

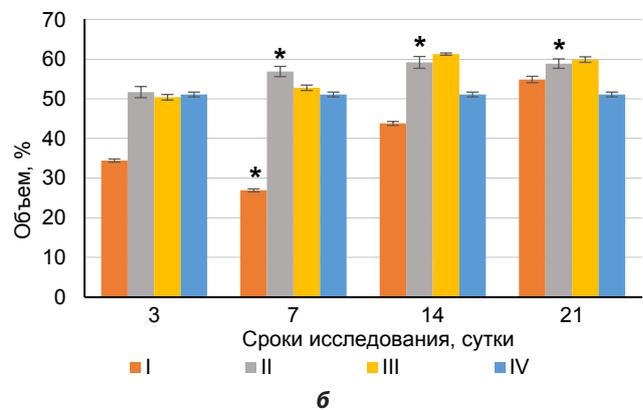


FIG. 1. The ratio of the volume fractions of the medulla (а) and cortex (б) of the thymus of experimental animals ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared to control

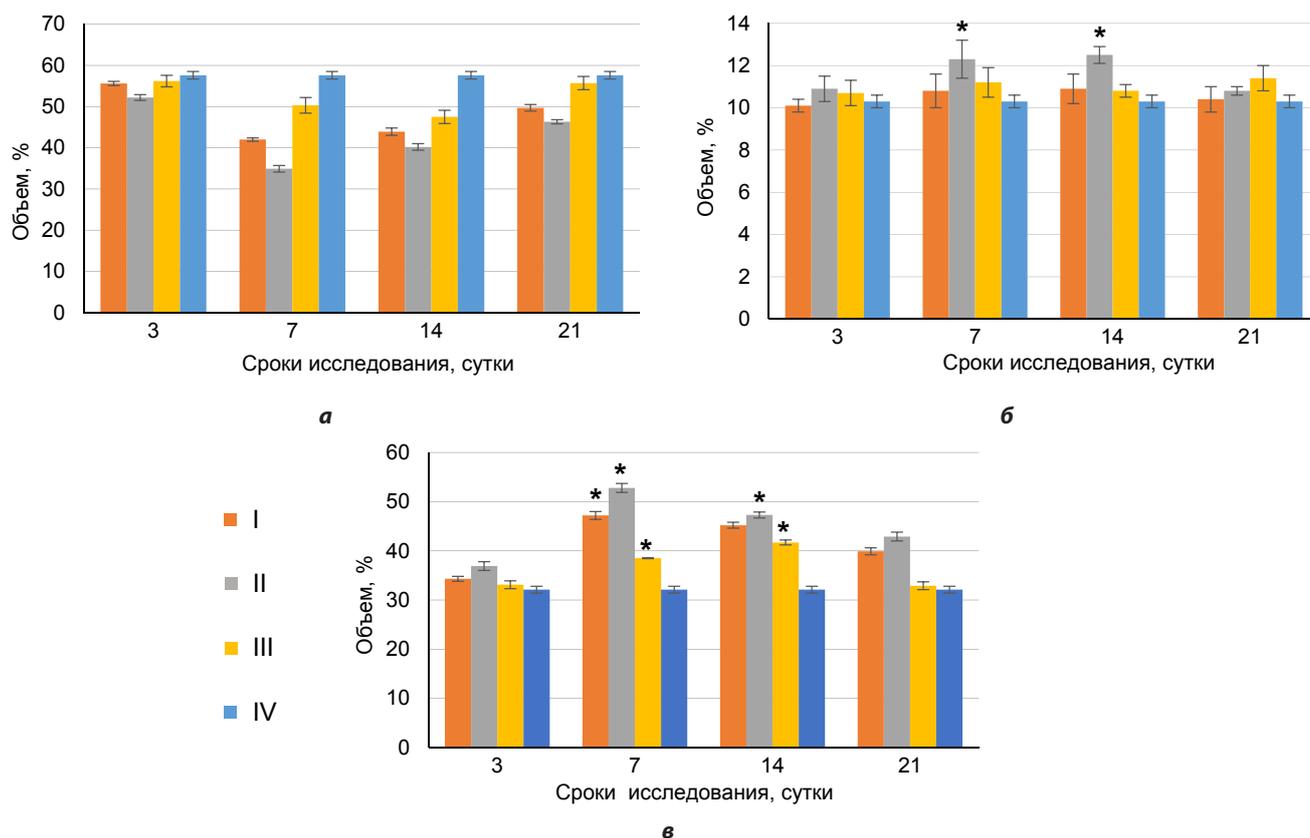


РИС. 2. Соотношение мозгового вещества (а), паракортикальной зоны (б) и коркового вещества (в) лимфатических узлов экспериментальных животных ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

FIG. 2. The ratio of the medulla (а), paracortex (б) and cortex (в) of the lymph nodes in experimental animals ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared to control

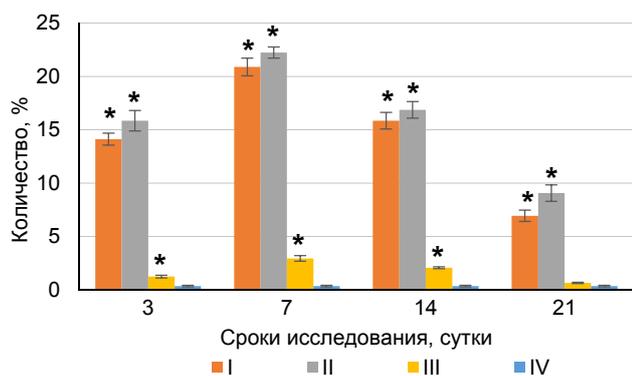


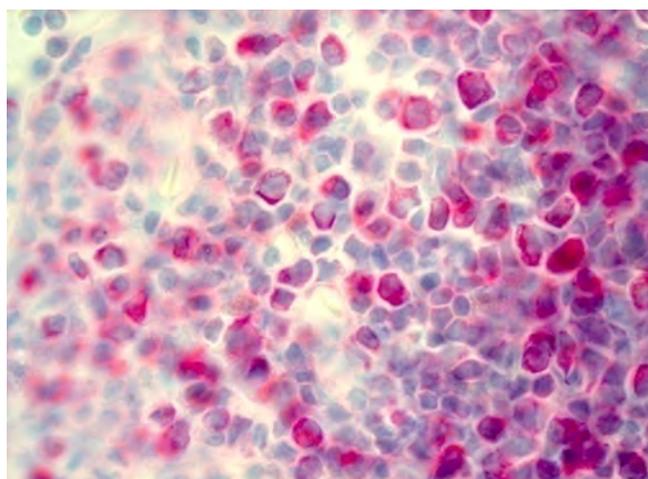
РИС. 3. Показатели содержания плазматических клеток в мозговых тяжах регионарных лимфатических узлов экспериментальных животных, вакцинированных *Y. pestis* EV ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

FIG. 3. Indicators of the content of plasma cells in the medullary cords of regional lymph nodes of experimental animals vaccinated with *Y. pestis* EV ($M \pm SD$, %): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared to control

В реактивных центрах регионарных лимфатических узлов на 3–7-е сутки имеет место заметное увеличение бластных клеток в 4,2–4,0% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В мозговых тяжах установлено статистически значимое увеличение плазматических клеток. Максимальное их количество приходится на 7-е сутки (рис. 4а) и превышает показатели в I опытной группе (рис. 4б) на 3,9% ($p < 0,05$), постепенно снижается к 21-м суткам до $9,1 \pm 0,5$ %, оставаясь при этом значительно выше, чем в контроле ($0,4 \pm 0,1$ %).

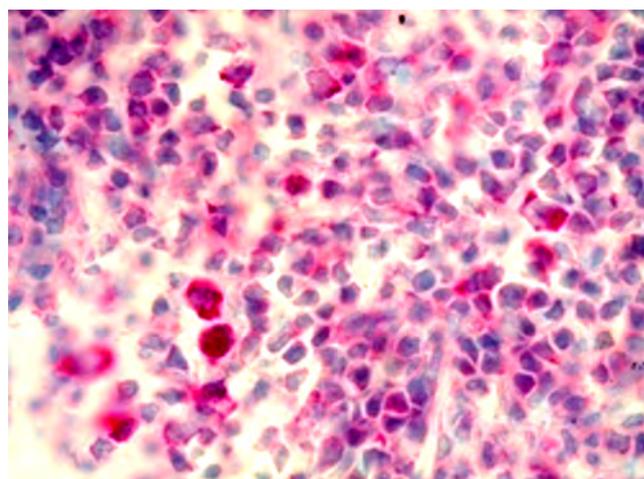
В селезёнке на 7-е сутки у животных I опытной группы установлено увеличение доли белой пульпы на 9,8% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, что может быть связано с гиперплазией фолликулов за счёт выраженного просветления реактивных центров, доля которых по отношению к общей площади фолликула за счёт пролиферации молодых форм клеток на 7-е сутки составила 13,5%, что в 2,5 раза ($p < 0,05$) больше по сравнению с контрольной группой животных (табл. 1).

Расширение периартериальной зоны лимфоидного фолликула на 7–14-е сутки превышало контрольные значения в 1,3–1,7 раза ($p < 0,05$) соответственно за счёт малодифференцированных бластов. В эти сро-



а

РИС. 4.
Микрофотография лимфатического узла белой мыши:
а – *Y. pestis* EV + 974zh (7-е сутки), пролиферация плазмоцитов и плазмобластов; **б** – *Y. pestis* EV (7-е сутки), увеличение плазматических клеток. Окраска по Браше. Ок. – 10х, об. – 40х



б

FIG. 4.
Microphotograph of the lymph node of a white mouse: **a** – immunized with *Y. pestis* EV + 974zh (7 days), proliferation of plasma-cytes and plasmoblasts; **b** – immunized with *Y. pestis* EV (7 days), increased plasma cells. Brachet staining; eyepiece – 10х, lens – 40х

ТАБЛИЦА 1
СООТНОШЕНИЕ ОБЪЕМНЫХ ДОЛЕЙ КРАСНОЙ И БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЁНКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ (M ± SD, %)

TABLE 1
THE RATIO OF THE VOLUME FRACTIONS OF THE RED AND WHITE PULP OF THE SPLEEN OF EXPERIMENTAL ANIMALS (M ± SD, %)

Антиген	Структурный компонент	Сроки (сутки)			
		3-и	7-е	14-е	21-е
<i>Y. pestis</i> EV	КП RP	67,1 ± 0,9	59,8 ± 0,6	63,2 ± 0,9	69,9 ± 0,8
	БП WP	32,9 ± 0,8	40,2 ± 0,5*	36,8 ± 0,7	30,1 ± 0,5
<i>Y. pestis</i> EV + 974zh	КП RP	66,8 ± 0,7	57,1 ± 0,6	59,8 ± 0,8	68,4 ± 0,5
	БП WP	33,2 ± 0,4	42,9 ± 0,9*	40,2 ± 0,6*	30,8 ± 0,4
974zh	КП RP	69,1 ± 0,9	68,7 ± 0,7	69,2 ± 0,5	69,4 ± 0,7
	БП WP	30,9 ± 0,4	31,3 ± 0,9*	30,8 ± 0,8	30,6 ± 0,4
Контроль	КП RP		69,6 ± 0,6		
	БП WP		30,4 ± 0,7		

Примечание. БП – белая пульпа; КП – красная пульпа; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

ки исследования также отмечалось статистически значимое увеличение доли мантийной зоны лимфоидного фолликула селезёнки, её показатели составили 42,1–45,1 %, что в 1,3–1,4 раза ($p < 0,05$) превышает контрольные значения.

В селезёнке белых мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV + 974 zh, выявлено увеличение соотношения объёмной доли белой пульпы, которое вызвано гиперплазией лимфоидных фолликулов в результате пролиферации бластных клеток в реактивных центрах. Максимальное увеличение белой пульпы селезёнки приходится на 7-е сутки исследования, пока-

затели на 12,5 % превышают контрольные значения и на 2,7 % – значения в I группе ($p < 0,05$). Следует отметить, что к 14-м суткам объёмная доля белой пульпы в II группе сокращается на 2,7 %, что в 1,3 раза меньше, чем в I группе.

В I группе животных, начиная с 3-х суток, отмечается увеличение количества клеток плазмочитарного ряда, максимальное число которых выявлено на 7-е сутки исследования $8,61 \pm 0,06$, что 19,4 раза ($p < 0,05$) больше, чем в контрольной группе (рис. 5). К 21-м суткам этот показатель снизился, но превосходил значения в IV группе в 8,8 раза ($p < 0,05$).

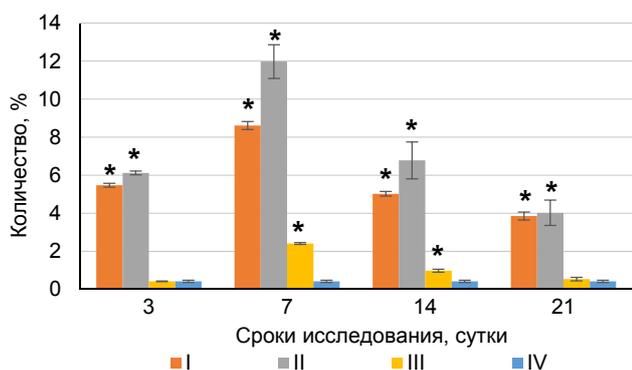


РИС. 5.

Доля плазмоцитов в селезёнке экспериментальных животных ($M \pm SD, \%$): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

FIG. 5.

The share of plasma cells in the spleen of experimental animals ($M \pm SD, \%$): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared with control

Максимальное число клеток плазмоцитарного ряда у мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV + 974zh, приходится на 7-е сутки исследования и составляет $11,98 \pm 0,89$, что в 1,4 раза ($p < 0,05$) больше, чем в опытной группе. К 21-м суткам установлено снижение данных показателей, которые были статистически значимо выше, чем в IV группе, но не имели статистически значимых различий с I группой (*Y. pestis* EV).

У животных, получивших экспериментальный препарат 974zh (III группа), по сравнению с контролем, на 14-е сутки отмечено увеличение периартериальной зоны селезёнки в 1,2 раза, что связано с повышением числа

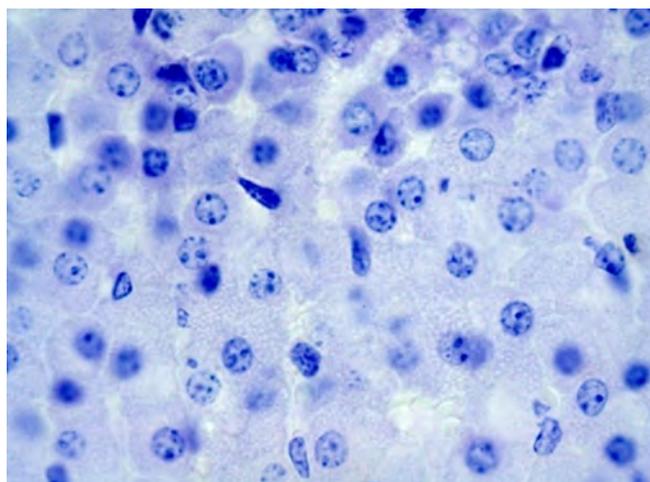
средних и малых лимфоцитов (в 1,7 раза при $p < 0,05$). Максимальное количество плазматических клеток, как в мантийной зоне, так и красной пульпе, отмечено к 7-м суткам и превосходило значения в контроле в 5,2 раза ($p < 0,01$).

При гистологическом исследовании в печени на 3–7-е сутки после иммунизации *Y. pestis* EV выявлены зернистая дистрофия органа (рис. 6а), полнокровие, в единичных случаях – мелкие кровоизлияния и образование субмиллиарных узелков (рис. 6б). В отдельных гепатоцитах ядра подвергнуты лизису, а граница печёночных клеток не везде чёткая. Также имеют место очаговая диффузная гиперплазия купферовских клеток и лимфогистиоцитарная инфильтрация клеток вокруг кровеносных сосудов. К 21-м суткам данные изменения заметно нивелировались.

При просмотре гистологических срезов печени белых мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV в сочетании с 974zh, существенных изменений не отмечалось. Регистрировалась слабая лимфогистиоцитарная инфильтрация клеток вокруг кровеносных сосудов и небольшая дистрофия (рис. 7).

Изменения в печени у животных, получивших экспериментальный препарат 974zh, по сравнению с контролем отсутствовали во все сроки наблюдения.

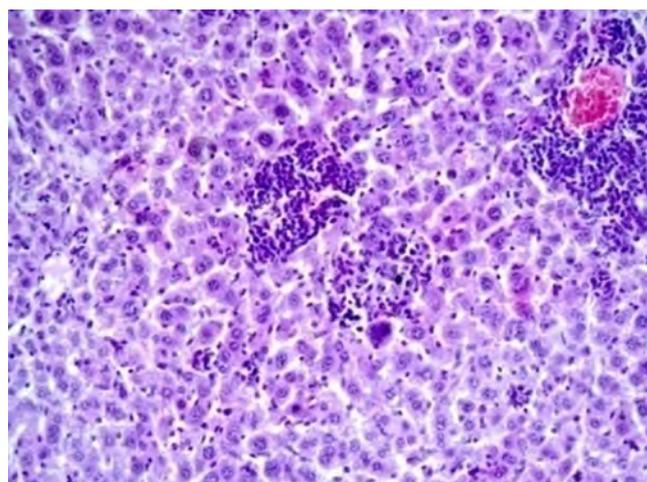
В надпочечниках белых мышей I группы на 3-и сутки исследования установлено увеличение объёмной доли коркового и снижение мозгового вещества (табл. 2). Толщина коркового слоя составила $79,3 \pm 1,7 \%$, что выше значений в контроле на 8,5 % ($p < 0,05$). В корковом веществе заметно превалирует объём пучковой зоны на фоне снижения доли клубочковой – $9,8 \pm 0,6 \%$, что ниже контроля на 4,4 % ($p < 0,05$). Это подтверждает участие надпочечников в системе стрессовых механизмов, оказывающих влияние на углеводный обмен и иммунную систему, а также на воспалительные и аллергические реакции [10].



а

РИС. 6.

Печень белой мыши, иммунизированной *Y. pestis* EV, (7-е сутки): **а** – зернистая дистрофия, гиперплазия купферовских клеток (окраска тионином; ок. – 10×, об. – 100×); **б** – полнокровие, инфильтрация клеток вокруг кровеносных сосудов и образование узелков (окраска гематоксилином и эозином; ок. – 10×, об. – 20×)



б

FIG. 6.

Liver of a white mouse immunized with *Y. pestis* EV (7 days): **а** – granular dystrophy, hyperplasia of Kupffer's cells (thionine staining; eyepiece – 10×, lens – 100×); **б** – plethora, infiltration of cells around the blood vessel and the formation of nodules (staining with hematoxylin and eosin; eyepiece – 10×, lens – 20×)

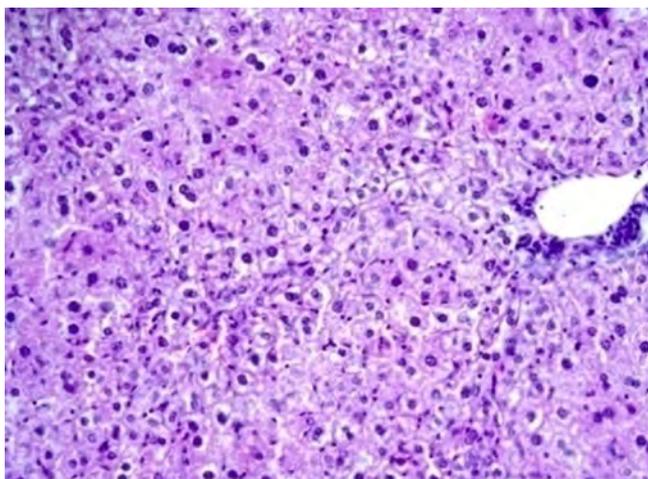


РИС. 7.
Печень белой мыши, иммунизированной *Y. pestis* EV + 974zh, (7 сутки). Небольшая инфильтрация клеток вокруг кровеносных сосудов. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. – 10х, об. – 20х

FIG. 7.
Liver of a white mouse immunized with *Y. pestis* EV + 974zh (7 days). Slight cell infiltration around the blood vessel. Staining with hematoxylin and eosin. Eyepiece – 10x, lens – 20x.

Максимальные изменения показателей соотношения объёмной доли коркового вещества в надпочечниках белых мышей выявлены в II группе на 7-е сутки наблюдения (табл. 2). При этом следует заметить, что гиперплазия коркового вещества у животных этой группы значительно ниже (на 3,3 %; $p < 0,05$), чем в I опытной группе, и составляет $76,8 \pm 1,5$ %. Увеличение доли коркового вещества в надпочечниках произошло за счёт снижения объёма клубочковой зоны, которая составила $12,8 \pm 0,4$ % от объёма коркового вещества. Доля объёма

пучковой зоны – $81,4 \pm 1,2$ %, что выше на 2,2 % ($p < 0,05$) значений в IV группе и ниже на 3,3 % ($p < 0,05$) показателей в I группе (*Y. pestis* EV).

Размер пучковой зоны у животных I опытной группы составил $84,7 \pm 1,6$ %, что превышает значение в контрольной группе на 5,5 % ($p < 0,05$). Объём сетчатой зоны на 7-е сутки незначительно увеличился и составил $8,5 \pm 0,5$ % (рис. 8). Следует отметить, что прослеживается отчётливая дифференцировка на зоны, для которых сохранена характерная архитектоника. На границе коркового и мозгового вещества обнаружены макрофаги. Начиная с 14-х суток данные изменения постепенно нивелируются и к 21-м суткам достигают контрольных значений.

Важно отметить, что у животных III группы объёмные доли надпочечников и процентное соотношение между их структурными зонами (клубочковой, пучковой, сетчатой) во все сроки наблюдения не отличались от контрольных значений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный анализ полученных данных между группами экспериментальных животных показал, что совместное введение вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИ-ЭГ с препаратом 974zh усиливает морфологические изменения в тимусе за счёт увеличения объёма коркового вещества и пролиферации лимфоидных клеток. Экспериментальное селенсодержащее соединение вызывает усиленную бласттрансформацию в реактивных центрах фолликулов селезёнки и лимфатических узлов белых мышей, что приводит к пролиферации плазматических клеток. У экспериментальных животных, иммунизированных *Y. pestis* EV НИИЭГ совместно с препаратом 974zh, более выражена пролиферация антитело-

ТАБЛИЦА 2
СООТНОШЕНИЕ КОРКОВОГО И МОЗГОВОГО СЛОЯ
НАДПОЧЕЧНИКОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ
(M ± SD, %)

TABLE 2
THE RATIO OF THE CORTICAL AND MEDULLARY LAYERS
OF THE ADRENAL GLANDS OF EXPERIMENTAL ANIMALS
(M ± SD, %)

Антиген	Объёмная доля	Сроки (сутки)			
		3-и	7-е	14-е	21-е
<i>Y. pestis</i> EV	КВ AC	79,3 ± 1,7*	80,1 ± 1,8*	75,1 ± 1,4	72,2 ± 1,8
	МВ AM	20,3 ± 0,9	19,9 ± 0,7	24,9 ± 0,5	27,8 ± 1,2
<i>Y. pestis</i> EV + 974zh	КВ AC	72,4 ± 1,4	76,8 ± 1,5*	73,1 ± 1,6	71,9 ± 1,9
	МВ AM	27,6 ± 0,7	23,2 ± 0,9	26,9 ± 0,8	28,1 ± 1,2
974zh	КВ AC	72,9 ± 1,8	73,1 ± 1,7	71,6 ± 1,8	72,1 ± 1,6
	МВ AM	27,1 ± 0,7	26,9 ± 0,8	28,4 ± 0,5	27,9 ± 0,9
Контроль	КВ AC		71,9 ± 1,6		
	МВ AM		28,1 ± 0,9		

Примечание. КВ – корковое вещество; МВ – мозговое вещество; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

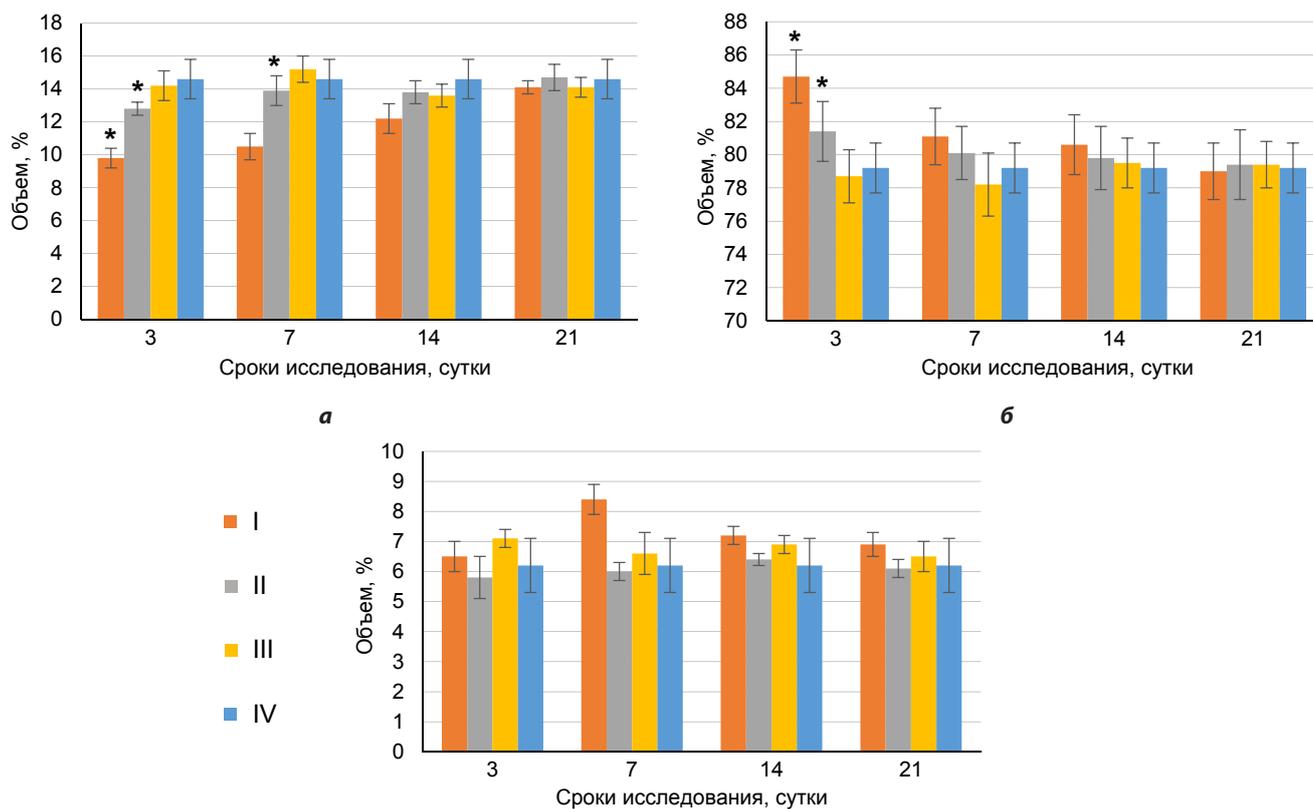


РИС. 8.

Соотношение объёмных зон (клубочковой (а), пучковой (б) и сетчатой (в)) коркового вещества надпочечников экспериментальных животных ($M \pm SD, \%$): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – контроль; * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

FIG. 8.

The ratio of the volumetric zones (zona glomerulosa (a), zona fasciculate (б) and zona reticularis (в)) of the adrenal cortex of experimental animals ($M \pm SD, \%$): I – *Y. pestis* EV; II – *Y. pestis* EV + 974zh; III – 974zh; IV – control; * – $p < 0.05$ compared to control

образующих клеток, которая может быть связана с пролонгирующим действием этого соединения на плазмочитарную реакцию.

Сравнительное изучение действия вакцинного штамма и сочетанного применения *Y. pestis* EV НИИЭГ с 974zh выявило различия в реакции иммунной системы биомодели, обусловленные механизмом действия селенсодержащего соединения. Установлено, что препарат 974zh при сочетанном использовании с *Y. pestis* EV НИИЭГ усиливает у экспериментальных животных реакцию со стороны иммунокомпетентных органов, оказывает антидистрофический эффект, способствует активации иммунного ответа и не оказывает повреждающего действия на ткани макроорганизма.

Экспериментальный препарат 974zh при сочетанном применении с *Y. pestis* EV НИИЭГ нивелирует негативные изменения, вызываемые вакцинным штаммом, в печени белых мышей. Сравнительный анализ структурных изменений в надпочечниках при морфометрическом исследовании опытных групп белых мышей указывает на способность препарата 974zh снижать стрессовые воздействия *Y. pestis* EV НИИЭГ на организм экспериментальных животных.

Результаты, полученные в ходе исследования, свидетельствуют о перспективности дальнейшей работы в данном направлении и накопления новых данных о воздействии экспериментального селенсодержащего препарата 974zh на организм экспериментальных животных.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балахонов С.В., Дубровина В.И., Корытов К.М., Войткова В.В., Витязева С.А., Пятидесятникова А.Б. и др. *Специфическая профилактика чумы: состояние и перспективы*; под ред. А.Ю. Поповой, В.В. Кутырева. Саратов: Амирит; 2021.
2. Бугоркова С.А., Курылина А.Ф., Щуковская Т.Н. Морфофункциональная характеристика иммунокомпетентных органов мышей линии Balb/c при иммунизации вакцинным *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на фоне иммуномодуляции. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; (2): 58-62. doi: 10.21055/0370-1069-2017-2-58-62

3. Юрьева О.В., Дубровина В.И., Пятидесятникова А.Б. Перспективы использования синтетических селеноорганических соединений для коррекции метаболического и иммунного статуса при вакцинальных процессах, вызванных живыми аттенуированными вакцинами против особо опасных инфекций. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 60-69. doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.6
4. Avery JC, Hoffmann PR. Selenium, selenoproteins and immunity. *Nutrients*. 2018; 10(9): 1203. doi: 10.3390/nu10091203
5. Mahdavi M, Mavandadnejad F, Yazdi MH, Faghfuri E, Hashemi H, Homayouni-Oreh S, et al. Oral administration of synthetic selenium nanoparticles induced robust Th1 cytokine pattern after HBs antigen vaccination in mouse model. *J Infect Public Health*. 2017; 10(1): 102-109. doi: 10.1016/j.jiph.2016.02.006
6. Potapov VA, Musalov MV, Musalova MV, Amosova SV. Recent advances in organochalcogen synthesis based on reactions of chalcogen halides with alkynes and alkenes. *Curr Organic Chem*. 2016; 20(2): 136-145. doi: 10.2174/1385272819666150810222454
7. Юрьева О.В., Дубровина В.И., Потапов В.А. Влияние синтетического селеноорганического препарата на степень патоморфологических изменений органов белых мышей, иммунизированных туляремийной и бруцеллезной вакцинами. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 168(7): 76-79.
8. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. *Основы гистологической техники*. СПб.: Спец. Лит; 2010.
9. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. *Микроскопическая техника: руководство для врачей и лаборантов*. М.: Медицина; 1996.
10. Киселев В.В., Каширина Н.К. Структура надпочечников белых крыс после введения ксеногенной спинномозговой жидкости до наступления полового созревания. *Таврический медико-биологический вестник*. 2012; 15(2): 101-104.
2. Bugorkova SA, Kurylina AF, Shchukovskaya TN. Morphological-functional characteristics of immune competent organs of Balb/c mice in case of vaccination with *Yersinia pestis* NIEG strain against the background of immune modulation. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2017; 2: 58-62. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2017-2-58-62
3. Yurieva OV, Dubrovina VI, Pyatidesyatnikova AB. Prospects for the use of synthetic organoselenium compounds for the correction of metabolic and immune status during vaccination with live attenuated vaccines against especially dangerous infections. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 60-69. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.6
4. Avery JC, Hoffmann PR. Selenium, selenoproteins and immunity. *Nutrients*. 2018; 10(9): 1203. doi: 10.3390/nu10091203
5. Mahdavi M, Mavandadnejad F, Yazdi MH, Faghfuri E, Hashemi H, Homayouni-Oreh S, et al. Oral administration of synthetic selenium nanoparticles induced robust Th1 cytokine pattern after HBs antigen vaccination in mouse model. *J Infect Public Health*. 2017; 10(1): 102-109. doi: 10.1016/j.jiph.2016.02.006
6. Potapov VA, Musalov MV, Musalova MV, Amosova SV. Recent advances in organochalcogen synthesis based on reactions of chalcogen halides with alkynes and alkenes. *Curr Organic Chem*. 2016; 20(2): 136-145. doi: 10.2174/1385272819666150810222454
7. Yureva OV, Dubrovina VI, Potapov VA, Musalov MV, Starovoitova TP, Ivanova TA, et al. Influence of a synthetic seleno-organic preparation on the degree of athomorphological alterations in white mice immunized with tularemia and brucellosis vaccines. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019; 168(7): 76-79. (In Russ.).
8. Korzhevsky DE, Gilyarov AV. *Basics of histological technique*. Saint-Petersburg: Spetsialnaya literature Publishing House; 2010. (In Russ.).
9. Sarkisov DS, Perov YuL. *Microscopic technique: A guide for physicians and laboratory technicians*. Moscow: Medicine Publishing House, 1996. (In Russ.).
10. Kiselev VV, Kashirina NK. The structure of the adrenal glands of white rats after the introduction of xenogenic cerebrospinal fluid before the onset of puberty. *Tavricheskiy Mediko-Biologicheskii Vestnik*. 2012; 15(2): 101-104. (In Russ.).

REFERENCES

1. Balakhonov SV, Dubrovina VI, Korytov KM, Voytkova VV, Vityazeva SA, Pyatidesyatnikova AB, et al. *Specific prevention of plague: State and prospects*; ed. by Popova AYU, Kutuyev VV. Saratov: Amirit Publishing House; 2021. (In Russ.).

Сведения об авторах

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Старовойтова Татьяна Пантелеевна – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Юрьева Ольга Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Витязева Светлана Александровна – кандидат медицинских наук, заведующая отделом микробиологии чумы, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: vityazeva.s@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0959-4987>

Пятидесятникова Анна Борисовна – младший научный сотрудник, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Иванова Татьяна Александровна – заведующая лабораторией экспериментальных животных, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6016-9610>

Корытов Константин Михайлович – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: konstmikhkor@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Мухтургин Геннадий Борисович – кандидат медицинских наук, врач-бактериолог лаборатории экспериментальных животных, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0340-8584>

Балахонov Сергей Владимирович – доктор медицинских наук профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзора, e-mail: dubrovinavalya@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Tatyana P. Starovoytova – Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Olga V. Yurieva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзора, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Svetlana A. Vityazeva – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department of Plague Microbiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзора, e-mail: vityazeva.s@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0959-4987>

Anna B. Pyatidesyatnikova – Junior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Tatyana A. Ivanova – Head of the Laboratory of Experimental Animals, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6017-9610>

Konstantin M. Korytov – Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзора, e-mail: konstmikhkor@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Gennady B. Mukhturgin – Cand. Sc. (Med.), Bacteriologist at the Laboratory of Experimental Animals, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0340-8584>

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>