

УДК 615.361.018.5.013.8.281:578.832.1

Е.С. ОНАСЕНКО*, Е.В. БРОВКО, В.В. ВОЛИНА, В.Л. ПОНОМАРЕВА

Инфицирование животных вирусом гриппа после предварительного введения препарата “Криоцелл-гемокорд”.

Сообщение I. Изучение функциональной активности иммунокомпетентных органов мышей

UDC 615.361.018.5.013.8.281:578.832.1

YE.S. ONASENKO*, YE.V. BROVKO, V.V. VOLINA, V.L. PONOMAREVA

Infection of Animals With the Influenza Virus After a Preliminary Administration of the Preparation “Cryocell-Haemocord”.

Report I. Investigation of Functional Activity of Murine Immunocompetent Organs

Установлено, что в результате применения препарата “Криоцелл-гемокорд” наблюдается длительный профилактический эффект, который обеспечивает невосприимчивость исследуемых животных к вирусу гриппа в течение 6 месяцев с момента его интраназального введения. Выявлено стимулирующее действие препарата на иммунокомпетентные органы мышей до и после заражения вирусом гриппа. Профилактическое применение препарата замедляет темпы репликации вируса. Интерес представляет дальнейшее изучение механизма противовирусного действия препарата “Криоцелл-гемокорд”.

Ключевые слова: иммунокомпетентные органы, кордовая кровь, вируснейтрализующее действие.

Встановлено, що при застосуванні препарату «Кріоцелл-гемокорд» спостерігається тривалий профілактичний ефект, який забезпечує несприйнятливості дослідних тварин до вірусу грипу протягом 6 місяців з моменту його інтраназального введення. Виявлена стимулююча дія препарату на імунокомпетентні органи мишей до та після зараження вірусом грипу. Профілактичне застосування препарату уповільнює темпи реплікації вірусу. Важливе подальше вивчення механізму противірусної дії препарату «Кріоцелл-гемокорд».

Ключові слова: імунокомпетентні органи, кордова кров, віруснейтралізуюча дія.

It was established that a long prophylactic effect, which provided immunity of the animals investigated to the influenza virus for 6 months after the intranasal administration of the preparation “Cryocell-haemocord”, was observed. A stimulating effect of the preparation on the mouse immunocompetent organs before and after the influenza virus infection was revealed. A prophylactic administration of the preparation delays the rate of virus replication. A further research on mechanisms of the anti-virus effects of the preparation “Cryocell-haemocord” is of great interest.

Key words: immunocompetent organs, cord blood, virus-neutralizing activity.

В настоящее время многие аспекты проблемы профилактики гриппа требуют дальнейшего исследования вследствие изменчивости генома, антигенных и биологических свойств вируса и периодического возникновения (через 4–8 лет) его новых родственных видов. Создание неспецифических средств профилактики гриппа является важнейшей задачей борьбы с инфекцией гриппа [1].

Установлено, что препарат “Криоцелл-гемокорд”, представляющий собой криоконсервированную суспензию ядродержащих клеток кордовой крови человека в аутологичной плазме [8], обладает после предварительного введения способностью нейтрализовать вирус гриппа А/Виктория

At present time a lot of aspects of the challenge in influenza prevention need further studying due to the virus genome mutability, antigen and biological variability and a periodic emergence (in 4–8 years) of its new cognitive species. The creation of the influenza prevention nonspecific agents is among the most vital tasks of the influenza infection control [1].

It was established that the preparation “Cryocell-Haemocord”, which is a cryopreserved suspension of human cord blood nucleated cells in autologous plasma [8], is able to neutralize the influenza virus A/Victoria after the preliminary administration and to provide 85–100% survival of the animals investigated depending on the term of the influenza virus infection [2, 7].

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+380 057) 373-31-26, факс: (+380 057) 373-30-84, электронная почта:
cryo@online.kharkov.ua

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 3126, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

и обеспечивает выживаемость исследуемых животных на 85–100% в зависимости от срока инфицирования вирусом гриппа [2, 7].

Цель работы – изучение противовирусного действия препарата “Криоцелл-гемокорд” на основе результатов исследования состояния центрального (тимус) и периферических (лимфатические узлы, селезенка, кровь) органов иммунологической защиты, легких у экспериментальных животных, инфицированных вирусом гриппа в зависимости от срока предварительного введения препарата.

Материалы и методы

В эксперименте использовали 2-месячных самок мышей линии Balb/C массой 18–20 г. Исследования выполняли в соответствии с “Общими принципами экспериментов на животных”, одобренными III Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2007) и согласованными с положениями “Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985). Все оперативные вмешательства на животных проводили под ингаляционным эфирным наркозом.

В опытную группу O_1 входили мыши, которым был введен препарат “Криоцелл-гемокорд” и которых через 6 месяцев инфицировали вирусом гриппа А/Виктория в дозе $LD_{100/10} = 10^2$. Остальных животных разделили на контрольные группы (по 10 мышей в каждой): K_1 – 8-месячные мыши, инфицированные вирусом гриппа в дозе $LD_{100/10} = 10^2$; K_2 – мыши через 6 месяцев после введения препарата “Криоцелл-гемокорд”; K_3 – 8-месячные интактные мыши.

Препарат “Криоцелл-гемокорд” и вирус вводили мышам интраназально в объеме 0,05 мл.

Выживаемость контролировали ежедневно в течение 10 суток после инфицирования вирусом гриппа.

Штамм вируса гриппа А/Виктория, предоставленный Ленинградским институтом гриппа РАМН, прошел 6 пассажей на белых мышах и 2 пассажа на куриных эмбрионах. Титр гемагглютининов инфицированной аллантоисной жидкости соответствовал 1:512, инфекционный титр – $10^4 LD_{50/10}$.

На 7 и 14-е сутки после инфицирования вирусом гриппа А/Виктория у мышей опытной группы O_1 , на 7-е сутки после инфицирования контрольной группы K_1 , а также групп K_2 и K_3 изымали легкие и иммунокомпетентные органы для их морфометрического и цитологического анализа (определение массы органов и концентрации в них клеток). Количество клеток в 1 мл суспензии, полученной после их гомогенизации, подсчитывали с использованием камеры Горяева [3].

Наличие специфических антител к вирусу гриппа А/Виктория в сыворотке крови исследуемых

The aim of the work is investigating the anti-virus activity of the preparation “Cryocell-Haemocord” basing on studying the state of the central (thymus) and peripheral (lymphatic glands, spleen, blood) organs of immune protection and lungs in the experimental animals infected with the influenza virus depending on the term of the preliminary administration of the preparation.

Materials and methods

2-month mouse females (line Balb/C), in weight of 18–20 g, were used in the experiments. The experiments were carried out according to the “General ethical principles of experiments in animals”, approved by the 3rd National Congress on Bioethics (Kiev, 2007) and coordinated with the statements of “European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes” (Strasbourg, 1985). All the surgical procedures were performed in the animals under ether inhalation narcosis.

The experimental group E_1 comprised the mice, which were introduced with the preparation “Cryocell-Haemocord” and infected with the influenza virus A/Victoria 6 months later. The virus dose was $LD_{100/10} = 10^2$. The remaining animals were divided into the control groups (10 mice in each): C_1 – 8-month mice infected with the influenza virus at the dose $LD_{100/10} = 10^2$; C_2 – mice 6 months after the preparation “Cryocell-Haemocord” introduction; C_3 – 8-month intact mice.

The preparation “Cryocell-haemocord” and the virus were introduced to mice intranasally in the volume of 0.05 ml.

The survival was monitored daily for 10 days after the influenza virus infection.

The influenza virus strain A/Victoria granted by Leningrad Institute of Influenza of Russian Academy of Medical Sciences was passaged 6 times in white mice and twice in chicken embryos. The hemagglutinin titer in the infected allantoic fluid was 1:512, the infectious titer was $10^4 LD_{50/10}$.

Lungs and immunocompetent organs for their morphometric and cytological assay (estimating the organ weights and cell concentrations in them) were extracted on the 7th and 14th days after the influenza virus strain A/Victoria infection from the mice of the experimental group E_1 and on the 7th day after infection from the mice of the control groups C_1 , C_2 and C_3 . The quantity of cells in 1 ml of the suspension obtained after homogenizing the organs was counted in Goryaev’s chamber [3].

Occurrence of specific antibodies against the influenza virus A/Victoria in blood serum of the animals studied was determined by hemagglutination-inhibition reaction (HAIR) with the preliminary determination of the virus hemagglutination titer (1HAE) and the virus effective dose (4HAE) [6]. No antibodies were found in the sera of the animals from the group C_3 . Occu-

животных определяли по реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с предварительным установлением гемагглютинирующего титра (1 ГАЕ) вируса и его рабочей дозы (4 ГАЕ) [6]. В сыворотке животных группы K_3 данные антитела не выявлены. Наличие вируса в органах животных и его титр определяли по реакции гемагглютинации (РГА) [6].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли по методу Стьюдента с учетом коэффициента Фишера. Достоверность различий оценивали с помощью t-критерия с уровнем значимости 5% [4].

Результаты и обсуждение

Выживаемость животных в опытной группе O_1 составляла 85%, тогда как в группе K_1 погибли все. Необходимо отметить, что продолжительность жизни мышей до их гибели в опытной группе O_1 увеличивалась, гибель наступала на 6–8-е сутки с момента инфицирования, тогда как в контрольной группе K_1 гибель наступала уже на 3–4-е сутки. Это свидетельствует о том, что препарат “Криоцелл-гемокорд” активизирует механизмы противовирусного иммунитета на протяжении 6 месяцев после его введения.

Установлено, что при заражении вирусом гриппа и введении препарата “Криоцелл-гемокорд” увеличивалась масса селезенки и лимфатических узлов животных, однако масса тимуса (данные не приведены) не изменялась. При заражении вирусом гриппа после предварительного введения препарата “Криоцелл-гемокорд” масса селезенки во все сроки исследования была больше, чем в контрольных группах K_2 и K_3 и не отличалась от таковой в группе K_1 . Масса лимфатических узлов к 7-м суткам развития инфекции в группе O_1 была достоверно больше, чем у интактных мышей, но не достигала значений в контрольных группах K_1 и K_2 ; к 14-м суткам масса лимфатических узлов уменьшалась до значений интактных животных.

В табл. 1 показано, что при заражении животных вирусом гриппа (группа K_1) уменьшалась клеточность всех исследуемых органов, кроме селезенки (показатель не изменялся), и лимфатических узлов (показатель достоверно возрастал).

Введение препарата “Криоцелл-гемокорд” (группа K_2) приводило к увеличению клеточности лимфатических узлов и костного мозга, уменьшению количества лейкоцитов и эритроцитов; показатели клеточности тимуса и селезенки не изменялись (табл. 1).

Во все сроки исследования количество лейкоцитов в группе O_1 было достоверно больше, чем в группах K_1 и K_2 , но не достигало значений интактных животных.

rence of the virus in the animals' organs and its titer was estimated by hemagglutination reaction (HAR) [6].

The data obtained were statistically processed by the Student method taking into account Fisher's coefficient. Significance of differences was assessed by the t-test with the significance level 5%.

Results and discussion

The survival of animals in the experimental group E_1 was 85%, while no animals from the group C_1 survived. It is necessary to note that the life span in the mice from the experimental group E_1 before their death increased, the animals died on the 6th–8th day after the infection, while the control C_1 animals died on the 3rd–4th day. That indicates that the preparation “Cryocell-haemocord” activated mechanisms of antiviral immunity for 6 months after its introduction.

It was shown that after the influenza virus infection and the preparation “Cryocell-Haemocord” introduction spleen and lymph node weights increased, but thymus weight did not change (the data are not presented). When the animals were infected with the influenza virus after the preliminary administration of the preparation “Cryocell-Haemocord”, spleen weight was bigger than in the control groups C_2 and C_3 and did not differ from that in the group C_1 during the whole period of research. On the 7th day of the infection progression lymph node weight was significantly bigger in the group E_1 than in the intact mice, but did not amount to the values in the control groups C_1 and C_2 ; lymph node weight decreased to the values typical for intact mice by the 14th day.

In Table 1 one can see that after the influenza virus infection (group C_1) cellularity reduced in all the organs studied except spleen (the index did not change) and lymph nodes (the index enhanced significantly).

The preparation “Cryocell-haemocord” introduction (group C_2) resulted in a rise in lymph node and bone marrow cellularities, a decline in leukocyte and erythrocyte quantities; thymus and spleen cellularities did not change (Table 1).

The leukocyte quantity in the group E_1 was significantly higher than in the groups C_1 and C_2 , though did not amount to the values of the intact animals during the whole period of investigation.

The erythrocyte quantity in mouse blood in the group E_1 was significantly lower than that in the intact animals on the 7th and 14th days of studying, but on the 7th day it was higher in comparison with the control groups C_1 and C_2 , and by the 14th day it was the same as the group C_2 value.

The quantity of bone marrow nucleated cells in the experimental group E_1 did not differ from the index of the intact animals on the 7th day after infection and by the 14th day reached the value typical for the control group C_2 .

Количество эритроцитов в крови мышей группы O_1 на 7 и 14-е сутки исследования было достоверно меньше, чем у интактных животных, но на 7-е сутки увеличивалось по сравнению с контрольными группами K_1 и K_2 , а к 14-м суткам не отличалось от значения группы K_2 .

Количество ядросодержащих клеток костного мозга у экспериментальных животных на 7-е сутки после инфицирования в группе O_1 не отличалось от показателя интактных животных, а к 14-м суткам достигало значения, характерного для контрольной группы K_2 .

Клеточность тимуса на 7-е сутки в группе O_1 не отличалась от показателя животных, зараженных вирусом гриппа, но к 14-м суткам резко возрастала и была более чем в 2,5 раза больше клеточности тимуса у животных группы K_2 (табл. 1).

Клеточность селезенки в группе O_1 на 7-е сутки также не отличалась от показателя животных группы K_1 к 14-м суткам исследования он снижался до значений интактных животных (табл. 1).

На 7-е сутки после инфицирования вирусом гриппа животных группы O_1 клеточность лимфатических узлов превышала эти значение у мышей контрольных групп, кроме группы K_2 , а к 14-м суткам снижалась и превышала лишь соответствующие значения контрольной группы K_3 (табл. 1).

Титры вируснейтрализующих антител в сыворотке крови животных группы K_3 установлены не были (табл. 2). Развитие вирусной инфекции у животных группы K_1 приводило к появлению данных антител в максимальном титре 1:64, а при заражении вирусом гриппа на фоне предварительного введения препарата “Криоцелл-гемокорд” (группа O_1) – к резкому увеличению титра вируснейтрализующих антител на 7-е сутки с последующей тенденцией к росту к 14-е суткам после заражения (табл. 2).

Таблица 1. Средние значения концентрации клеток иммунокомпетентных органов животных экспериментальных групп
Table 1. Average values of cell concentrations of immunocompetent organs in the animals

Исследуемый материал The material investigated	Группы животных после инфицирования, сутки Groups of animals after infection, days			K_2 C_2	K_3 C_3
	O_1 E_1		K_1 C_1		
	7	14	7		
Лейкоциты, $\times 10^6$ кЛ/мл Leukocytes, $\times 10^6$ cells/ml	10,37 \pm 1,46 ^{1,2,3}	9,96 \pm 2,32 ^{1,2,3}	6,78 \pm 0,8 ³	5,43 \pm 0,21 ³	12,58 \pm 0,33
Эритроциты, $\times 10^9$ кЛ/мл Erythrocytes, $\times 10^9$ cells/ml	8,28 \pm 0,65 ^{1,2,3}	6,26 \pm 0,45 ^{1,2}	5,6 \pm 0,1 ³	6,65 \pm 0,4 ³	11,18 \pm 0,77
Костный мозг, $\times 10^7$ кЛ/кость Bone marrow, $\times 10^7$ cells/bone	1,18 \pm 0,057 ^{1,2}	1,59 \pm 0,15 ^{1,3}	0,59 \pm 0,001 ³	1,38 \pm 0,08 ³	1,06 \pm 0,15
Тимус, $\times 10^5$ кЛ/мг Thymus, $\times 10^5$ cells/mg	4,5 \pm 0,54 ^{2,3}	21,74 \pm 2,85 ^{1,2,3}	5,58 \pm 0,85 ³	7,65 \pm 1,6	7,17 \pm 0,39
Селезенка, $\times 10^6$ кЛ/мг Spleen, $\times 10^6$ cells/mg	1,49 \pm 0,061 ^{1,2,3}	1,11 \pm 0,01 ^{1,2}	1,33 \pm 0,19	1,29 \pm 0,11	1,16 \pm 0,38
Лимфоузлы, $\times 10^4$ кЛ/мг Lymph nodes, $\times 10^4$ cells/mg	11,71 \pm 3,32 ^{1,2,3}	6,32 \pm 0,49 ^{1,2,3}	8,4 \pm 0,26 ³	17,88 \pm 3,37 ³	2,44 \pm 1,7

Примечание: ^{1,2,3} – статистически достоверные различия по сравнению с группами K_1 , K_2 , K_3 соответственно ($p < 0,05$).

Note: ^{1,2,3} – statistically significant differences as compared to the groups C_1 , C_2 , C_3 correspondingly ($p < 0.05$).

The thymus cellularity in the group E_1 was the same as the value of the animals infected with the influenza virus on the 7th day, but on the 14th day it increased drastically and was 2.5 times as much as the thymus cellularity in the animals from the group C_2 .

The spleen cellularity in the group E_1 was the same as the value of the group C_1 animals on the 7th day, too, and by the 14th day of investigation it decreased to the intact animals' value (Table 1).

On the 7th day after infection of the group E_1 animals with the influenza virus the lymph node cellularity exceeded the values in the mice of the control groups, except the group C_2 , and by the 14th day it lowered and exceeded only the control group C_3 value (Table 1).

No virus-neutralizing antibody titers in blood sera in the group C_3 animals were registered (Table 2). The virus infection progression in the group C_1 animals resulted in emergence of these antibodies in the maximal titer 1:64, and the virus infection progression against the background of the preliminary administration of the preparation “Haemocord” led to a drastic rise in the virus-neutralizing antibody titer on the 7th

Таблица 2. Титр противовирусных антител в сыворотке крови животных экспериментальных групп

Table 2. Virus-neutralizing antibody titers in the animals' blood sera

Титр антител Antibody titers	Распределение групп животных по титру вируса (%) после инфицирования Distribution of the animal groups by the virus titer (%) after the infection		
	O ₁ E ₁		K ₁ C ₁
	7-е сутки 7 th day	14-е сутки 14 th day	7-е сутки 7 th day
1:32	—	14,4	28,7
1:64	14,3	—	71,3
1:128	14,3	—	—
1:256	42,8	28,5	—
1:512	14,3	28,5	—
1:1024	14,3	14,3	—
1:2048	—	14,3	—

При исследовании органов мышей с целью определения содержания вируса гриппа и установления его гемагглютинирующего титра в РГА было обнаружено, что на 7-е сутки вирус гриппа выявлялся в легких, селезенке, тимусе и лимфоузлах в группах животных O₁ и K₁ (табл. 3). В группах K₂ и K₃ вирус в органах животных выявлен не был. Животных с низким титром вируса в органах и животных, у которых вирус в исследуемых органах не обнаруживался, было больше в группе O₁ по сравнению с группой K₁. На 14-е сутки исследования вирус еще обнаруживался в органах животных группы O₁, но его титр уменьшался. Все животные контрольной группы K₁ в этот срок погибли (табл. 3).

Установлено, что препарат “Криоцелл-гемокорд” оказывает влияние на состояние иммунокомпетентных органов мышей на протяжении 6 месяцев после введения и повышает активность этих органов при последующем заражении вирусом гриппа. Введение препарата приводит к существенному увеличению клеточности костного мозга, а также клеточности и массы лимфати-

day with the following tendency towards enhancement by the 14th day after the infection (Table 2).

The investigation of mouse organs focused on the influenza virus content determination and its hemagglutinin titer in HAR revealed the influenza virus in lungs, spleen, thymus and lymph nodes in the E₁ and C₁ animals (Table 3) on the 7th day. No virus was found in the C₂ and C₃ animals' organs. There were more animals with the low virus titer in their organs and the animals without virus at all in the group E₁ in comparison with the group C₁. On the 14th day of the investigation the virus was still determined in the E₁ animals' organs, but its titer was reducing. All the animals in the group C₁ had died by this date (Table 3).

The preparation “Cryocell-haemocord” was discovered to influence the mouse immunocompetent organs state for 6 months after its introduction and to enhance activity of these organs under the following influenza virus infection. The preparation introduction leads to the considerable rise in bone marrow cellularity, as well as lymph node and spleen cellularities and weights, which can be one of the factors providing a high level of immune protection of the mouse organism under the following influenza virus infection. The infection of the animals against the background of the preliminary administration of the preparation “Cryocell-Haemocord” caused a slight depletion of bone marrow, thymus and lymph nodes, which can be explained by activation of these organs in response to the virus intrusion accompanied by a release of immunocompetent cells. A further progress of the infection resulted in bone marrow and thymus activation, which manifested

Таблица 3. Титр вируса гриппа (по РГА) в органах животных экспериментальных групп

Table 3. The influenza virus titer (by HAR) in the animals' organs

Группы животных после инфицирования, сутки Groups of the animals after the infection, days					
O ₁ E ₁		K ₁ C ₁			
7		14		7	
Легкие Lungs	Селезенка Spleen	Легкие Lungs	Селезенка Spleen	Легкие Lungs	Селезенка Spleen
1:4 (21,7) 1:8 (26,1) 1:16 (26,1) 1:32 (26,1)	(47,4)* 1:2 (26,3) 1:4 (26,3)	1:2 (15) 1:4 (30) 1:8 (30) 1:16 (25)	(37,5)* 1:1 (37,5) 1:2 (25)	1:2 (19,35) 1:4 (19,35) 1:8 (19,35) 1:16 (19,3) 1:32 (19,3) 1:64 (3,25)	1:2 (33,33) 1:4 (33,33) 1:8 (33,33)
Тимус Thymus	Лимфоузлы Lymph nodes	Тимус Thymus	Лимфоузлы Lymph nodes	Тимус Thymus	Лимфоузлы Lymph nodes
1:1 (40) 1:2 (60)	1:2 (33,3) 1:4 (44,4) 1:8 (11,1) 1:16 (11,1)	(49,9)* 1:1 (50,1)	1:1 (45,5) 1:2 (45,5) 1:4 (9,1)	1:2 (31,25) 1:4 (31,25) 1:8 (25) 1:16 (12,5)	1:2 (33,33) 1:4 (33,33) 1:8 (22,22) 1:16 (11,11)

Примечание: * – вирус не обнаружен; в скобках дано количество животных (%), имеющих данный титр вируса.

Note: * – no virus was determined; percentage of the animals having the given virus titer is in brackets.

ческих узлов, селезенки животных, что, возможно, является одним из факторов, обеспечивающих высокий уровень иммунологической защиты организма мышей при последующем инфицировании вирусом гриппа. Заражение животных на фоне предварительного введения “Криоцелл-гемокорда” приводило к незначительному истощению костного мозга, тимуса и лимфатических узлов, что можно объяснить активизацией этих органов в ответ на внедрение вирусной инфекции, сопровождающейся выбросом иммунокомпетентных клеток. Дальнейшее развитие инфекции приводило к активизации костного мозга и тимуса, что выразалось в значительном увеличении клеточности костного мозга, клеточности и массы тимуса.

На основании полученных результатов можно предположить, что причиной гибели животных группы K_1 является высокая репродукция вируса, тогда как в группе O_1 при введении препарата “Криоцелл-гемокорд” наблюдаются снижение репродукции вируса гриппа и ослабление его инфекционной активности. Наиболее вероятным механизмом снижения репродукции вируса является более высокая способность к синтезу специфических антител, обусловленная активизацией препаратом “Криоцелл-гемокорд” иммунной системы. Вируснейтрализующие антитела, выявленные в сыворотке крови исследуемых животных, действуют на наружные корпускулярные антигены вириона и избирательно подавляют способность вирусов к репродукции, вследствие блокирования начальных этапов взаимодействия вируса с чувствительными клетками (адсорбция и проникновение). Кроме того, вируснейтрализующие антитела стимулируют фагоцитоз зараженных вирусом клеток макрофагами, в результате чего в цитоплазме макрофага изолируется и обезвреживается скопление инфекционных вирионов и продуктов клеточного распада [5]. Визуальное исследование выделенного патологического материала подтверждает данное предположение. Легкие животных в группе K_1 на 50–90% поражены геморрагической пневмонией с характерной картиной “опеченения” легких и каемкой воздушной ткани по периферии. Легкие животных опытной группы O_1 поражены незначительно, выявлены единичные точечные кровоизлияния. Полученные данные свидетельствуют о выраженном профилактическом действии препарата “Криоцелл-гемокорд”.

Выводы

1. Интраназальное введение препарата “Криоцелл-гемокорд” обеспечивает невосприимчивость исследуемых животных к вирусу гриппа А/Виктория в течение 6 месяцев.

itself in the considerable increase in bone marrow and thymus cellularities and thymus weight.

Basing of the results obtained one can assume that the cause of the animals' mortality in the group C_1 is a high rate of the virus propagation, while in the group E_1 after the introduction of the preparation “Cryocell-Haemocord” a decline in the rate of the influenza virus propagation and abatement of its infectious activity were observed. The most plausible mechanism of the decline in the virus propagation is a higher capability for specific antibody synthesis conditioned by the preparation “Cryocell-Haemocord” activation of immune system. The virus-neutralizing antibodies determined in the blood sera of the animals investigated affect external corpuscular antigens of a virion and suppress selectively the virus capacity for reproduction because of arrest of initial stages (absorption and penetration) of the virus-sensitive cells interactions. Besides the virus-neutralizing antibodies stimulate phagocytosis of the virus-infected cells by macrophages, as a result of which agglomerations of infectious virions and cell degradation products are isolated and neutralized in the macrophage cytoplasm [5]. The visual assay of the extracted pathological material confirms this assumption. Lungs of the C_1 animals are affected by hemorrhagic pneumonia by 50–90% with a distinctive pattern of “hepatization” of lungs and air tissue limbus at the periphery. Lungs of the E_1 animals are affected slightly, there are solitary point hemorrhages. The data obtained attest to the conspicuous prophylactic effect of the preparation “Cryocell-Haemocord”.

Conclusions

1. The intranasal introduction of the preparation “Cryocell-Haemocord” provides 6-month immunity of the animals investigated against the influenza virus A/Victoria disease.

2. The preparation “Cryocell-Haemocord” activates the animals' immunocompetent organs during the virus infection progression.

3. The preparation “Cryocell-Haemocord” introduction stimulates specific anti-virus immunity, which is confirmed by the high titers of the virus-neutralizing antibodies in blood serum.

4. The cumulative effect of the preparation “Cryocell-Haemocord” activity towards the influenza virus lies in the considerable reduction in the virus propagation, which is likely to provide the high survival of the animals.

References

1. *Voziyanova Zh.I.* Infectious and parasitological diseases.— Kiev: Zdorovya, 2000.— Vol. 1.— P. 63–96.

2. Препарат “Криоцелл-гемокорд” активизирует состояние иммунокомпетентных органов животных при развитии вирусной инфекции.

3. Введение препарата “Криоцелл-гемокорд” стимулирует специфический противовирусный иммунитет, о чем свидетельствует наличие в сыворотке крови вируснейтрализующих антител в высоких титрах.

4. Суммарным эффектом действия препарата “Криоцелл-гемокорд” в отношении вируса гриппа является значительное снижение репродукции вируса, что, возможно, обеспечивает высокую выживаемость исследуемых животных.

2. Zheltyakova I.A., Brovko Ye.V. A novel approach to the influenza prophylaxis // *Medicine of the Third Millenium: Proceedings of Conference of Young Scientists*.– Kharkov, 2006.– P. 93–94.
3. *Laboratory methods of investigation in clinic* / Ed. by V.V. Men-shikov.– Moscow: Meditsina, 1987.– 368 p.
4. Lakin G.F. *Biometry*.– Moscow: Vysshaya shkola, 1980.– 293 p.
5. Petrov R.V. *Immunology*.– Moscow: Meditsina, 1982.– 368 p.
6. *Manual on microbiological and virological methods of investigation* / Ed. by M.O. Birger.– Moscow: Meditsina, 1982.– 461 p.
7. Tsutsayeva A.O., Glushko T.O., Lobasenko N.P. et al. Hemo-cord – a preparation for complex therapy // *Transplantologiya*.– 2003.– Vol. 4, N1.– P. 46–48.
8. *Patent of Ukraine N31847A, IPC A01N1/02*. A method for cryopreservation of cord blood hemopoietic cells / A.O. Tsutsayeva, V.I. Grischenko, O.V. Kudokotseva et al.– Filed in 11.05.98. Published in 12.15.2000. Bul. N7.

Литература

1. Возиянова Ж.И. *Инфекционные и паразитарные болезни*.– Киев: Здоров'я, 2000.– Т. 1.– С. 63–96.
2. Желтякова И.А., Бровко Е.В. Новый подход к профилактике гриппа // *Медицина третьего тысячеліття: 36. тез. міжвузівської конференції молодих вчених*.– Харків, 2006.– С. 93–94.
3. *Лабораторные методы исследования в клинике* / Под ред. В.В. Меншикова.– М.: Медицина, 1987.– 368 с.
4. Лакін Г.Ф. *Биометрия*.– М.: Высш. школа, 1980.– 293 с.
5. Петров Р.В. *Иммунология*. – М.: Медицина, 1982.– 368 с.
6. *Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования* / Под ред. М.О. Биргера. – М.: Медицина, 1982.– 461 с.
7. Цуцаева А.О., Глушко Т.О., Лобасенко Н.П. та ін. Гемокорд – препарат комплексної терапії // *Трансплантологія*.– 2003.– Т. 4, №1.– С. 46–48.
8. *Пат. України №31847А, МПК А01N1/02*. Спосіб криоконсервування кровотворних клітин кордової крові / А.О. Цуцаева, В.І. Грищенко, О.В. Кудокотсева та інш.– Заявлено 05.11.98. Опубл. 15.12.2000. Бюл. №7.

Accepted in 07.07.2009

*Поступила 07.07.2009
Рецензент И.П. Высеканцев*