

ISSN 2072-2419



№ 1

# Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

INTERNATIONAL BULLETIN  
OF VETERINARY MEDICINE



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2014

[www.gavm.spb.ru](http://www.gavm.spb.ru)

## Качественные расходные материалы для Ваших лабораторий

Первая Лабораторная Компания была основана в 2010 году, и за годы работы стала ведущим производителем и поставщиком гистологических расходных материалов на рынке.

Успех основан на простой формуле: «Качественная продукция по разумным ценам». В данный момент мы производим более 70 различных реагентов, красителей, наборов красителей и сопутствующих расходных материалов. Мы постоянно находимся в поисках и разработках новых продуктов для лабораторной диагностики. Для этого мы прислушиваемся к интересам наших клиентов и партнеров, привлекаем опытных специалистов для реализации идей и тестирования новых разработок, тщательно выбираем поставщиков материалов и всегда следим за качеством готовой продукции.



химические реактивы    красители    наборы красителей    стекла для микроскопии    гистологический парафин    монтирующие среды    маркировка

### Собственное производство, умные цены!



**ПЕРВАЯ  
ЛАБОРАТОРНАЯ  
КОМПАНИЯ**

+7 (812) 331-00-30  
info@1plk.ru  
www.1plk.ru  
Санкт-Петербург  
Свердловская набережная д. 60

**Редакционный совет**

А.А. Стекольников – гл. ред., член-корр.  
РАСХН, д.в.н., проф., СПб  
В.Д. Соколов – зам. гл. ред. д.в.н. проф., СПб  
А.И. Ятусевич – зам. гл. ред. д.в.н. проф.,  
Витебск

**Редакционная коллегия**

А.А. Алиев, д.в.н., проф., СПб.  
Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.  
Л.М. Белова, д.б.н., проф., СПб.  
М.И. Гулюкин, акад. РАСХН, д.в.н., проф.  
Москва.  
Н.В. Зеленецкий, д.в.н., проф., СПб.  
Л.Ю.Карпенко, д.б.н., проф., СПб.  
С.П. Ковалев, д.в.н., проф., СПб.  
А.А. Кудряшов, д.в.н., проф., СПб.  
В.А. Кузьмин, д.в.н., проф., СПб.  
М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.  
К.В. Племяшов, д.в.н., проф., СПб.  
Б.С. Семенов, д.в.н., проф., СПб.  
А.М. Смирнов, акад. РАСХН, д.в.н., проф.,  
Москва.

А.А. Сухинин, д.б.н., проф., СПб.  
А.Н. Шиков, д.ф.н., проф., СПб.

**Редакционно-технический отдел**

В.Д. Соколов, д.в.н. проф., СПб.  
Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.  
М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.  
А.В. Рыбакова, к.в.н., СПб.

Сдано в набор 20.03.2014

Подписано к печати 20.03.2014

Формат 70×100 1/16.

Бумага глянецовая № 1. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 5,2+1,63 цв. вкл.

Усл. Кр.-отт. 18,2. Тираж 1001 экз.

**Editor –in– chief**

A.A. Stekolnikov professor, DVM, Corresponding  
Member of the Russian Academy of Agricultural  
Sciences

**Managing Editor**

V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg  
A.I. Yatusевич - professor, DVM, Vitebsk

**Editorial Board**

A.A. Aliyev - professor, DVM, St. Petersburg  
N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg  
L.M. Belova - professor, DBS, St. Petersburg  
M.I. Gulyukina - Academician of the Agricultural  
Russian Academy of Agricultural Sciences, DVM,  
professor, Moscow  
N.V. Zelenevski - professor, DVM, St. Petersburg  
L.Y. Karpenko - professor, DBS, St. Petersburg  
S.P. Kovalev - professor, DVM, St. Petersburg

A.A. Kudryashov - professor, DVM, St. Petersburg  
V.A. Kuzmin - professor, DVM, St. Petersburg  
M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg .  
K.V. Plemyshev - professor, DVM, St. Petersburg  
B.S. Semenov - professor, DVM, St. Petersburg  
A.M. Smirnov - Academician of the Agricultural  
Russian Academy of Agricultural Sciences, DVM,  
professor, Moscow

A.A. Sukhinin - professor, DVM, St. Petersburg  
A.N. Shikov - professor, DFS, St. Petersburg

**Technical Department**

V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg  
N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg  
M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg  
A.V. Rybakova - PhD, St. Petersburg

Sent to 03/14/2014

Signed for printing 14/03/2014

The format of 100 × 70 1/16 .

Glossy paper number 1. Offset printing.

Conv. Pec. liter. 5.2 1.63 fl. incl.

Conv. Cr. - ott . 18.2 . Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки: Колледж ветеринарной медицины Флориды. Колледж ветеринарной медицины (UFCVM) был основан в 1976 году и является одним из шести школ, которые входят в состав Научного центра здоровья животных. UFCVM является единственным аккредитованным ветеринарным колледжем Флориды и предоставляет множество неповторимых образовательных программ для студентов.

**НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ  
ЖУРНАЛ**

Номер государственной регистрации СМИ ПИ № ФС 77-28268 от 18 мая 2007 г. Подписной индекс в агентстве Роспечать 82393.

Учредитель — Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (ФГОУ ВПО «СПбГАВМ»)

Журнал основан в январе 2004 года в Санкт-Петербурге и входит в список ведущих лицензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

Журнал распространяется по всем регионам России и Республике Беларусь (ВУЗЫ, НИИ, ВЕТЕРИНАРНЫЕ ОТДЕЛЫ).

Журнал выходит не менее 4 раз в год. В нем публикуются работы по всем основным вопросам ветеринарии и смежным дисциплинам.

В этот журнал Вы можете поместить рекламу Вашей фирмы. Объявления и коммерческая реклама публикуются после оплаты. Срок исполнения – в течение 3 месяцев.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных объявлений.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Мнение авторов и редакции по отдельным вопросам может не совпадать.

Плата с аспирантов за публикацию рукописи не взимается.

Справки и технические возможности типографии, в которой печатается журнал, оговариваются по телефону (812) 387-11-58.

**Адрес редакции:** 196084, СПб, ул. Черниговская дом 5, СПбГАВМ, редакция журнала «Международный вестник ветеринарии» (МВВ).

**RESEARCH AND PRODUCTION  
JOURNAL**

State registration number media PI № FS 77-28268 on May 18, 2007

Subscription Index Rospechat 82393.

Founded in January 2004 by Federal State Educational Institution of Higher Professional Education "Saint - Petersburg State Academy of Veterinary Medicine " ( FSEI- HPE " SPbGAVM")

International Bulletin of Veterinary an academic international peer-reviewed journal that publishes original research articles as well as review articles in veterinary sciences and related academic disciplines. It covers all the scientific and technological aspects of veterinary sciences in general, anatomy, physiology, biochemistry, pharmacology, microbiology, pathology, public health, parasitology, infectious diseases, clinical sciences, alternative veterinary medicine and other biomedical fields.

The manuscripts submitted to this journal must be previously unpublished and not be under consideration for publication elsewhere. Manuscripts that are found to have been plagiarized from a manuscript by other authors, whether published or unpublished, will incur plagiarism sanctions.

This journal, including all individual contributions and illustrations published therein, is legally protected by copyright. Any use, exploitation or commercialisation is illegal and liable to criminal prosecution.

Requests about legal photocopy reproduction, copyright or duplication processing should be addressed to the editorial office:

196084, St. Petersburg, ul . Chernihiv house 5 SPbGAVM ,

Editorial Board of "International Bulletin of Veterinary Medicine" (IBVM)  
phone +7-812- 3871158 .

## СОДЕРЖАНИЕ

Инва- зионные болезни	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Влияние токсинов <i>Pseudomonas aeruginosa</i> на лейкоциты и клетки печени белых мышей и белых крыс <i>in vitro</i>. <i>Малинин М.Л., Габалов К.П., Тарасенко Т.Н., Ласка- 7</i> <i>вый В.Н.</i></li> </ul>	
Незара- зные болезни	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Комплексный метод лечения диареи телят с использованием средств фитотерапии. <i>Яшин А.В., Киселенко П.С.</i> 12</li> <li>● Повышение продуктивности и сохранности телят. <i>Тухфатова Р.Ф.</i> 16</li> <li>● Исследование эффективности применения кормовых добавок «Гастрорвет» и «Гидроактив» при диспепсии у новорожденных телят в условиях хозяйства. <i>Ришко О.А.</i> 20</li> </ul>	
Фармако- логия, токсиколо- гия, фармация	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Эффективность и токсичность акарицидов при демодекозе собак. <i>Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Фисенков Н.Н.</i> 25</li> </ul>	
Биохимия, анатомия, физиоло- гия	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Прогнозирование группы риска у жеребых кобыл. <i>Потанова А.Ю.</i> 29</li> <li>● Белковый состав молозива кобыл первых часов лактации. <i>Потанова А. Ю., Баже- 33</i> <i>нова Н. Б., Племяшов К. В.</i></li> <li>● Гигиеническая оценка использования Селерана для молодняка свиней. <i>Иванова- 37</i> <i>Сальникова В.Г.</i></li> <li>● Микрореологические свойства эритроцитов у новорожденных поросят, перенес- 41 <i>ших при рождении острую гипоксию. Медведев И.Н., Парахневич А.В.</i></li> <li>● Ультроструктура паренхимы нелактующей молочной железы коз зааненской 46 <i>породы. Щипакин М.В.</i></li> <li>● Показатели липидограммы сыворотки крови собак и кошек без клинических при- 52 <i>знаков патологии. Землянский А.А., Локес-Крупка Т.П. Кузьмина Ю.В.</i></li> <li>● Оценка накопления тяжёлых металлов в почвах Вологодской области. 57 <i>Рыжаков А.В., Русецкий С.С., Вечеринина А.И.</i></li> <li>● Морфология основных источников кровоснабжения головного мозга быка домаш- 60 <i>него. Прусаков А.В.</i></li> <li>● Цитологические характеристики бронхоальвеолярной лаважной жидкости у быч- 65 <i>ков, больных неспецифической бронхопневмонией. Крячко О.В., Агапиев Д.А.</i></li> </ul>	
Экспери- менталь- ная фармако- логия	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Этические принципы обращения с животными в России. <i>Селезнева А.И., Макарова М.Н</i> 69</li> <li>● Особенности патологоанатомического исследования группы экспериментальных 75 <i>животных. Мужикян А.А., Макарова М.Н., Гуцин Я.А.</i></li> <li>● Механизм противовоспалительного действия комплекса, выделенного из печени 80 <i>трески. Ингибирование ЦОГ-2 и 5-ЛОГ. (Сообщение №2). Крышень К.Л., Фаусто- ва Н.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i></li> <li>● Рекомендации по оценке иммуноксических свойств лекарственных средств. 85 <i>Фагоцитарная активность макрофагов. Касторнова А.Е., Коротченко Е.С., Кры- шень К.Л., Ацапкина А.А., Бекетова Д.Д., Макарова М.Н</i></li> <li>● Иммунологический статус лабораторных животных при моделировании состояний 91 <i>гиперчувствительности немедленного типа. Ацапкина А.А., Крышень К.Л., Кастор- нова А.Е., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i></li> <li>● Индивидуально вентилируемые клетки – Лишние финансовые вложения или опти- 100 <i>мальная защита персонала и лабораторных животных? Траценко Д, Ковалева М.</i></li> </ul>	

CONTENTS

<b>Invasious diseases</b>	• <i>Influence of Pseudomonas aeruginosa toxins on the leukocytes and liver cells of white mice and white rats in vitro.</i> M.L. Malinin, K.P. Gabalov, T.N. Tarasenko, V.N. Laskavy	7
<b>Non-communicable disease</b>	• <i>Comprehensive treatment of calves diarrhea with the use of herbal medicine.</i> A.V. Yashin, P.S. Kiselenko	12
	• <i>Increase productivity and safety of calves.</i> R.F. Tukhfatova	16
	• <i>Study of the effectiveness of feed additives «GasrtoVet» and «Gidrolactiv» at dyspepsia newborn calves in the economy.</i> O.A. Rishko	20
<b>Pharmacology, toxicology, pharmacy</b>	• <i>Efficiency and toxicity of acaricides at demodekoza of dogs.</i> V.D. Sokolov, N.L. Andreeva, N.N. Fisenkov	25
<b>Biochemistry, anatomy, physiology</b>	• <i>Diagnosis of High-risk Pregnancy Group in Mare Based on Placenta Examination.</i> A. Potapova	29
	• <i>Protein composition of colostrum in mares in early hours lactation.</i> A. Potapova, N. Bazhenova, K. Plemyshev	33
	• <i>Hygienic assessment of use of Seleran for young growth of pigs.</i> V.G. Ivanova-Salnikova	37
	• <i>Microrheology properties of erythrocytes in newborn piglets with acute at birth hypoxia.</i> I.N. Medvedev, A.V. Parahnevich	41
	• <i>Parenchima ultrastructure no lactated mammary gland of goats of Zaanensky breed.</i> M.V. Shchipakin	46
	• <i>Indicators lipid profile blood serum dogs and cats without clinical signs of pathology.</i> A.A. Zemlyanskii, T.P. Lokes-Krypka, U.V. Kyzmina	52
	• <i>Heavy metals, as the factors limiting the maintenance of iodine in an organism of pigs.</i> A.V. Ryzhakov, S.S. Rusetsky, A.I. Vecherinina	57
	• <i>Morphology of the main sources of blood supply of the brain of the bovis.</i> A.V. Prusakov	60
	• <i>Cytological characteristics of bronchoalveolar lavage fluid in bulls which are ill with nonspecific bronchopneumonia.</i> O.V. Kryachko, D.A. Agapiev	65
<b>Experimental pharmacology</b>	• <i>Ethical principles for the treatment of animals in Russia.</i> A. Selezneva, M. Makarova	69
	• <i>Features autopsy report of the experimental group of animals.</i> A. Muzhikyan, M. Makarova, Y. Gushin	75
	• <i>Anti-inflammatory mechanisms of compex derived from the Cod liver. Carra-geenan air pouch model in the rat.</i> K.L. Kryshen, N.M. Faustova, O.N. Pozharit-skaya, A.N. Shikov, M.N. Makarova, V.G. Makarov	80
	• <i>Practical guidance for immunotoxicity of new medications. Phagocytic activity of peritoneal macrophages.</i> A.E. Kastornova, E.S. Korotchenko, K.L. Kryshen, A.A. Atsapkina, D.D. Beketova, M.N. Makarova	85
	• <i>Immunological status of laboratory animals under conditions simulating immediate hypersensitivity.</i> A. Atsapkina, K. Kryshen, A. Kastornova, M. Makarova, V. Makarov	91
	• <i>Individual cells ventilated extra investments or optimal protection of personnel and laboratory animals?</i> D. Trashchenko, M. Kovaleva	100



## ВЛИЯНИЕ ТОКСИНОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* НА ЛЕЙКОЦИТЫ И КЛЕТКИ ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ И БЕЛЫХ КРЫС *IN VITRO*

Малинин М.Л. - к.б.н., зав. лабор. биохимии, Габалов К.П. , Тарасенко Т.Н. ,  
Ласкавый В.Н. – д.в.н., засл. вет. врач РФ  
Саратовский НИВИ Россельхозакадемии



### РЕФЕРАТ

Изучали влияние токсинов синегнойной палочки на клетки печени и перитонеальные клетки белых мышей и крыс. Показано, что ЛПС всех изученных изолятов *P. aeruginosa* в низкой концентрации оказывали стимулирующее действие на дыхание перитонеальных клеток. При этом интенсивность влияния ЛПС зависела от вирулентности возбудителя – у вирулентных изолятов она была в 4,5 раза выше, чем у авирулентных. Коэффициент Де Ритиса в печеночном гомогенате в случае ЛПС авирулентных изолятов не отличался от контрольных значений, а в случае вирулентных – снижался в 3,9 раза.

**Ключевые слова:** *Pseudomonas aeruginosa*, токсины, лейкоциты, трансминазы.

### ВВЕДЕНИЕ

Синегнойная палочка (*P. aeruginosa*) занимает важное место среди возбудителей инфекционных заболеваний, обладает высокой природной устойчивостью к большинству антимикробных препаратов и хорошей переживаемостью в окружающей среде. *P. aeruginosa*, относящаяся к грамотрицательным неферментирующим микроорганизмам, является одним из наиболее частых возбудителей нозокомиальных инфекций, для которых характерно тяжелое течение и высокая летальность. Псевдомоназам подвержен как молодняк, так и взрослые животные.

Характерной особенностью синегнойной палочки является то, что она практически никогда не поражает здоровые ткани. С другой стороны, в организме нет таких тканей, которые в случае снижения их защитных функций не могли бы подвергнуться атаке со стороны данного мик-

роорганизма.

Целью исследований было изучение влияния токсинов синегнойной палочки на клетки печени, перитонеальные клетки мышей и крыс (ПКМ и ПКК соответственно).

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Перитонеальные клетки получали по общепринятой методике из перитонеального трансудата. Дыхательная активность макрофагов определялась в НСТ-тесте [1]. Липополисахариды выделяли методом водно-фенольной экстракции [5]. Биохимические исследования проводили на программируемом фотометре BS 3000 P Sinnova (КНР). Для определения активности АЛТ использовался кинетический спектрофотометрический метод без применения 5-фосфопиридоксала [4]. Для определения активности АСТ использовали кинетический спектрофотометрический метод также без применения 5-

фосфопиридоксала [2]. Мы отказались от использования 5-фосфопиридоксала в реакционной смеси, так как диагностическая значимость увеличенной с его помощью активности трансаминаз остается предметом обсуждения. Для определения активности ЛДГ использовался оптический тест Варбурга, основанный на реакции восстановления пирувата в лактат [6]. Недостатком метода определения активности ЛДГ, основанного на обратной реакции, является более узкий по сравнению с прямой реакцией диапазон линейности [3]; но этот недостаток компенсируется более высокой чувствительностью метода.

Изучали дыхательную активность ПКМ под воздействием токсина вирулентного изолята *P. aeruginosa* №8, а также выделение ферментов клетками печени мыши под воздействием данного токсина.

Использовалась токсинсодержащая культуральная жидкость (ТКЖ) суточной культуры штамма *P. aeruginosa* №8 в мясопептонном бульоне (МПБ), которая титровалась в геометрической прогрессии со знаменателем 1/3 до титра 1:27.

Полученные по стандартной методике ПКМ были суспендированы в среде DMEM с 0,01% НСТ. К 900 мкл суспен-

зии добавляли 100 мкл соответствующих разведений ТКЖ. ПКМ инкубировали 2 часа при 37°C, после чего определяли накопление клетками формазана в НСТ-тесте.

Результаты НСТ-теста отражены на рисунке 1.

Возрастание дыхательной активности перитонеальных клеток по мере снижения концентрации ТКЖ подтверждало присутствие токсина в культуральной жидкости.

На следующем этапе к образцам (объемом по 1 мл) печеночного гомогената мыши в среде RPMI добавляли по 0,1 мл титров ТКЖ и инкубировали при 37°C. Через 30, 60 и 120 минут инкубации определяли активности ферментов в культуральных жидкостях печеночных гомогенатов. Результаты отражены в табл. 1.

Обращает на себя внимание тенденция к увеличению активности трансаминаз по мере возрастания концентрации токсина и времени инкубации. Коэффициент корреляции Пирсона между активностью АСТ и АЛТ составляет через 30 минут инкубации  $r=+0,79$ , через 60 минут инкубации  $r=+0,76$ , а через 120 минут уже  $r=+0,98$ . Коэффициент Де Ритиса во всех пробах, включая контрольную, заметно возрастает через 60 минут инкубации,

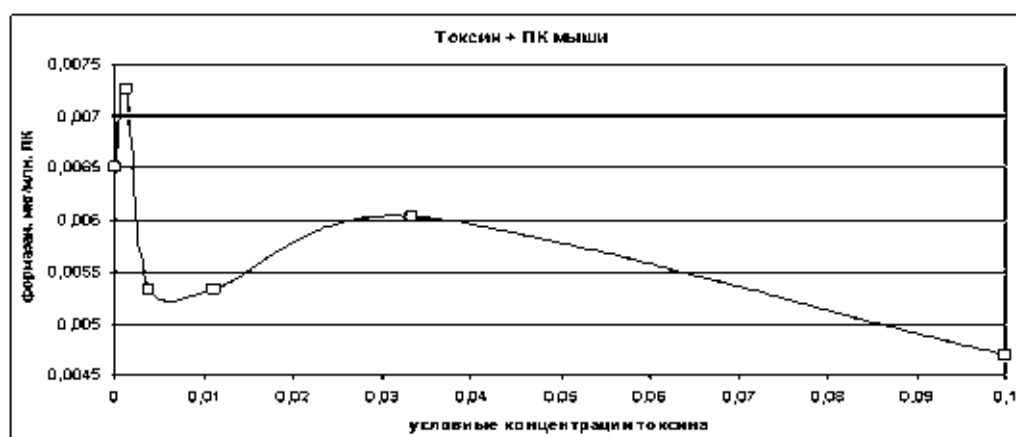


Рис. 1. Влияние токсина изолята *P. aeruginosa* №8 на дыхание ПКМ



Таблица 1

Выделение ферментов клетками печени в ответ на введение в среду ТКЖ изолята *P. aeruginosa* №8

Разведения ТКЖ	1	1/3	1/9	1/27	1/81
АЛТ, мккат					
30 мин	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,5±0,1
60 мин	0,5±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1
120 мин	0,6±0,1	0,5±0,1	0,6±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1
АСТ, мккат					
30 мин	1,5±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1	1,1±0,1
60 мин	1,4±0,1	1,3±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1
120 мин	1,6±0,1	1,3±0,1	1,3±0,1	1,3±0,1	1,2±0,1
Коэффициент Де Ритиса					
30 мин	2,4±0,1	2,1±0,1	2,0±0,1	2,1±0,1	2,1±0,1
60 мин	2,6±0,2	2,4±0,1	2,3±0,1	2,4±0,1	2,4±0,2
120 мин	2,6±0,1	2,4±0,2	2,4±0,2	2,5±0,2	2,3±0,1

при этом только для титров 1:1 и 1:3 коэффициент Де Ритиса выше, чем в контроле. Максимальные значения активности АСТ и коэффициента Де Ритиса соответствуют минимальным значениям активности дыхания, что подтверждает регуляторную функцию повышения активности АСТ.

Таким образом, клетки печени реагируют на введение в среду экзотоксинов *P. aeruginosa* изменением активности АСТ и АЛТ, а также их соотношения. Под воздействием высоких концентраций токсина интенсивность дыхания перитонеальных клеток мыши снижается, но печень реагирует повышением активности АСТ.

В работе использовались также перитонеальные клетки белых крыс (ПКК), которые ресуспендировались в среде DMEM до концентрации  $5,7 \cdot 10^6$  кл/мл с добавлением нитросинего тетразолия до конечной концентрации 0,01%. К аликвотам суспензии ПКК объемом по 0,9 мл были добавлены растворы ЛПС (по 0,1 мл) изолятов *P. aeruginosa* 4, 8 (вирулентные), 11, 12, 14 (авирулентные). ЛПС выделялись методом водно-фенольной экстракции по Вестфалу. Финальные концентрации ЛПС в суспензии

клеток составляли 4 мкг/мл; в качестве контроля использовался физиологический раствор.

Суспензии, содержащие ПКК и ЛПС, инкубировались 2 часа при 37°C. По окончании времени инкубации каждую пробу делили на две равные части. В первых аликвотах определяли накопление формазана перитонеальными клетками в НСТ-тесте. Вторые аликвоты центрифугировали, отбирали по 500 мкл супернатантов (культуральные жидкости), а также осадки клеток; клетки ресуспендировали в 500 мкл среде DMEM. К супернатантам и суспензиям клеток добавляли по 500 мкл суспензии гомогената печени белой крысы в среде RPMI. Кроме того, к суспензиям печеночного гомогената добавляли растворы ЛПС указанных изолятов до финальной концентрации 4 мкг/мл. Все три ряда проб инкубировали в течение 30 минут при 37°C, после чего центрифугировали (3000 g, 10 минут). В полученных супернатантах определяли активность трансаминаз АСТ и АЛТ.

При добавлении ЛПС как вирулентных, так и авирулентных изолятов накопление формазана было больше, чем в контроле, но у авирулентных – на 6,7%, а у вирулентных – на 30,4% в среднем.

Таким образом, ЛПС всех изучавшихся изолятов *P. aeruginosa* в низкой концентрации оказывали стимулирующее действие на дыхание перитонеальных клеток крысы. При этом интенсивность влияния ЛПС зависела от вирулентности – у вирулентных изолятов она была заметно выше, чем у авирулентных. Приrost дыхательной активности вирулентных изолятов по сравнению с авирулентными был выше в 4,5 раза.

При биохимическом исследовании была обнаружена тенденция к снижению активности АЛТ в экстракте печеночного гомогената под влиянием перитонеальных клеток, обработанных ЛПС, причем для ЛПС вирулентных изолятов эффект был более выражен.

Активность АСТ снижалась в случае ЛПС вирулентных изолятов на 74% ( $p < 0,05$ ), а в случае ЛПС авирулентных изолятов – практически не изменялась.

Коэффициент Де Ритиса для ЛПС вирулентных изолятов снижался на 70% ( $p < 0,05$ ), а для ЛПС авирулентных изолятов – повышался на 14% ( $p > 0,05$ ).

Активность ЛДГ в экстракте печеночного гомогената под влиянием перитонеальных клеток, обработанных ЛПС, достоверно снижалась, причем для ЛПС авирулентных изолятов снижение ЛДГ превышает 60%, а для вирулентных изолятов составляет 33%.

Полученные данные позволяют говорить о том, что ЛПС синегнойной палочки в зависимости от вирулентности бактерий по-разному влияет на перитонеальные клетки и клетки печени. В перитонеальных клетках под влиянием ЛПС повышается дыхательная активность. Ферментативный профиль трансаминаз, выделенных клетками печени в среду в присутствии перитонеальных клеток, обработанных ЛПС, различен в зависимости от вирулентности изолятов. В случае ЛПС авирулентных изолятов *P. aeruginosa* отличия от контроля незначительны. В то же

время, при использовании ЛПС вирулентных изолятов *P. aeruginosa* коэффициент Де Ритиса снижается по сравнению с контролем в 3,4 раза, активность АСТ – в 3,9 раза, а активность АЛТ – лишь в 1,2 раза. Резкое снижение коэффициента Де Ритиса происходит за счет существенного уменьшения активности АСТ.

Таким образом, реакция перитонеальных клеток на добавление к среде ЛПС различных изолятов синегнойной палочки коррелирует с вирулентностью последних. Печень также отвечает адекватно, понижая коэффициент Де Ритиса в присутствии уже активированных макрофагов. При добавлении ЛПС авирулентных культур дыхательная активность перитонеальных клеток возрастает, но незначительно, и в печеночном гомогенате в присутствии таких ПК несколько увеличиваются значения коэффициента Де Ритиса, причем за счет снижения АЛТ.

При проведении корреляционного анализа с вычислением коэффициентов Пирсона была выявлена значительная обратная корреляция между дыхательной активностью перитонеальных клеток и активностью АСТ в экстракте печеночного гомогената под влиянием тех же перитонеальных клеток, которая составила -0,64. При этом корреляция между интенсивностью дыхания перитонеальных клеток и значениями коэффициента Де Ритиса составила -0,60, а между интенсивностью дыхания ПКК и активностью АЛТ – -0,18. Таким образом, добавление к печеночному гомогенату ПК, уже активированных с помощью ЛПС вирулентных изолятов *P. aeruginosa* и демонстрирующих высокую интенсивность дыхания, приводит к существенному снижению коэффициента Де Ритиса в экстракте печеночного гомогената за счет уменьшения активности АСТ. Напротив, добавление ПКК с ЛПС авирулентных изолятов не оказывало существенного влияния на трансаминазный профиль экстракта пече-

ночного гомогената.

Нами изучалось также влияние культуральной жидкости перитонеальных клеток (КЖ ПКК), подвергшихся обработке ЛПС, на трансаминазный профиль печеночного гомогената. Было установлено, что влияние КЖ ПКК значительно отличается от влияния суспензий тех же ПКК. Так, при добавлении культуральной жидкости активность АЛТ меньше, а активность АСТ больше по сравнению с суспензией ПКК. Коэффициент Де Ритиса, при добавлении суспензии ПКК всегда меньше единицы, при добавлении КЖ ПКК во всех случаях становится больше единицы. В контроле (культуральная жидкость перитонеальных клеток, не подвергавшихся обработке ЛПС) коэффициент Де Ритиса увеличивается в 2,7 раза, при добавлении ЛПС авирулентных изолятов – в 1,6 раза, а при добавлении ЛПС вирулентных изолятов – в 17,6 раза!

При добавлении растворов ЛПС непосредственно к гомогенизированной печени, без участия ПКК, в экстракте печеночного гомогената снижалась активность АЛТ, причем более заметно в случае ЛПС вирулентных изолятов. Активность АСТ, напротив, повышалась, причем более выражено в случае липополисахаридов авирулентных изолятов. Коэффициент Де Ритиса увеличивался при добавлении ЛПС вирулентных изолятов в 2,5 раза, авирулентных – в 1,7 раза.

Итак, при добавлении к печеночному гомогенату перитонеальных клеток, обработанных ЛПС различных изолятов *P. aeruginosa*, наблюдалось существенное уменьшение коэффициента Де Ритиса за счет снижения активности АСТ, причем этот эффект был более выражен для ЛПС вирулентных изолятов *P. aeruginosa*.

При добавлении к печеночному гомогенату растворов ЛПС наблюдалось увеличение коэффициента Де Ритиса, однако его значения ни в одной группе не достигали единицы. Коэффициент Де Ритиса

увеличивался как за счет прироста активности АСТ, более значительного для ЛПС авирулентных изолятов, так и за счет снижения активности АЛТ, более выраженного для ЛПС вирулентных изолятов *P. aeruginosa*. При этом увеличение коэффициента Де Ритиса было более значительным при внесении в среду ЛПС вирулентных изолятов.

При добавлении к печеночному гомогенату культуральных жидкостей от перитонеальных клеток, обработанных липополисахаридами различных изолятов *P. aeruginosa*, коэффициент Де Ритиса во всех группах был выше единицы. При этом в случае ЛПС вирулентных изолятов он был выше, чем в контроле, главным образом за счет снижения активности АЛТ.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Клетки печени крыс реагируют на состав окружающей среды, в том числе на присутствие и активность макрофагов, изменением трансаминазного профиля и активности ЛДГ.

#### **Influence of *Pseudomonas aeruginosa* toxins on the leukocytes and liver cells of white mice and white rats in vitro.**

**M.L. Malinin, K.P. Gabalov, T.N. Tarasenko, V.N. Laskavy.**

#### **ABSTRACTS**

We studied the effect of *Pseudomonas aeruginosa* toxin on liver cells and peritoneal cells of white mice and rats. Low concentrations of LPS of all studied isolates *P. aeruginosa* had a stimulating effect on the respiration of peritoneal cells. The intensity of the effect of LPS was dependent on the contagium virulence - the virulent isolates it was by 4.5 times higher than that of avirulent. De Ritis ratio in liver homogenates in the case of LPS avirulent isolates did not differ from control values, and in the case of virulent decreased 3.9 times. The reaction of peritoneal cells to LPS of different isolates of *Pseudomonas aeruginosa* correlated with the virulence of the isolates. The liver is also

responsible adequately, lowering the rate of de Ritis in the presence of already activated macrophages.

**Key words:** *Pseudomonas aeruginosa*, toxins, leukocytes, transaminases.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза / А.Н. Маянский, О.И. Пикуза. -Казань: Магариф, 1993. – 122 с.
2. Laboratory diagnostics of acute myocardial infarction/ Ed. by W. Stein// Darmstadt. – 1988. –73 p.
3. Moss, D.W. Digestiv enzymes of pancreatic origin. In: Tietz Textbook of Clinical

Chemistry/ D.W. Moss, A.R. Henderson// Philadelphia: W.B. Saunders Company. – 1999. – P. 721

4. Thomas, L. Alanine aminotrasferase (ALT), Aspartate aminotrasferase (AST). In: Clinical laboratory Diagnostics/ L. Thomas// Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft. – 1998. – P. 565.

5. Westphal O, Jann K. Bacterial lipopolysaccharides. In: Whistler R, ed. Methods in Carbohydrate Chemistry. 1965; 5:83-91.

6. Wroblewski, F. Lactate dehydrogenase activity in blood/ F. Wroblewski, J.S. La Due// Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1955. – V. 90. – P. 210.



## НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 616.34-008.314.4-085:615.322:636.2.053

### КОМПЛЕКСНЫЙ МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ДИАРЕИ ТЕЛЯТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРЕДСТВ ФИТОТЕРАПИИ

Яшин А.В. - д.в.н., профессор, зав. каф. внутренних незаразных болезней,  
Киселенко П.С. - к.в.н., доцент каф. внутренних незаразных болезней  
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



#### РЕФЕРАТ

Проведённые нами исследования показали, что при лечении диареи новорождённых телят, более эффективной оказалась комплексная терапия с применением средств симптоматического лечения, выпойки за 25-30 минут до кормления настоя сбора лекарственных растений из цветков ромашки аптечной и травы зверобоя продырявленного, пероральным введением экстракта корня элеутерококка колючего.

Полученные нами результаты исследований дают основание рекомендовать данную схему лечения для применения при острых расстройствах желудочно-кишечного тракта новорождённых телят с явлениями диареи.

**Ключевые слова:** телята, фитотерапия, ромашка аптечная, зверобой продырявленный экстракт корня элеутерококка колючий, диарея, лечение.

#### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в животноводческих хозяйствах наметилась чёткая тенденция к снижению поголовья животных и птицы. Практически все новорождённые телята переболевают незаразными

болезнями. Падёж телят от этих болезней составляет 95-98% всех павших и погибших. Причиной гибели почти половины из них (48 %) являются болезни желудочно-кишечного тракта. [2,4, 6].

Данного рода нарушения являются

значительным стрессирующим фактором для неокрепшего организма телят. В фазу тревоги происходит активизация симпатoadреналовой системы, что влечёт за собой снижение секреции соляной кислоты сычужного сока. В результате нарушения сычужного пищеварения в кишечную трубку попадает недостаточно переваренный и обсеменённый условно-патогенной микрофлорой сычужный химус, что в свою очередь приводит к развитию дисбактериоза желудочно-кишечного тракта. У поражённых животных в качестве защитной реакции повышается моторно-эвакуаторная функция тонкого отдела кишечника, за счёт изменения рН разжижается его содержимое и, как следствие, развивается понос.

При назначении лечения данного рода патологии следует принимать во внимание основные клинические признаки проявления и механизм развития болезни: воспаление слизистой оболочки кишечной трубки и её выраженная дисфункция, дисбактериоз и развитие бродильно-гнилостных процессов, токсикоз, дегидратация и снижение уровня естественной резистентности макроорганизма. [3, 7, 8].

Большого внимания заслуживает использование лекарственных средств растительного происхождения, отличающихся от синтетических препаратов доступностью изготовления в условиях хозяйства, относительной дешевизной, низкой токсичностью, отсутствием иммунодепрессивного действия, широким спектром лекарственного воздействия. [1, 5].

Всё вышеперечисленное и предопределило тематику наших исследований.

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Для проведения опытов по принципу аналогов были сформированы две равные (по 5 голов в каждой) группы телят чёрно-пёстрой породы. Телята подбирались по мере рождения и времени возникновения заболевания. При формировании групп принимался во внимание вес забо-

левших телят. Животные обеих групп находились в одинаковых условиях содержания и кормления.

Телят 1 (контрольной) группы лечили по схеме, принятой в хозяйстве. Животных изолировали в тёплое и сухое помещение. После возникновения первых признаков заболевания пропускали выпойку очередной порции молозива с заменой его на тёплый 0,9 % изотонический раствор натрия хлорида. В последующие кормления количество молозива снижали на 30-50%, что зависело от общего состояния больного. За 20-30 минут до кормления внутрь назначали активный антибиотик окситетрациклина гидрохлорид из расчёта 15000 ЕД/кг живой массы тела, чувствительность кишечной микрофлоры к которому определяли методом диффузии в агар с применением стандартных индикаторных дисков. С целью поддержания энергетических возможностей организма и снятия интоксикации внутривенно вводился 5% раствор глюкозы из расчёта 1,5 мл/кг и 10% раствор аскорбиновой кислоты в дозе 10 мг/кг. Подкожно вводился 5% раствор тиамин бромид в количестве 1 мл на голову через день, что укрепляло защитные силы организма больных.

Телятам второй (опытной) группы, помимо вышеуказанного лечения, дополнительно применялись средства фитотерапии. За 25-30 минут до кормления больным выпаивали по 150-200 мл настоя сбора лекарственных трав, состоящего из цветков ромашки аптечной и травы зверобоя продырявленного. Настой готовили непосредственно на месте по методике Б. Авакьянца [1]. Растительный материал измельчали до размеров не более 5 мм и смешивали в равных пропорциях. Брли 6 столовых ложек сырья, заливали 1 литром кипятка и нагревали на водяной бане в течение 15-20 минут. После этого препарат охлаждали при комнатной температуре, процеживали, доводили объём полу-

ченной жидкости кипяченой водой до 1 литра и выпаивали больным. Настой готовили непосредственно перед выпойкой. Также животным данной группы два раза в день вместе с кормом вводился экстракт корня элеутерококка колючего в дозе 5 мл на голову.

Суточное количество жидкости, получаемой больными в обеих группах, доходило до 2,5-3 литров. За всеми животными на протяжении всего опыта осуществляли постоянное клиническое наблюдение, что позволяло вносить коррекцию в лечение в зависимости от состояния больных. Кроме того, у 3 животных из каждой группы до лечения и после клинического выздоровления брали кровь для морфологического исследования. В крови животных с применением общепринятых методик определяли количество лейкоцитов и эритроцитов, содержание гемоглобина, выводили лейкоцитарную формулу. В качестве «фона» аналогичные анализы крови проводились у 3 клинически здоровых животных.

Заболевания заразной этиологии исключались на основании заключения ветеринарной лаборатории.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Острые желудочно-кишечные расстройства новорождённых телят протекали со следующей клинической картиной. Общее состояние больных было угнетённое, температура тела в пределах границ физиологической нормы с тенденцией, у некоторых особей, к понижению. Аппетит и сосательный рефлекс уменьшены. Шерстный покров взъерошен, не блестит, волосяные луковицы удерживаются прочно, очаги аллопеций отсутствуют, задняя часть тела и хвост испачканы каловыми массами. Животные слабо реагируют на внешние раздражители, малоподвижны. Носовое зеркальце сухое, ушные раковины и нижние части конечностей похолодевшие. При аускультации брюшной полости звуки урчания, количество актов

дефекации увеличено до 4-7 раз в сутки, фекалии жидкие светло-жёлтого цвета. Видимые слизистые оболочки слегка цианотичные. Глазные яблоки слегка запавшие, тургор кожи понижен.

При проведении лабораторных исследований крови у больных диареей телят отмечалась, по сравнению с клинически здоровыми животными, недостоверная тенденция снижения количества эритроцитов и гемоглобина. Также в пределах математической погрешности отмечалось повышение количества лейкоцитов и изменения в лейкограмме.

При оценке эффективности указанных выше схем лечения диареи молодняка крупного рогатого скота было установлено, что продолжительность лечения в первой группе составила 4-5 дней при 100% сохранности заболевшего поголовья. В сравниваемой группе животных, где в схему лечения дополнительно было включено выпаивание настоя сбора лекарственных трав и пероральное введение экстракта корня элеутерококка колючего продолжительность лечения была в среднем по группе на 1-2 дня короче при аналогичном проценте сохранности поголовья.

Более высокую эффективность лечения во второй группе животных мы объясняем специфическим действием применяемых лекарственных растений.

Препараты ромашки аптечной благотворно влияют на весь организм, способствуют нормализации секреторно-моторной функции желудочно-кишечного тракта, обладают противовоспалительными свойствами. Зверобой продырявленный имеет вяжущий и противовоспалительный эффект, стимулирует секреторную функцию пищеварительных желёз, уменьшает болевые ощущения и успокаивает центральную нервную систему. Кроме того, в состав растения входят фитонциды, обладающие противомикробным действием, аскорбиновая кислота, вита-

мины РР и холин. Экстракт корня элеутерококка колючего относится к группе адаптогенов, то есть веществ, повышающих общую сопротивляемость организма независимо от характера вредного воздействия. Данный препарат нормализует протекание окислительно-восстановительных процессов, обладает антиоксидантными свойствами и снижает интоксикацию организма заболевших телят, положительно влияет на иммунологическую настроенность организма, увеличивает газообмен и стимулирует тканевое дыхание, нормализует функцию печени и всего желудочно-кишечного тракта в целом, возбуждает пищеварительный центр и повышает аппетит.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Приводятся результаты двух схем лечения диареи новорождённых телят. Показана более высокая эффективность схемы лечения с применением симптоматических средств в сочетании с выпойкой настоя сбора лекарственных трав и дачей экстракта корня элеутерококка колючего.

#### **Comprehensive treatment of calves diarrhea with the use of herbal medicine.**

**A.V. Yashin, P.S. Kiselenko.**

#### **ABSTRACTS**

The conducted researches have shown, that for diarrhoea of newborn calves, better turned out to be a complex therapy with use of symptomatic treatment, feeding for 25-30 minutes before feeding the present collection of medicinal plants from the flowers of a camomile chemist's and grass species CSBG, tested by an extract of the root of *Eleutherococcus senticosus*. Our results give reason to recommend this treatment regimen for acute disorders of the gastrointestinal tract of the newborn calves with diarrhea.

**Key words:** calves, phytotherapy, *Matricaria recutita*, *Hypericum perforatum* root extract *eleuterokocca thorny*, diarrhoea, treatment.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Авакьянц Б. Лекарственные растения в

ветеринарной медицине /Б.Авакьянц.-М.: Аквариум, 2001. - 334 с.

2. Киселенко П.С. Опыт лечения диспепсии телят //Проблемы зоотехнии, ветеринарии и биологии сельскохозяйственных животных на Дальнем Востоке /Сб. науч. тр. Вып. 18.- Благовещенск, 2011.- С.65-70.

3. Кондрахин И.П. Диспепсия новорождённых телят – успехи, проблемы / И.П.Кондрахин.- Ветеринария, 2003, №1.- С. 39-43.

4. Коробов А.В., Антипова Л.К., Ленин П.А., Кирюхина Н.Г. Эффективность препарата лентом™ при желудочно – кишечных болезнях телят. – Ветеринария, 2001, № 11. – С. 17 – 18.

5. Рабинович М.И. Лекарственные растения в ветеринарной практике /М.И. Рабинович.- М.:Агропомиздат, 1987.- 287 с.

6. Мищенко В.А., Ярёмченко Н.А., Гетманской О.И., Павлов Д.К., Савин А.В. Особенности диарейных болезней крупного рогатого скота //Ветеринария, 2001 - №5 – С. 5-7.

7. Соколов В.Д. Фармакологическая коррекция состояний организма //Новые фармакологические средства в ветеринарии/ Материалы XIV международной межвузовской научно-практической конференции.- СПб., 2002.- С. 6-7.

8. Яшин А.В. Мембранное пищеварение при нарушении микроциркуляции, гомеостаза и реологических свойств крови у телят // «Ветеринарная медицина». Материалы международной научной конференции.- Тарту, 1997.- С. 154.

## ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ И СОХРАННОСТИ ТЕЛЯТ

Тухфатова Р.Ф. - доцент кафедры фармакологии и токсикологии им. И.Е. Мозгова  
Московская государственная академия ветеринарной медицины и  
биотехнологии имени К.И. Скрябина



### РЕФЕРАТ

В статье изложены результаты исследований по изучению влияния антиоксидантного препарата Эмидонол на организм телят для повышения сохранности и профилактики желудочно-кишечных заболеваний. Телятам опытной группы ежедневно в течение 5 дней до стресс-воздействия (перегруппировка, изменение рациона) внутримышечно вводили 10% раствор Эмидонола в дозе 0,05 мл/кг. Сохранность телят составила 100%. Заболеваемость в группе телят, получавших Эмидонол, по сравнению с интактными животными была ниже на 50%. Среднесуточный прирост живой массы телят опытной группы по сравнению с телятами контрольной группы выше на 9,8% ( $669,2 \pm 50,8$  г). В биохимических показателях сыворотки крови телят, получавших Эмидонол, отмечено повышение уровня глюкозы, альбуминов, креатинина, железа, меди и снижения уровня АЛТ и АСТ. В результате проведенных исследований установлена профилактическая эффективность Эмидонола при воздействии стресс-факторов за счет сокращения желудочно-кишечных расстройств, активизации обменных процессов, положительного влияния на рост и развитие организма телят и увеличения среднесуточного прироста. Таким образом, Эмидонол можно рекомендовать к применению в ветеринарной практике для профилактики желудочно-кишечных заболеваний молодняка крупного рогатого скота при воздействии стресс-факторов.

**Ключевые слова:** Эмидонол, антиоксиданты, телята, стресс-факторы, живая масса.

### ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем сельского хозяйства является увеличение поголовья скота, в том числе и за счет снижения падежа молодняка. Опыт выращивания телят свидетельствует о том, что самый большой отход телят наблюдается в первые дни их жизни. Это связано с большей восприимчивостью к заболеваниям на фоне снижения естественной резистентности вследствие воздействия стресс-факторов [4]. Причинами ослабления защитных сил организма могут быть врожденная гипотрофия телят, нарушение режима выпойки молозива или плохое его качество, введение в рацион новых кормов. К числу предрасполагающих и сопутствующих факторов относятся

несоблюдение нормативов сбалансированного питания стельных коров и новорожденных телят, переход от индивидуального кормления и содержания телят к групповому, перегруппировка животных, преемственность условно-патогенной микрофлоры, скученное содержание животных при неудовлетворительных параметрах микроклимата.

На сегодняшний день перспективным направлением ветеринарной фармакологии с целью совершенствования профилактики болезней молодняка является разработка эффективных фармакологических средств, способствующих развитию компенсаторно-приспособительных реакций организма к действию повреждающих и патогенных факторов [5]. К такой



группе средств относятся антиоксиданты, антигипоксанты и мембранопротекторы.

Одним из таких препаратов является Эмидонол, разработанный ООО «НВЦ Агроветзащита» и относящийся к классу антиоксидантов [3]. Антиоксиданты обладают цитопротекторными свойствами и блокируют процессы свободнорадикального окисления [1, 2]. Так как при развитии патологии инфекционной и неинфекционной природы происходит активация липопероксидации в биомембранах, то применение препаратов из группы антиоксидантов, корригирующих эти процессы, является целесообразным и обоснованным.

Целью исследований является изучение возможности применения нового антиоксидантного препарата Эмидонол для повышения сохранности и профилактики желудочно-кишечных заболеваний телят.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования проводили в условиях хозяйства ЗАО «Заря» Киреевского района Тульской области. Исследования выполнены на клинически здоровых телятах в возрасте 7 дней. По принципу параналогов было сформировано 2 группы телят – опытная и контрольная – по 20 голов в каждой. Телятам опытной группы ежедневно в течение 5 дней до стресс-воздействия (перегруппировка, введение в рацион концентрированных и грубых кормов) внутримышечно вводили 10% раствор Эмидонола в дозе 0,05 мл/кг. Животные контрольной группы оставались интактными. За телятами вели наблюдение в течение 30 дней. Ежедневно учитывали заболеваемость и падеж телят; проводили взвешивание на 5, 8, 15, 21 и 30 день от начала эксперимента; исследовали гематологические показатели. Кровь для биохимических исследований брали у телят из яремной вены до начала эксперимента и через 7 дней после прекращения введения Эмидонола.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Сохранность молодняка в обеих группах составила 100%. При клиническом исследовании телят перед началом эксперимента изменений физиологического состояния не выявлено. Телята были клинически здоровы и имели массу тела  $25,5 \pm 1,5$  кг. При введении в рацион новых кормов и перегруппировке животных у 14 телят контрольной группы наблюдалось расстройство желудочно-кишечного тракта, что сопровождалось угнетением, отказом от корма и развитием диареи. Каловые массы жидкие, желтого цвета со зловонным запахом. Телята опытной группы оставались активными, охотно поедали корм. У 4 телят отмечалось снижение аппетита и учащение дефекации. Данные признаки самопроизвольно купировались в течение последующих суток. Падеж в опытной и контрольной группах отсутствовал. Также отмечено, что телята опытной группы при стрессе лучше адаптировались к изменившимся условиям, что проявлялось более высокими показателями среднесуточного прироста, нормализацией физиологических и биохимических показателей, процессов пищеварения.

Исследования показали, что в контрольной группе телят количество заболевших составило 70%, в опытной группе, получавших Эмидонол, заболевших было 20%.

На рисунке 1 отражена динамика живой массы телят. При взвешивании в начале эксперимента живая масса телят опытной и контрольной групп была одинаковой (разница составила 0,4%). Через 30 дней наблюдения масса телят опытной группы отличалась от контрольной и была больше на 4%.

Среднесуточный прирост живой массы телят, которым вводили Эмидонол, был выше ( $734,6 \pm 62,9$  г) в сравнении с телятами контрольной группы ( $669,2 \pm 50,8$  г) на 9,8% (таблица 1).

Биохимические показатели сыворотки

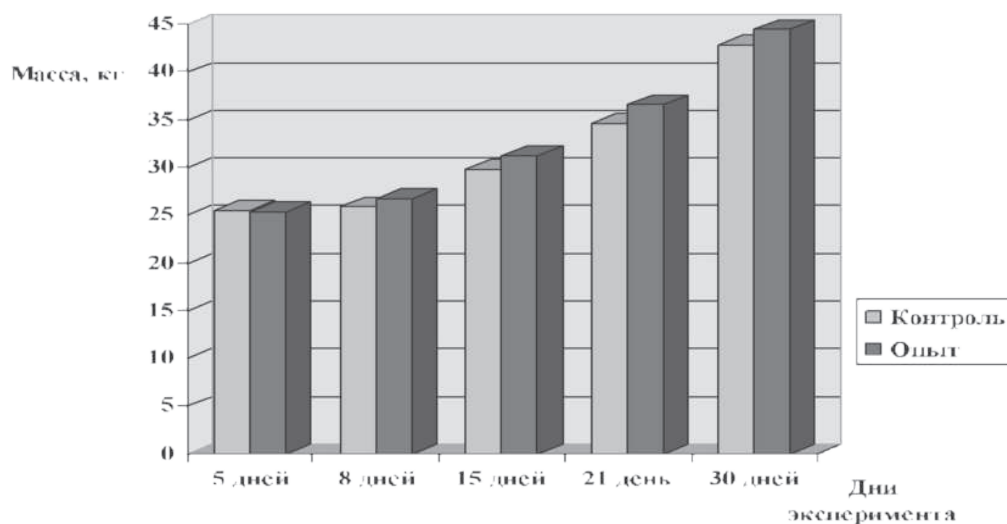


Рис. 1. Динамика живой массы телят.

Таблица 1

Среднесуточный прирост живой массы телят

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Количество животных, гол.	20	20
Количество заболевших телят, гол.	14	4
Количество павших телят, гол.	0	0
Средняя масса тела одного животного на начало опыта, кг	25,5±1,5	25,4±2,1
Среднесуточный прирост массы тела, г	669,2±50,8	734,6±62,9

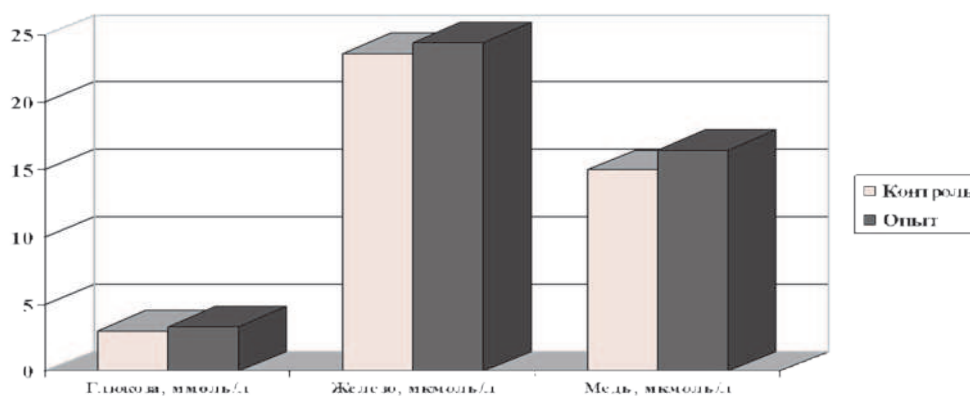


Рис. 2. Биохимические показатели крови

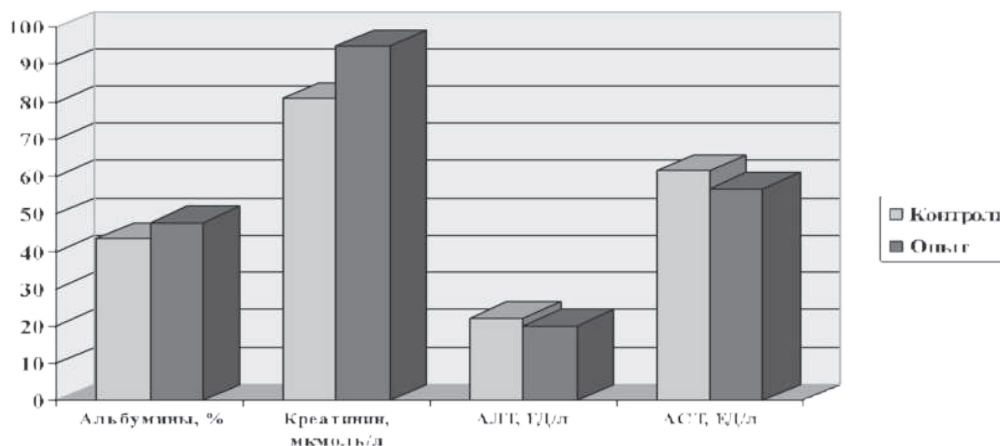


Рис. 3. Биохимические показатели крови

крови телят опытной и контрольной групп до начала и после проведения эксперимента не выявили существенных изменений, обусловленных введением Эмидонола, и находились в пределах физиологической нормы. У телят, получавших Эмидонол, отмечено незначительное повышение содержания таких показателей как глюкоза (на 11%), альбумины (10%), креатинин (на 17%), железо (на 3,7%), медь (9,8%); снижение уровня АЛТ (на 9,8%), АСТ (на 7,6%) (рисунок 2, 3).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, клинические и биохимические наблюдения за состоянием здоровья телят выявили профилактическую эффективность Эмидонола, которая обусловлена следующими факторами: сокращение желудочно-кишечных расстройств у телят при воздействии стресс-факторов; повышение среднесуточного прироста. Использование Эмидонола оказывает положительное влияние на обменные процессы в организме телят и их рост, что способствует более активному формированию организма молодняка крупного рогатого скота. В связи с этим Эмидонол можно рекомендовать к применению в ветеринарной практике для повышения неспецифической резистентности телят к

действию различных стресс-факторов.

### **Increase productivity and safety of calves.**

**R.F. Tukhfatova.**

### **ABSTRACTS**

The article presents the results of studies on the effect of the antioxidant drug on the body Emidonol calves to enhance safety and prevention of gastrointestinal diseases. Calves in the experimental group every day for 5 days before exposure to stress (rearrangement, change in diet) were injected intramuscularly of Emidonol 10% solution in a dose of 0.05 ml / kg. Preservation of calves was 100%. Morbidity in the group of calves fed Emidonol compared to intact animals was lower by 50%. The average live weight gain of calves experimental group compared with the control group of calves up to 9,8% (669,2 ± 50,8 g). In biochemical parameters of blood serum of calves fed Emidonol, had elevated levels of glucose, albumin, creatinine, iron, copper and reduction of ALT and AST. The studies established of Emidonol prophylactic efficacy when exposed to stressors by reducing gastrointestinal disorders, activation of metabolic processes, the positive impact on growth and development of calves and increase average daily gain. Emidonol can recommend for use in veterinary practice for

the prevention of gastrointestinal diseases in young cattle under the influence of stress factors.

**Key words:** Emidonol, antioxidants, calves, stressors, live weight.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты. – Российский хим. журнал. – 2007. – № 1. – С.3-12.
2. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС. – М. – 1995. – 272 с.
3. Енгашева Е.С., Новиков Д.Д., Тухфатова Р.Ф. Острая и субхроническая токсич-

ность препарата Эмидонол 10%. Мат. V Межд. науч.- практ. конф. «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения». – ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина». – 2013. – С.57-61.

4. Субботин В.В., Сидоров М.А. Основные элементы профилактики желудочно-кишечной патологии новорожденных животных. – Ветеринария. – 2004. – № 1. – С.1-6.

5. Sherding R. G. Diseases of the Small Bowel. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 1983.

УДК: 636.2-053.087.7:616.33-008.3

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ КОРМОВЫХ ДОБАВОК «ГАСТРОВЕТ» И «ГИДРОЛАКТИВ» ПРИ ДИСПЕПСИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ В УСЛОВИЯХ ХОЗЯЙСТВА**

Ришко О.А. - аспирант, кафедра внутренних незаразных болезней животных  
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



#### **РЕФЕРАТ**

Представлен литературный обзор на тему заболевания молодняка сельскохозяйственных животных заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Приведены причины возникновения, основы лечения и профилактики диспепсии, обзор научных исследований по данной теме. Описан опыт применения различных кормовых добавок, содержащих в своем составе живые лактобактерии, макро- и микроэлементы, а также пищеварительные ферменты для кормления телят в молочный период.

Приведены методики исследования и результаты клинических и лабораторных исследований сыворотки крови телят в возрасте 20-25 дней жизни, с определением уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови. Результаты представлены в сравнительном аспекте для выявления эффективности применения кормовых добавок, содержащих в своем составе пробиотики и ферменты эндогенного происхождения. Описана методика приготовления кефира с применением пищеварительных ферментов эндогенного происхождения для кормления телят в условиях производственного комплекса. По результатам проведенных исследований рекомендовано применение препаратов содержащих живую культуру лактобактерий в комплексе с витаминами и микроэлементами. Применение препаратов, содержащих пробиотики, оказывает благотворное влияние на микрофлору желудочно-кишечного тракта, выработку иммуноглобулинов и формирование иммунитета молодняка телят. Однако скормливание новорожденным телятам, для профилактики и лечения диспепсии, данные препараты рекомендуются со сквашенным молоком, ввиду

лучшей его усвояемости. Поскольку сквашенное молоко имеет в своем составе легкоусвояемые белки и углеводы, высокое содержание витаминов и повышенную кислотность, что обуславливает угнетение развития патогенной и гнилостной микрофлоры. Таким образом, облегчается его переваривание и снижается риск возникновения диспепсии, а также облегчается течение диспептических явлений.

**Ключевые слова:** диспепсия, новорожденные телята, пробиотики, простокваша.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время в нашей стране реализуется программа восстановления сельского хозяйства, поскольку успешная работа данной отрасли во многом влияет на благополучие экономики государства в целом. Важнейшим аспектом в решении этой задачи является получение здорового молодняка и повышение уровня его сохранности.

Проблема массового заболевания новорожденных телят диспепсией стоит остро на протяжении многих лет, вызывая большой отход молодняка крупного рогатого скота. Помимо этого, экономический ущерб от данного заболевания складывается из больших затрат труда обслуживающего персонала и средств на лечение, а также, недополучение продукции, вследствие отставания животных в росте и развитии в связи с перенесенным заболеванием. Телята, переболевшие диспепсией, в дальнейшем более подвержены различным заболеваниям из-за снижения сопротивляемости организма к инфекциям. В связи с этим разработана мера борьбы с заболеваниями желудочно-кишечного тракта у молодняка сельскохозяйственных животных является основополагающей задачей.

Основной причиной возникновения диспепсии у телят называют нарушение технологии содержания и кормления, несоблюдение зооигиенических требований, низкое качество кормов, контаминация окружающей среды различными микроорганизмами, вызывающими заболевания желудочно-кишечного тракта. Также, среди причин, называются: снижение естественной резистентности телят, возраст

и связанные с ним морфологические особенности, уровень секреции соляной кислоты в сычуге [5]. В качестве ведущего этиологического фактора возникновения диспепсии у новорожденных телят называют нарушение обмена веществ в организме коров за 2 месяца, а нетелей – за 3 месяца до отела, связанные с несбалансированным кормлением, отсутствием активного моциона и др. [2].

Для снижения уровня заболеваемости, помимо улучшения условий содержания и кормления, ученые предлагают использовать кормовые добавки, которые способствуют улучшению пищеварения и повышению иммунитета молодняка. [3,4]

Для лечения диспепсии новорожденных применяется комплекс мероприятий по улучшению содержания коров-матерей и новорожденных. Помимо этого применяют специальные препараты для устранения симптомов заболевания и улучшения общего состояния. Необходимо учитывать, что антидиарейный препарат должен воздействовать на основные мишени патологического процесса. [6] В последнее время пробиотики занимают одно из ведущих мест в арсенале ветеринарных лекарственных препаратов. Доказаны иммуностимулирующее, противовоспалительное, антидиарейное, ростостимулирующее другие свойства препаратов данной группы. [7] Особое внимание исследователи уделяют иммуностимулирующим свойствам пробиотиков, отмечая их положительное влияние на повышение устойчивости макроорганизма к неблагоприятным факторам внешней среды. [1]

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования проводились в зимне-

весенний период 2011-2013 г.г. на базе СПК «Дальняя Поляна» Кировского района Ленинградской области. поголовье крупного рогатого скота составляет 1100 голов айширской породы, из них 600 – коров дойное стадо. Содержание коров – стойлово-пастбищное. Молочная продуктивность, в среднем, за год составляет 7860 кг от каждой коровы.

Под наблюдением находилось 15 телят, которые были разделены на 2 группы (10 голов в группе 1 и 5 голов в группе №2). Сразу после рождения телята помещаются в индивидуальные клетки, где, в течение первых 3-х дней жизни они получают молозиво надлежащего качества. Если плотность молозива у матери ниже 1,050 г/см<sup>3</sup>, то его считают непригодным. В этом случае для выпаивания и применяют замороженное молозиво допустимой плотности, из запасов, имеющихся в хозяйстве. С 4-го дня жизни телятам вместо молозива выпаивают кефир. Телятам первой группы выпаивали кефир, для производства которого в качестве закваски использовался препарат «ГастроВет», во второй группе – препарат «Гидролактив». С 10-го дня жизни телята переводятся на групповое содержание.

«ГастроВет» - это препарат, содержащий эндогенные ферменты животного происхождения (пепсин, химозин). Данный препарат восполняет физиологическую недостаточность пищеварительных ферментов, стимулирует секрецию желудочного сока и желчи, а также ферментов поджелудочной железы. Действует антисептически и противобродильно, подавляет развитие условно-патогенной и гнилостной микрофлоры. Препарат представляет собой порошок светло-серого цвета (10 гр.), в комплекте с флаконом растворителя (1000 см<sup>3</sup>). Для сквашивания молока порошок разводят растворителем. Затем полученный раствор разводят в пропорции 1:10 в чистой теплой воде. Для сквашивания берут 10-20 мл разведенного

ГастроВета и добавляют на 1 литр молока. Молочную смесь тщательно перемешивают и, оставляют для сквашивания на 2-4 часа, периодически перемешивая.

«Гидролактив» - это кормовая добавка, содержащая в своем составе гидролизированный белок молочной сыворотки, олигопептиды и свободные аминокислоты, лактат кальция, витамины, β-каротин, ферменты, микро- и макроэлементы, полисахариды, а также живую культуру лактобактерий. Препарат представляет собой порошок бело-желтого цвета, расфасован в крафт-мешки по 25 кг.

Проводился контроль клинического состояния животных (измерялась температура, частота сердечных сокращений, частоты дыхания) - показатели приведены ниже в таблице №1. Также, в возрасте 20-25 дней, была взята кровь из яремной вены для проведения клинического и биохимического анализов. Клинический анализ крови проводился общепринятыми методами. Биохимический анализ проводился на анализаторах Clima MC – 15 с использованием реактивов «Ольвекс» и «Fluitest» (для определения альбумина по конечной точке с бромкрезоловым зеленым). Резервная щелочность определялась микродиффузионным методом по Кондрахину с использованием сдвоенных колб. Количество иммуноглобулинов в сыворотке крови определялось методом дискретного осаждения по Косыгина с использованием прибора КФК – 3.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Результаты исследований приведены в таблицах №1, 2.

Как видно из данных приведенных выше таблиц, у телят группы 2, получавших «Гидролактив» уровень общего белка, γ-глобулинов, АЛТ, Ig A, Ig M, Ig G<sub>1</sub> выше чем у телят группы 1, которым скармливался «ГастроВет», что свидетельствует о более высоком иммунном статусе животных. Одновременно с этим прибавка в весе у телят группы 2 был вы-

Таблица №1

Клинические показатели телят

Показатель	Группа №1	Группа №2
Частота сердечных сокращений (уд/мин)	74,8	53
Частота дыхания (ед/мин)	24,7	30,5
Температура тела (°С)	38,6	38,3

Таблица №2

Гематологические и биохимические показатели крови телят

Показатель	Группа-1	Группа-2
Эритроциты, 10*6 мкл	7,9 ± 1,8	7,9 ± 0,8
Лейкоциты, 10*3 мкл	9,8 ± 4,1	9,1 ± 2,9
Общий белок, г/л	62,5 ± 6,9	68,8 ± 2,8
Альбумины, %	42,4 ± 2,9	46,4 ± 4,5
α-глобулины, %	19,2 ± 3,0	17,6 ± 2,1
β-глобулины, %	21,7 ± 2,9	13,1 ± 3,8
γ-глобулины, %	16,7 ± 2,7	23,0 ± 2,9
АЛТ, МЕ/л	17,3 ± 4,2	20,6 ± 4,2
АСТ, МЕ/л	63,4 ± 14,8	60,5 ± 9,9
Резервная щелочность, об%	49,4 ± 7,9	41,4 ± 14,8
Ig – A, г/л	1,3 ± 0,5	1,7 ± 0,3
Ig – M, г/л	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Ig – G <sub>1</sub> , г/л	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,3
Ig – G <sub>2</sub> , г/л	1,3 ± 0,3	1,2 ± 0,8
Среднесуточный привес, г.	671,1 ± 297,5	1125,0 ± 202,7

ше, чем у телят группы 1, что можно рассматривать как результат более эффективного всасывания и распределение питательных веществ корма. Кроме того, телята группы 2 более крепкие физически, по сравнению с телятами из группы №1. Телята имели правильное телосложение, хорошо развитый мышечный слой, хорошую упитанность. Шерстный покров был блестящим и гладким, телята имели хороший аппетит и высокую двигательную активность. Телята из группы 1, получавшие «Гастровет» имели более низ-

кую упитанность, шерстный покров тусклый, неравномерный.

Количество эритроцитов и лейкоцитов у телят группы 2 снижены по сравнению с показателями крови телят из группы 1, как и уровни глобулинов α- и β-, уровень АСТ и Ig G<sub>2</sub>.

Уровень заболеваемости (клинических проявлений болезни) в группе 1 и 2 составил 100%. Телята заболевают на 7-10 сутки после рождения с проявлениями диспепсии. Для лечения применялась схема, принятая в хозяйстве с применением ан-

тибиотиков, иммунных сывороток, витаминов. Курс лечения (не зависимо от течения заболевания) составляет 5-7 дней. Больным телятам простокваша выпаивалась из ведра. Дополнительно, телятам из группы 1 применялся препарат «ГастроВет» в дозе 15-20 мл на голову перед кормлением. Выздоровление наступало на 3-5 день от начала заболевания и в группе 1 и в группе 2. Сохранность в группе №1 на день исследования составила 100%, в группе 2 – 80% . Кроме того, на день исследования в группе 2 один теленок имел признаки поражения желудочно-кишечного тракта с проявлением диспепсии (заболевание проявилось повторно). По моему мнению, это связано с тем, что «Гидролактив» выкармливался телятам с цельным молоком, в отличие от «ГастроВета», который скармливался в форме кефира.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, из результатов исследования можно сделать вывод, что применение препаратов содержащих живую культуру лактобактерий в комплексе с витаминами и микроэлементами оказывает благотворное воздействие на здоровье молодняка крупного рогатого скота. Кроме того применение данного препарата оказывает благотворное влияние на выработку иммуноглобулинов и формирование иммунитета молодняка телят. Однако для скармливания новорожденным телятам, для профилактики и лечения диспепсии, данные добавки лучше применять со сквашенным молоком, поскольку сквашенное молоко имеет в своем составе легкоусвояемые белки и углеводы, высокое содержание витаминов и повышенную кислотность, что обуславливает угнетение развития патогенной и гнилостной микрофлоры. Таким образом, облегчается переваривание и снижается риск возникновения и тяжесть течения диспептических явлений.

**Study of the effectiveness of feed**

**additives «GasrtoVet» and «Gidrolactiv» at dyspepsia newborn calves in the economy.**

**O.A. Rishko.**

#### **ABSTRACTS**

Presents literature review of disease calves diseases of the gastrointestinal tract. Are the causes of the bases of treatment and prevention dyspepsia, review of scientific studies on the topic. Describes the experience of various fodder additives, containing in the structure a live Lactobacillus, macro- and microelements, and also by digestive enzymes for feeding calves. Methods of research and the results of clinical and laboratory studies of whey of blood of calves aged 20-25 days of life, with the determination of the level of immunoglobulins in the serum. The results are presented in a comparative perspective to identify the effectiveness of the use of feed additives that contain probiotics and enzymes endogenous origin. Describes the technique of preparation of yogurt with the use of digestive enzymes of endogenous origin for feeding calves in the conditions of an industrial complex. The results of the studies recommended the use of preparations containing live culture of lactobacilli in combination with vitamins and microelements. Application of preparations containing probiotics, has a beneficial effect on the microflora of the gastrointestinal tract, immunoglobulins and immunity formation of young calves. However, the feeding of the calves, for the prevention and treatment of dyspepsia, these drugs is recommended with fermented milk, because of better its digestibility. Because fermented milk is composed of digestible protein and carbohydrates, high content of vitamins and increased acidity, which leads to suppression of the growth of pathogenic and putrefactive microflora. Thus, easier his digestion and reduces the risk of dyspepsia as well as easier for dyspepsia.

**Key words:** dyspepsia, calves, probiotics, fermented milk.



**ЛИТЕРАТУРА**

1. Андреева Н.Л. Иммуностимулирующие свойства пробиотиков» «Новые пробиотические и иммуотропные препараты // Материалы Российской научно-практической конференции. - Новосибирск. -2003. –С. 13-14.  
2. Батраков А.Я., Кротов Н.Н., Балюк В.К., Карагодина Т.И. Улучшение функций пищеварения у новорожденных телят природными средствами // Ветеринария. -

2010. -№1. -С. 40-42.

3. Калоев Б.С. Использование молочнокислых препаратов // Зоотехния. -2003. - №5. -С. 14-15.

4. Литвинова Н.В., Катышева Н.Ю., Тихомирова Н.М. Опыт кормления телят сквашенным молоком в хозяйствах Вологодской области // Практик. -2007. -№3. –С. 64-66.

5. Прудников В.С. и др. Выращивание и болезни телят. -Витебск ВГАВМ. -2010.



**ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ,  
ФАРМАЦИЯ**

УДК 619.615.068.616.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ АКАРИЦИДОВ  
ПРИ ДЕМОДЕКОЗЕ СОБАК**

Соколов В.Д.<sup>1</sup> - д.в.н, профессор, Андреева Н.Л.<sup>1</sup> - д.б.н, профессор, зав. каф. Фармакологии и токсикологии, Фисенков Н.Н.<sup>2</sup> - к.в.н.

<sup>1</sup> Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

<sup>2</sup> Горветуправление СПб



**РЕФЕРАТ**

Подтвердилось исследование по лечению демодекоза плотоядных в девятилетнем возрасте, которое снижалось в пик проявления демодекоза, т.е. в середине первого и начале второго кварталов. Это снижение эффективности (лечение затягивалось), как и сам пик проявления демодекоза можно объяснить тем, что в зимне-весенний сезон организм большинства животных ослаблен иммунодефицитным состоянием, которое и является одной из предрасполагающих причин возникновения демодекоза. Подтверждено проведением иммунобиохимических исследований, которые показали снижение факторов защиты организма. Одновременно с этим подтверждена высокая эффективность противоакарицидной мази акаробор, разработанной в НИИ ВФ «Эврика» при нашем участии из борорганических соединений, которая оказалась выше, чем у препаратов из пиретроидов (мустанг) и ивермектинов (отодектин). Подобная эффективность объясняется подбором оптимальной рецептуры, что обеспечивает воздействие на основные мишени патологического процесса. Препарат проявляет акарицидное, антимикробное, противовоспалительное, иммуностимулирующее и антиаллергическое действие, что и обеспечивает высокий терапевтический эффект. Отмечена высокая токсичность отодектина.

**Ключевые слова:** демодекоз, акаробор, мустанг, отодектин, собаки, эффективность, побочное действие.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Наши наблюдения и анализ ветеринарной отчетности показывают, что демодекоз собак до настоящего времени все еще встречается среди животных Санкт-Петербурга и регистрируется в зависимости от времени года от 3 до 7% среди других патологий кожного покрова у собак. Ряд авторов относят демодекоз к сезонной инвазии, хотя он протекает круглогодично с выраженными эпизоотическими надбавками в отдельные периоды года. В ранее полученных результатах [7,8] демодекоз регистрировался чаще, однако это не значит, что данная инвазия плотоядных и в настоящее время не может активизироваться с увеличением случаев его проявления. И в настоящее время наблюдается определенная зависимость в проявлении демодекоза у собак от времени года. Наибольшее количество случаев болезни регистрируется в первые три месяца года (январь, февраль, март), что многие авторы связывают со снижением защитных сил организма, то есть с иммунодефицитами [1,2,4]. Терапия этой болезни весьма сложная, поскольку с одной стороны поражается не только кожа, но и весь организм, с другой стороны, кроме клещей в патологическом процессе участвует условно-патогенная и патогенная микрофлора, чаще всего, вызывающая гнойно-некротические процессы [6,9]. Кроме того, также как микрофлора приобретает устойчивость к антибиотикам, так и клещи адаптируются к акарицидам. Однако, из-за более профессионального подхода к лечению демодекоза, в настоящее время процесс редко доходит до третьей, генерализованной стадии болезни и постоянно уменьшаются случаи его проявления. Правда, следует заметить, подобное снижение заболеваемости связано еще и с тем, что не все хозяева приводят животных в клиники, а пользуясь интернетом или советом знакомых, проводят лечения сами, поскольку появился

ряд эффективных и удобных в применении лекарственных форм препаратов (капли, ошейники, шампуни, dustы и др.). В результате общее количество больных животных уменьшается. Из лекарственных средств наиболее эффективными на сегодняшний день считаются препараты группы пиретроидов, борорганических соединений и ивермектины [3,5,9]. Как сообщалось ранее [6], настораживает, что в настоящее время фирмы одна за другой производят и рекламируют различные препараты из этой группы, а ветеринарные врачи из-за удобства применения (перорально или парентерально) широко используют их в практике. Но дело даже не в эффективности (некоторые препараты этой группы относительно эффективны, во всяком случае, значительно эффективнее хлорофоса), дело в том, что ивермектины весьма токсичны для плотоядных. Более честные фирмы сообщают об этом в своих инструкциях (хотя, далеко не все).

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

В данной серии опытов на 30-и собаках различных пород испытали 3 лекарственных противопаразитарных средства: препарат из группы пиретроидов – мустанг, из борорганических соединений – акаробор и отодектин из ивермектинов. Дополнительно испытали хлорофос на 3-х животных.

Мустанг – коммерческое название препарата зета-изомера циперметрин. Акаробор – мазь, комплексный препарат, действующим началом которого является борорганическое соединение, лечебное действие которого усиливается антимикробным средством – диоксидином, иммуностимулятором и противоаллергическим веществом (ООО «НИИВФ Эврика», СПб)

Отодектин - противопаразитарный препарат широкого спектра действия для обработки плотоядных животных, содержащий ивермектин, полученный из про-

дуктов жизнедеятельности почвенного гриба *Streptomyces avermitilis* (ООО «Ветбиохим», Россия, Москва).

Препараты назначали согласно существующим наставлениям. Мустанг и мазь акаробор наносили на пораженные участки кожи животных тонким слоем, используя трехкратные аппликации с промежутком 3-4 дня. Отодектин вводили подкожно в дозе 0,2 мл на 1 кг массы тела (в расчете по действующему веществу 200 мкг ивермектина на 1 кг массы тела) двукратно, с интервалом в 8–10 суток. Дополнительно 3-м собакам применили хлорофос, который когда-то был эффективным при этой болезни. Учитывая, что в настоящее время демодекоз среди плотоядных встречается значительно реже, чем 8-10 лет тому назад, лечение проводили аккордно, комплектуя группы по 4 животных в следующие сезоны: весна, лето и осень. Учитывали эффективность терапии и влияние препаратов на организм животных (возможное побочное действие). Результаты опытов представлены в таблице 1 (суммарные данные по трем опытам).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установили, что все три акарицидных средства: мустанг, акаробор и отодектин проявляли лечебный эффект при демодекозе собак, однако наиболее эффективным оказался акаробор (табл.1).

Из таблицы 1 видно, что по эффективности при лечении демодекоза препараты

располагались в следующем порядке: акаробор, мустанг, отодектин и хлорофос, то есть наиболее эффективной при демодекозе собак оказались мазь акаробор. При этом, основная масса животных выздоравливала на 15-й день от начала лечения. Эффективность мустанга и отодектина была примерно одинаковой. Основное количество животных выздоровело на 15-й день, а все – на 20-й. Что же касается хлорофоса, то к 15-му дню выздоровело только два животных, третьему пришлось дополнительно назначать акаробор.

Отметили, что эффективность лечения всеми препаратами снижалась в пик проявления демодекоза, т.е. в середине первого и начале второго кварталов. Это снижение эффективности (лечение затягивалось), как и сам пик проявления демодекоза можно объяснить тем, что в зимне-весенний сезон организм большинства животных ослаблен иммунодефицитным состоянием, которое и является одной из предрасполагающих причин возникновения демодекоза. Это подтвердилось иммунобиохимическими исследованиями, показавшими снижение факторов защиты организма, в т.ч. и иммунокомпетентных клеток и повышением эффективности лечения с дополнительным назначением иммуностимуляторов.

Важно подчеркнуть, что из всех изученных препаратов наибольшее негативное влияние на организм собак оказал

Таблица 1

Сравнительная эффективность акарицидных средств при демодекозе собак

Препараты	Количество животных	Выздоровело (количество дней от начала лечения)			
		10-й день	15-й день	20-й день	Всего
Мустанг	10	4	4	2	10
Акаробор	10	7	3		10
Отодектин	10	3	4	3	10
Хлорофос	3		2	1	3

отодектин. Так, у 3-х собак наблюдалась сильная саливация, у одной – рвота и тремор. Этому животному пришлось срочно назначать интенсивную терапию с внутривенным введением кордиамина и назначением противосудорожных и регидратационных средств. При назначении акаробора не наблюдалось никаких видимых побочных явлений. Мустанг и хлорофос практически также не оказывали отрицательного действия на организм собак, за исключением некоторого угнетения после второго назначения хлорофоса.

**Efficiency and toxicity of acaricides at demodekzo of dogs.**

**V.D. Sokolov, N.L. Andreeva, N.N. Fisenkov.**

**ABSTRACTS**

Researches on treatment demodekoz carnivorous in the nineties which decreased in manifestation peak demodekzo, i.e. in the middle of the first and the beginning of the second of quarters were confirmed. This decrease in efficiency (treatment was tightened), as well as the peak of manifestation demodekoz can be explained to that during a winter and spring season the organism of the majority of animals is weakened by an immunoscarce condition which is one of the contributing reasons of emergence demodekoz. It is confirmed with carrying out the immunobiochemical researches, shown decrease in factors of protection of an organism. At the same time with it high efficiency of protivoakaritsidny ointment an akarobor developed in scientific research institute VF "Eureka" with our participation from bororganichesky connections which was higher, than at preparations from pyrethroids (mustang) and ivermektins (otodectin) is confirmed. Similar efficiency is explained by selection of an optimum compounding that provides impact on the main targets of pathological process. The preparation shows akaritsidny, antimicrobial, anti-inflammatory, immunostimulating and antiallergenic action, as provides high therapeutic effect.

High toxicity otodectin is noted.

**Key words:** demodekoz, akarobor, mustang, otodectin, dogs, efficiency, collateral action.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Андреева Н.Л., Войтенко В.Д. Иммуностимуляторы в ветеринарии // Матер.ХУ111 междунар., межвуз., науч.-практич. конфер. «Новые фармакологические средства в ветеринарии». СПб. – 2006. – С. 87-88.
2. Войтенко В.Д. Повышение эффективности байтрила и доксицилина с помощью иммуностимулятора фоспренила // Международный вестник ветеринарии. СПб. – 2012. – С. 29-32.
3. Бацанов Н.П. Лекарственные средства для лечения плотоядных // Материалы 9-й межгосударственной межвузовской научно-практической конференции "Новые фармакологические средства в ветеринарии". – СПб., 1997. – С. 10-11.
4. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Соколов А.В. Иммуностимуляторы в ветеринарии // Ветеринария. – 1992. – № 7-8. – С.49-50.
5. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Войтенко В.Д., Пашкин П.И. и соавт. Новые средства для лечения повреждений кожи различной этиологии // Ветеринария. – 1998. – №8. – С.37-40.
6. Соколов В.Д. Эффективность и безвредность акарицидов при демодекозе собак // Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки: Экспресс-информация. СПб, - 2013. Вып. 23. –С. 36-38.
7. Фисенков Н.Н. Классификация и этиопатогенез повреждений кожи и глублежащих тканей // Международный вестник ветеринарии. 2004. №1. – С.30-36.
8. Фисенков Н.Н., Царев С.А. Фармакотерапия демодекоза плотоядных // Матер. III междунар. межвуз. науч.-практ. конф. аспирантов и соискателей / Предпосылки и эксперимент в науке. СПб., 2005.- С.62-63.

9. Шустрова М.В. Демодекоз собак в условиях города // Ветеринария. – 1995. – № 1. – С. 54-55.



## БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 618.2-07:636.1

### ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ГРУППЫ РИСКА У ЖЕРЕБЫХ КОБЫЛ

Потапова А.Ю. - аспирант, кафедры ветеринарного акушерства и гинекологии  
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



#### **РЕФЕРАТ**

Исследованиями установлена связь между наличием недостатков в акушерском анамнезе и гистологическими изменениями структуры плаценты. Основные причины снижения репродуктивных характеристик кобыл является аборт и преждевременные роды. В основе патогенеза осложнений жеребости лежит развитие плацентарной недостаточности. Исход жеребости зависит от способности кобылы формировать полноценную плаценту. Послеродовое морфологическое обследование плодной части плаценты дает информацию, в каких условиях развивался плод. Это быстрый и недорогой способ позволяет получить информацию о репродуктивном здоровье кобылы. Эта объективные данные может использоваться в прогнозировании благополучия последующих жеребостей. Было обследовано 30 молодых кобыл, содержащихся всю жизнь в одинаковых условиях конного завода. Для каждой кобылы был собран подробный акушерский анамнез с учетом эпизодов абортов, преждевременных родов, смерти приплода в неонатальном возрасте. Каждая кобыла оценивалась по десятибалльной системе (10 – все жеребята родились здоровыми, 1 – ни одна беременность не закончилась родами). Проводили макроскопическое обследование плаценты, ее взвешивание и микроскопическое обследование. При оценке плаценты обращали внимание на: 1) дистрофии, 2) степень васкуляризации, 3) зрелость трофобласта, 4) воспаление, 5) новообразования. Оценивались такие показатели, как точность диагностики (Acc), прогнозирование количество положительных исследований (Pd+), прогнозирование количество отрицательных исследований (Pd-). В данном исследовании показана прочная связь между плацентарной недостаточностью и болезнями репродуктивной системы у кобыл. Точность исследования у кобыл – 73,3 %. С такой точностью можно сказать, что у кобыл возникнет плацентарная недостаточность в 73,3 % случаев после аборта или рождения слабого приплода (на 100 плацентарных недостаточностей приходится 73,26 абортов/ гипотрофиков). Таким образом, снижение репродуктивной способности и способность формировать полноценную плаценту взаимосвязаны.

**Ключевые слова:** исследование плаценты, кобылы, группа высокого риска.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Аборты и рождение нежизнеспособного приплода является основной причиной снижения выхода жеребят и нарушения репродуктивных характеристик кобыл. Главной причиной абортов и неонатальной смертности является нарушение структуры плаценты. Исход жеребости и благополучие приплода зависит от качества плацентации. Информация, полученная при послеродовом исследовании последа, помогает в диагностике послеродовых заболеваний и служит основанием для прогнозирования проблем при последующих жеребостях [3].

Диффузная эпителиохориальная плацента лошади является точным отпечатком внутренней поверхности матки [8]. Рубцы или другие анатомические повреждения эндометрия, изменения его васкуляризации, внутренние кровотечения, инфекционные агенты, задержание последа вызывают макро- и микроизменения структуры плаценты.

Существуют немногочисленные публикации о плацентарной недостаточности у лошадей. Необходимость исследования морфологии плаценты была показана ещё в 70-х годах прошлого столетия Samuel и Steven [2]. Плацента как модель для исследования предполагалась D. van Valzen (эволюционные аспекты) [6], C. B. Hong, F. L. Coignoul et al. (гистологические изменения при плацентитах) [7], Amanda de Maste (иммунология репродукции) [1].

Целью данного исследования являлось установление связи между степенью зрелости плаценты и репродуктивным здоровьем кобылы.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Были изучены последа от 30 молодых (5 - 8 лет) кобыл русской верховой породы, образцы тканей плодной части плаценты отбирали непосредственно после выжеребки, фиксировали в 10%-м формалине, обезвоживали в спиртах с возрастающей крепостью, затем пробы заливали

в парафин через хлороформ. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Полученные препараты подвергали микроскопии.

Кобылы выбирались слепым методом. Все они содержались в одинаковых условиях ЗАО «Старожиловский конный завод» на протяжении всей жизни. Для выявления однородности выборки за месяц до родов, проводили клиническое обследование состояния здоровья кобыл методом биохимического, морфологического и гормонального исследования крови.

Исследование плаценты проводили в два этапа. В начале первого этапа осуществляли макроисследование (вес плаценты, наличие разрывов, участков истончения, видимых некрозов, кровоизлияний и безворсинчатых зон).

Второй этап включал гистологическое исследование плаценты. Критерии оценки состояли из морфометрической оценки тканей плаценты по методу Автандилова Г.Г. (1990), обращая внимание на контрольные точки: 1) дистрофические включения; 2) сосудистые нарушения; 3) неполноценность трофобласта. Также фиксировались участки воспаления, некроза или кальцификации, как следствие декомпенсированного состояния плацентарной недостаточности.

Полученные данные подвергались статистическому анализу в программе Microsoft Office Excel.

Для каждой кобылы собирался подробный акушерский анамнез. Учитывалось количество беременностей (3 – 5 для обследуемых кобыл), аборты, мертворождения, неонатальная гибель приплода, количество дней/месяцев от родов до следующего успешного осеменения. Каждая кобыла оценивалась по десятибалльной системе (10 – все жеребята родились здоровыми, 1 – ни одна беременность не закончилась родами).

Последним этапом статистической обработки данных было сопоставление результатов гистологического исследова-

ния с данными акушерского анамнеза. Оценивались такие показатели, как точность диагностики (Acc), прогнозирование количества положительных исследований (Pd+), прогнозирование количества отрицательных исследований (Pd-):

Accuracy =

Pd+ =

Pd- =

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Средний вес плацент попадал в референтные значения и составил  $4,9 \pm 0,8$  кг. Видимых нарушений целостности и патологических зон в тканях последа при макрооценке не обнаружили.

Во второй части исследований проводили гистологическую оценку состояния последов. В качестве критерия постановки диагноза плацентарной недостаточности бралось наличие приспособительно-компенсаторных изменений плодной части плаценты: 1) некроз ворсинок хориона, эозинофильная инфильтрация ворсин; 2) мононуклеарная инфильтрация межворсинчатого пространства и стромы; 3) гиперплазия синцитиотрофобласта; 4) истончение и отечность стромы с отодвиганием сосудов в глубоки слои; 5) укорочение и истончение ворсин.

Установленные нами изменения возникают под действием пролонгированного влияния неблагоприятных факторов на плацентарный комплекс. Однако не всегда обнаруженные при гистологическом анализе структурные нарушения проявляются клиническими признаками плацентарной недостаточности.

Для точности статистической обработки, один измененный участок в поле зрения микроскопа оценивался в один бал. Баллы суммировались. Результаты сравнения акушерского анамнеза и гистологического исследования плаценты приведены в таблице 1. За положительный резуль-

Таблица 1

#### Результаты сравнения

Результат	Количество плацент
Положительный результат диагностики	9
Отрицательный результат диагностики	13
Ложноположительный результат диагностики	6
Ложноотрицательный результат диагностики	2

тат диагностики принималось сочетание проблем в акушерском анамнезе и наличие структурных изменений, выявленных при гистологическом исследовании. За отрицательный результат диагностики принималось сочетание идеального акушерского анамнеза и отсутствие структурных изменений в строении плаценты. Ложноположительным результатом являлось нарушение структуры плаценты при идеальном анамнезе. Ложноотрицательный результат характеризовался отсутствием изменений при гистологическом исследовании и наличием проблем в анамнезе.

Точность исследований (Acc) составила 73,3%, прогнозируемое количество положительных исследований (Pd+) – 60%, прогнозируемое количество отрицательных исследований (Pd-) – 86,6%.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ткани хориоаллантоиса являются зеркалом здоровья эндометрия и кобылы в целом. Возможные проблемы, возникающие во время беременности, не обладают специфическими признаками проявления, из-за чего их диагностика затруднена. Диагноз устанавливают при гистологическом анализе плодной части плаценты.

Способность кобылы формировать полноценную плаценту зависит от условий содержания, кормления и генетических данных. На основании этого, в условиях конного завода можно прогнозировать группы риска у кобылы при последующих беременностях [4,5].

В данной исследовательской работе установлена тесная связь между плацентарной недостаточностью и болезнями

репродуктивной системы у кобыл. Точность исследования у кобыл – 73,3 %. При такой точности исследования можно сказать, что у кобыл возникнет плацентарная недостаточность в 73,3 % случаев после аборта или рождения слабого приплода (на 100 плацентарных нарушений приходится 73,26 аборт/гипотрофиков).

**Diagnosis of High-risk Pregnancy Group in Mare Based on Placenta Examination.**

**A. Potapova.**

**ABSTARCTS**

Abortion and stillbirth are the major causes of the loss of a foal and as a result the decrease of equine reproductive ability. Main causes of abortion and stillbirth are placental abnormalities. The outcome of a pregnancy depends on a full-fledged placenta. Postpartum examination of the placenta is an excellent diagnostic aid. This is a cheap and rapid method to get information about reproductive health of a mare. The information may be useful for prevention of postpartum illnesses and prediction of mares' future pregnancies. We examined 30 mares which were randomly selected and divided into two groups. Examination of placentas was separated into two stages. First stage includes weighing, measuring thickness, search for necrotized, edematous, hemorrhaged, avillous or rupture areas. Second stage includes histological examination. Pieces of placenta were stained with routine hematoxylin and eosin. The criteria used for diagnosing a mature placenta were 1) dystrophy; 2) vasculature; 3) the state of the trophoblast; 4) inflammation; 5) neoplasm. The obtained data were subjected to statistical analysis. Evaluation of categorical data was performed using the chi-square. As the placenta and problems with reproductive health have a strong correlation. The accuracy of this diagnostics equals to 73,3%. This means that a mare would have a problem with placentation in 73,3% after abortion or stillbirth.

**Key words:** placenta examination, mare, high-risk group.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Amanda de Mestre, Leela Noronhla. Split immunological tolerance to trophoblast. *Int. J. Dev. Biol.* –2010. -№54. -P. 445-455.
2. Carol A. Samuel, W.R. Allen, D.H. Steven. Studies on the equine placenta. II. Ultrastructure of the placental barrier / *J. Reproduction Fertility.* -1976. -№48. -P. 257 – 264.
3. Coignoul F.L., N.F. Cheville. Pathology of the maternal genital tract, placenta, and fetus in equine viral arteritis. *Veterinary Pathology Online.* -1984. -№21. -P. 333- 340.
4. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology.* Robert S Youngguist, Walter R Threlfell. Saunders, Elsevier. -2007.
5. Derek C Knottenbelt. *Equine Stud Farm Medicine and Surgery.* – Edinburgh. -2003. – 402 p.
6. D. van Velzen. the placenta, an evolutionary perspective. *Havemeyer Foundation Monograph Series №8.* -2001. -P. 17 – 23.
7. Hong C.B., Donahue J.M., Giles R.C. et al. Etiology and Patology of Equine Placentitis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.* –1993. -№ 5. –P. 56 – 63.
8. Ousey J.C., Rossdale P.D. Diagnosis of fetoplacental problem during pregnancy and in the early post partum period. *Comparative Neonatology/ Perinatology J.* –1993. -№ 25. –P. 518 – 521.



## БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ МОЛОЗИВА КОБЫЛ ПЕРВЫХ ЧАСОВ ЛАКТАЦИИ

Потапова А. Ю. – ассистент каф. ветеринарного акушерства и гинекологии  
Баженова Н. Б. – д. в. н., профессор каф. ветеринарного акушерства и гинекологии  
Племяшов К. В. – д. в. н., профессор каф. ветеринарного акушерства и гинекологии  
Санкт-Петербургская академия ветеринарной медицины



### РЕФЕРАТ

Представлены результаты биохимического исследования белковых фракций и концентрации иммуноглобулинов А, М, G1, G2, G в молозиве первых часов лактации у кобыл. Цель исследования заключалась в изучении влияния комплексного препарата «Гемобаланс», содержащего незаменимые аминокислоты, витамины и микроэлементы, на качество молозива кобыл. Количество питательных и иммунологически компетентных веществ в молозиве лимитирует их содержание в крови новорожденных жеребят. Вопрос повышения качества молозива был изучен на 30 молодых кобылах. Животным опытной группы (n = 15) вводили препарат внутримышечно на 280-300 день жеребости в дозе 1 мл на 45 кг массы тела трехкратно через каждые 8 часов. Животным контрольной группы (n = 15) лекарственных средств не вводили. Молозиво собирали от кобыл подопытной и контрольной группы в первые часы после выжеребки. Исследовали концентрации общего белка, альбуминов, глобулинов, иммуноглобулинов А, М, G1, G2, G. Общий белок определяли биуретовым методом, альбумины - методом с использованием бромкрезолового зеленого реактива. Глобулины - расчетным методом. Фракции иммуноглобулинов - турбидиметрическим методом с помощью реагента цинк сульфата. Показано положительное влияние препарата «Гемобаланс» на повышение концентрации белков и иммуноглобулинов фракции G. В эксперименте содержание общего белка в молозиве увеличилось на 14%, глобулинов на 11% и альбуминов на 25%; наблюдалось достоверное увеличение фракции Ig G, проникающего в молозиво из сыворотки крови (Ig G1 на 5,67 %, Ig G2 на 22,77 %).

жашего незаменимые аминокислоты, витамины и микроэлементы, на качество молозива кобыл. Количество питательных и иммунологически компетентных веществ в молозиве лимитирует их содержание в крови новорожденных жеребят. Вопрос повышения качества молозива был изучен на 30 молодых кобылах. Животным опытной группы (n = 15) вводили препарат внутримышечно на 280-300 день жеребости в дозе 1 мл на 45 кг массы тела трехкратно через каждые 8 часов. Животным контрольной группы (n = 15) лекарственных средств не вводили. Молозиво собирали от кобыл подопытной и контрольной группы в первые часы после выжеребки. Исследовали концентрации общего белка, альбуминов, глобулинов, иммуноглобулинов А, М, G1, G2, G. Общий белок определяли биуретовым методом, альбумины - методом с использованием бромкрезолового зеленого реактива. Глобулины - расчетным методом. Фракции иммуноглобулинов - турбидиметрическим методом с помощью реагента цинк сульфата. Показано положительное влияние препарата «Гемобаланс» на повышение концентрации белков и иммуноглобулинов фракции G. В эксперименте содержание общего белка в молозиве увеличилось на 14%, глобулинов на 11% и альбуминов на 25%; наблюдалось достоверное увеличение фракции Ig G, проникающего в молозиво из сыворотки крови (Ig G1 на 5,67 %, Ig G2 на 22,77 %).

**Ключевые слова:** молозиво, иммуноглобулины, белковые фракции, «Гемобаланс», кобылы.

### ВВЕДЕНИЕ

Единственной пищей жеребенка в первые дни жизни является материнское молозиво, представляющее собой источник биологически активных веществ, необходимых для полноценного развития организма, а также способствующее формированию пассивного иммунитета за счет высокого содержания иммуноглобулинов [1, 3]. Перенос белков из сыворотки крови матери в ткани молочной железы и местный их синтез у кобыл начинается за

20 - 10 дней до родов. Хорошее молозиво должно содержать более 30 г/л IgG, а молозиво наилучшего качества содержит до 60 г/л IgG [6].

Секреторные жидкости не обладают постоянным составом, и содержание в них белков, в том числе иммуноглобулинов, зависит от целого ряда неконтролируемых факторов, таких как время взятия пробы, функциональное состояние организма, его физические способности. В данной статье уделяется внимание тен-

денциям изменения местно синтезированных иммуноглобулинов, и иммуноглобулинов, проникших в секрет из сыворотки под влияние препарата «Гемобаланс», что объясняется его адаптогенным действием. Снижение воздействие стресса (неполноценное кормление, неудовлетворительные зоогигиенические условия) на организм, "Гемобаланс" способствует формированию адекватного иммунного ответа организма.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Эксперимент был выполнен на 30 молодых жеребившихся кобылах породы русская верховая. Животные на 280 – 300 день жеребости были разделены на две группы: контрольная (n=15); и подопытная (n=15), животным которой применялся препарат «Гемобаланс» в объеме 1 мл на 45 кг массы тела внутримышечно каждые 48 часов трехкратно.

В первые 2 часа после выжеребки отбирали пробы молозива в широкие пластиковые стерильные пробирки в объеме 20 мл и замораживали при -18 С°. Такой метод хранения позволял собрать молозиво от всех кобыл и доставить в лабораторию все пробы одновременно. [8].

Лабораторные исследования проводились на базе кафедры биохимии СПбГАВМ и ЗАО «Институт экспериментальной фармакологии». Показатели молозива определялись на биохимическом анализаторе «А-25» (Испания) с использованием реагентов фирмы BioSystems (Испания). Концентрацию иммуноглобулинов определяли турбидиметрическим методом цинк сульфата [7].

Общий белок определялся биуретовым методом. Принцип метода: белок пробы реагирует с ионами меди (II) в щелочной среде с образованием цветного комплекса, который может быть измерен спектрофотометрически при 540 (500-550) нм. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации белка в пробе. Предел обнаружения - 1,6 г/л; предел ли-

нейности - 150 г/л. Альбумин – метод с использованием бромкрезолового зеленого реактива. Принцип метода: альбумин сыворотки избирательно взаимодействует с бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде в присутствии детергента. Оптическая плотность, образовавшегося желто-зеленого комплекса, прямо пропорционально концентрации альбумина в пробе. Измеряется при 570-640 нм. Предел обнаружения - 1,1 г/л; предел линейности - 70 г/л. Глобулин вычислялся расчетным методом. Количество глобулинов в сыворотке молозива равно разнице между количеством общего белка и альбумина ( $G = TP - A$ , г/л). Отношение A/G рассчитывается путем деления концентрации альбумина к концентрации глобулинов сыворотки молозива. Исследование концентрации иммуноглобулинов проводилось турбидиметрическим методом с помощью реагента цинк сульфата [1]: 250 мг  $ZnSO_4$  добавляют к 1 л кипящей дистиллированной воды и оставляют на воздухе на ночь. К 100 мкл исследуемого образца добавляют 6 мл  $ZnSO_4$ . Пробирки перемешивают 5-6 раз. Далее 200 мкл переносят в планшет и измеряют оптическую плотность на длине волны 550 нм. Расчет иммуноглобулинов производили по калибровочной кривой.

Статистический анализ выполнялся с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

У кобыл, получавших препарат «Гемобаланс», показатели общего белка и белковых фракций выше, чем в контрольной группе животных. Так, содержание общего белка в молозиве было выше на 14%, глобулинов на 11% и альбуминов на 25% ( $p \leq 0,05$ ). Несмотря на различие в содержании белка и его фракций, соотношение глобулинов и альбуминов в обеих группах животных не отличается. Результаты представлены в таблице 1.

Концентрация иммуноглобулинов в

Таблица 1

Концентрация общего белка и основных белковых фракций молозива

Группа	Общий белок, г/л, M±m	Глобулины (G), г/л, M±m	Альбумины (A), г/л, M±m	A/G M±m
Контрольная группа	123,6±21,8	98,3±18,4	25,3±3,9	0,3±0,0
Подопытная группа	141,0±15,4	109,3±13,1	31,7±3,5	0,3±0,0
Достоверность	p≤0,05*	p≤0,05*	p≤0,05*	-

\* достоверность по отношению к контролю

Таблица 2

Концентрация иммуноглобулинов в молозиве кобыл в первые часы лактации

Группа	Ig A, г/л M±m	Ig M, г/л M±m	Ig G1, г/л M±m	IgG2, г/л M±m	Ig G, г/л M±m
Контрольная группа	6,5±0,7	7,3±0,9	13,3±1,2	10,7±2,3	23,4±2,5
Подопытная группа	6,9±0,9	8,0±0,9	14,1±1,9	13,8±2,9	26,8±2,9
Достоверность	p≥0,05*	p≥0,05*	p≤0,05*	p≤0,05*	p≤0,05*

\* - достоверность по отношению к контролю

молозиве кобыл из подопытной группы увеличилась на 11,9 % по отношению к контролю. Однако, достоверное увеличение наблюдалось только в фракциях Ig G (Ig G1 на 5,67 %, Ig G2 на 22,77 % - p≤0,05). Результаты представлены в таблице 2.

Секреторные жидкости не обладают постоянным стандартным составом, и содержание в них белков, в том числе иммуноглобулинов, зависит от целого ряда неконтролируемых факторов, таких как время взятия пробы, функциональное состояние организма, его физические способности. Поэтому целесообразно рассчитывать соотношение количество иммуноглобулинов к общему количеству белка в секрете. В данном случае соотношение в контрольной группе – 0,49; а в подопытной – 2,0, что говорит об объективном увеличении фракции иммуноглобулинов [4].

Также важно оценить соотношение местно синтезированных иммуноглобулинов, и иммуноглобулинов, проникших в секрет из сыворотки [3]. Однако, из-за низкой достоверности показателей кон-

центрации Ig A и Ig M, в данном случае это не целесообразно.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Концентрация белка и белковых фракций в молозиве кобыл изменяется уже в течение первых суток. Однако первые порции молозива особенно важны для выживания потомства. У однокопытных животных сформировался эпителиохориальный тип плаценты, не пропускающий крупные белковые молекулы из крови матери в кровь плода. При отсутствии прямого перехода иммуноглобулинов через плаценту, в молозиве их содержание особенно высоко, при этом они в основном представлены G фракцией. Концентрация IgG не подчиняется законам простой диффузии, так как содержание их в молозиве выше, чем в сыворотке крови. Это указывает на местный синтез Ig в молочной железе [2,5]. Данное обстоятельство подтверждает актуальность изучения питательных и иммунологических свойств молозива помимо изучения сыворотки крови матерей как прогностического критерия благополучия новорожденного жеребенка.

Перенос белков из сыворотки крови матери в ткани молочной железы и местный их синтез у кобыл начинается за 20 - 10 дней до родов [6]. На основании этого факта было выбрано время введения лекарственного средства.

Хорошее молозиво должно содержать более 30 мг/л IgG. А молозиво наилучшего качества содержит до 60 мг/л IgG [1,3,6].

Применение препарата Гемобаланс достоверно улучшает белковый состав молозива. В эксперименте содержание общего белка в молозиве увеличилось на 14%, глобулинов на 11% и альбуминов на 25%; наблюдалось достоверное увеличение фракции Ig G, проникающего в молозиво из сыворотки крови (Ig G1 на 5,67 %, Ig G2 на 22,77 %).

#### **Protein composition of colostrum in mares in early hours lactation.**

**A. Potapova, N. Bazhenova, K. Plemyshev.**

#### **ABSTRACTS**

The paper brings out the results of the biochemical studies of protein fractions and concentration of immunoglobulin in the mare's colostrum in early hours of lactation. The aim of this study was to investigate the influence of "Haemobalans" on the quality of colostrum. It is important to pay more attention to the composition of colostrum, because the quality of these substances limits the quality of the same substances in foals, reducing their vitality. We examined 30 mares that were randomly selected and divided into two groups. Test animal (n = 15) had pharmacological treatment on the 270 - 300th days of gestation for 10 days: 1 injection of " Haemobalans" in 3 days, in dose 1 ml per 45 kg of body weight. Control animals (n = 15) were also examined. Colostrum was collected in a plastic sterile tube, Ig-s were investigated using the particle-enhanced turbidimetric immunoassay, protein fraction was investigated using the biuret test. A student-paired T test was used

for the parametric statistical analysis ( $P < 0.05$ ). The positive effects of "Haemobalans" were proven by an increase of the concentration of proteins and Ig G. The quantity of protein fractions increased by 14%, globulins - 11%, albumins - 25 % respectively. The concentration of IG G in colostrum directly depends on its concentration in blood, reliably increased (Ig G1 - in 5,67 %, Ig G2 - in 22,77 % respectively).

**Key words:** colostrum, immunoglobulin, protein fractions, "Haemobalans", mares.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Брюйа Ж.Б. Молозиво как основа иммунитета новорожденных жеребят. // Коневодство и конный спорт. -2006. -№2. - С. 13-16.
2. Говалло В.И. Иммунология репродукции. - М.: Медицина. -1987. - 304с.
3. Лагодюк Л.З. Предшественники глобулярных белков молока из сыворотки крови. Науч.-тех. бюлл. Украинский НИИ физ. и биох. с.-х. жив., -1982. -№4. -С. 3-5.
4. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: рук. для врачей. М.: ГЭОТАР- Медиа. - 2009. -352с.
5. Csapo J., Salamon Sz., et al. Composition of mare's colostrum and milk II / Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria. -2009. -P. 133 - 148.
6. Juan C. Samper, Jonathan F. Pycock, BVetMed, Angus O. McKinnon. Current Therapy in Equine Reproduction. Elsevier, Hardbound. -2006. -512p.
7. LeBlanc M., Hurtgen J., Lyle S. A Modified Zinc Sulfate Turbidity Test for The Detection of Immune Status in Newlyborn Foals. -1990. -Vol. 10. -N 1, -P. 36-39.
8. Patrick M. McCue. Colostrum Bank. Colorado State University. -2011. -P. 1 - 2.

## ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕЛИРАНА ДЛЯ МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ

Иванова-Сальникова В.Г. - аспирант  
Харьковской государственной зооветеринарной академии



### РЕФЕРАТ

Цель исследования – изучение влияния иммуностимулятора селиран на состав иммунокомпетентных клеток, сохранность и интенсивность роста поросят-сосунов в ранний постнатальный период их развития в условиях обеспечения нормативного санитарного и гигиенического режима в боксах. Методы исследований: гигиенический (температура, влажность, аммиак, диоксид углерода); клинический (клиническое состояние животных); гематологический (морфологические показатели крови); иммунологический (показатели неспецифического иммунитета); зоотехнический (продуктивность, сохранность); статистический. Селиран представляет собой комплекс следующих биологически активных компонентов: селенита натрия, селенита калия, рибофлавина, интерферона сухого, L-аргинина, цинка сульфата, меди сульфата, раствора 0,25% бета каротина в растительном масле. Оптимальная профилактическая доза препарата составляет 1,5 мл/кг живой массы тела поросят двукратно: на 3-5 день после рождения и на 3-7 день перед отъемом от свиноматки. Селиран способствовал активизации эритроцитопоза: содержание гемоглобина повышалось на 12,5 %, количество эритроцитов – на 19,6 %. В сыворотке крови установлено повышение общего белка – на 6,4 %, глобулинов – на 8,5 %, активности аланинаминотрансферазы – на 28,2 %, аспаргатаминотрансферазы – на 20,3 %. Применение селирана обусловило увеличение количества Т-клеток – на 8,5-14,5 %, В-лимфоцитов – в 1,1 раз и уменьшение содержания 0-клеток – на 10,9 %. Установлено повышение интенсивности роста свиней, а их сохранность составила не ниже 95 %.

**Ключевые слова:** поросята-сосуны, санитария, гигиена, иммуностимулятор селиран, бактерицидная активность, лизоцимная активность сыворотки крови, резистентность.

### ВВЕДЕНИЕ

В современном свиноводстве одна из первоочередных задач – получение здорового молодняка с высокой энергией роста и стойкостью организма к действию факторов внешней среды [2, 3]. При этом важно обеспечить в помещениях оптимальный санитарно-гигиенический режим интенсивного роста поросят и повышение естественной резистентности их организма. В решении этих задач значительная роль отводится использованию биологически активных веществ, в частности иммуностимулятора «Селиран» и изучению его влияния на повышение уровня реализации биоресурсного продуктивного по-

тенциала свиней.

Цель работы – изучить влияние иммуностимулятора селиран на состав иммунокомпетентных клеток, сохранность и интенсивность роста поросят-сосунов в ранний постнатальный период развития.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В научно-производственных исследованиях использовали поросят-аналогов крупной белой породы. Было сформировано две группы молодняка свиней: контрольная и опытная по 10 голов в каждой. Селиран инъецировали поросятам-сосунам два раза – на 2-5 день после рождения и за три-пять дней – до отъема от свиноматок в дозе 1,5 мл/гол (согласно

ТУ У 24.2-05510830-001:2012, заявка на изобретение U201203798). Селиран представляет собой комплекс следующих биологически активных компонентов: селенита натрия, селенита калия, рибофлавина, интерферона суммарного (сухого), L-аргинина, цинка сульфата, меди сульфата, раствора 0,25 % бета-каротина в растительном масле

Для исследования у животных из подопытных групп из сосудов уха брали кровь на 14, 30, 60 день опыта. Из производственных показателей учитывали прирост массы тела, сохранность, отход поросят.

В период опыта в зоне нахождения поросят исследовали микроклимат свинарника (температура, относительная влажность, концентрация  $\text{NH}_3$ , общая бактериальная загрязненность) по общепринятым в зооигиене методикам.

Уровень Т- и В-лимфоцитов в крови определяли по методу Jondal et.al. [6], лизоцимную активность (ЛАСК) и бактерицидную активность (БАСК), ФАН (фагоцитарная активность нейтрофилов) [5], ЦИК (циркулирующие иммунные комплексы) [2, 3].

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Влияние селирана на поросят мы оценивали на фоне гигиенических условий содержания. Так, параметры по температуре воздуха были в пределах  $20,10 \pm 0,3$  °С (зимой) и  $27,4 \pm 0,5$  °С (летом) соответственно, относительная влажность  $75,4 \pm 3,1$  % и  $62,5 \pm 2,1$  %. Концентрация аммиака не превышала  $18,3 \pm 0,1$  –  $20,0 \pm 0,2$  мг/м<sup>3</sup>, содержание углекислоты –  $1,5 \pm 0,01$  –  $2,1 \pm 0,01$  л/м<sup>3</sup>. Микробная контаминация воздуха колебалась на уровне  $120,4 \pm 5,2$  –  $157,0 \pm 4,2$  тыс. КОЕ/м<sup>3</sup>. В целом санитарно-гигиенический режим в секции помещения соответствовал требованиям, предусмотренных ведомственными нормами технологического проектирования (ВНТП) для свиноводческих предприятий.

Влияние селирана на организм поросят мы оценивали на 14-, 30- и 60 день рождения. Установлено, что животные, которым применяли селиран в дозе 1,5 мг/гол., количество лимфоцитов не превышает показателей контрольной группы, аналогичная картина наблюдается и по абсолютному содержанию Т-лимфоцитов (табл. 1).

Учитывая важность клеточных и гуморальных показателей, как критериев оценки естественной резистентности организма, исследовали фагоцитарную активность нейтрофилов, лизоцимную активность сыворотки крови, бактерицидную активность сыворотки крови на фоне благоприятного микроклимата.

Анализ показал, что применение селирана способствовало повышению на 14 день исследований БАСК – до  $30,10 \pm 0,97$  %, на 30 – до  $34,86 \pm 0,92$  %, 60 – до  $40,24 \pm 1,40$ %. ЛАСК возросла почти в 2 раза по сравнению с первоначальными данными, а также – контрольных, а именно:  $21,16 \pm 0,2$  %, в опытных поросят против  $16,32 \pm 0,10$  % - в контроле.

Об эффективности применения препарата, на изменение клеточной защиты организма животных, мы судили по фагоцитарной активности нейтрофилов. Так, по завершению исследований этот показатель в опытной группе был выше на 7,27 % до введения и на 6,27 % по сравнению с контролем ( $p \leq 0,05$ ), что согласуется с данными других авторов [1].

Установлено (на 14-, 30-, 60 день исследований) стабильное, равномерное повышение (на 12,3-26,8-45,2 %) ЦИК в сыворотке крови поросят опытной группы ( $p \leq 0,01$ ). Это положительно влияло на регуляцию обменных процессов, естественную резистентность, рост и сохранность поросят. Среднесуточные приросты массы тела у животных опытной группы были выше на 14,7-18,1 %, а сохранность – на 8,2-8,4 % по сравнению с контролем.

Применение селирана способствовало

Таблица 1

## Влияние селирана на показатели естественной резистентности поросят

Показатели	До введения	Сроки исследований, дн.		
		14	30	60
Т-лимфоциты, %	25,1 ± 0,3	33,2±0,5*	37,4±0,8*	40,2±1,0**
	25,2±0,4	25,2±0,5	33,1±0,5	34,3±0,9
% к контролю	100	109,6	112,9	117,3
В-лимфоциты, %	16,5±0,5	17,9±1,2	18,6±0,2*	22,3±0,9
	16,5±0,5	17,5±0,9	17,4±0,6	20,2±1,1
% к контролю	100	102,6	107,2	110,7
ФАН, %	19,2±0,4	23,6±0,3	24,8±0,4	27,8±0,9
	20,1±0,2	21,0±0,3	21,6 ± 0,4	23,5±1,1
% к контролю	100	112,3	114,8	118,3
ЦИК, ед.	31,8±0,3	38,3±0,2	42,5±0,3**	46,5±0,4 **
	31,8±0,3	34,1±0,3	33,5±0,3	38,9±0,3
% к контролю	100	112,3	126,8	119,5
ЛАСК, %	16,3±0,1	17,4±0,2	18,2±0,1	21,2±0,2
	16,6±0,1	15,7±0,1	16,5±0,2	17,8±0,2
± разница, %	-1,67	+1,67	+1,66	+3,41
БАСК, %	27,0±0,3	30,1±0,9	34,9±0,9	40,2±1,4
	27,0±0,4	27,2±1,0	29,4±1,1	32,8±1,2
± разница, %	100	+29	+60	+75

Примечание: в числителе – показатели опытной группы, знаменателе – контрольной;

\*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ .

увеличению содержания Т-клеток на 14-, 30-, 60 день выращивания на 9,6 % ( $p \leq 0,05$ ), 12,9 % и 17,3 % соответственно ( $p \leq 0,01$ ). Активизация процесса дифференциации клеток В-системы проходила менее выражено по сравнению с Т-лимфоцитами, а уровень этих показателей не превышал значений 17,95±1,20–22,31±0,86 % ( $p > 0,5$ ).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований являются основой обоснования и практического использования иммуностимулятора селиран на фоне предельно-допустимого санитарно-гигиенического режима. Это позволяет активизировать гуморальные и клеточные показатели естественной резистентности, интенсивность роста поросят, повышать их сохранность. Двухкратное введение препарата способствовало повышению ФАН, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, в пре-

делах физиологической нормы, а также активизации клеток Т- и β-лимфоцитов и циркулирующих иммунных комплексов.

### Hygienic assessment of use of Scleran for young growth of pigs.

V.G. Ivanova-Salnikova.

### ABSTRACTS

The investigations are devoted to the use of the preparation Seliran and its influence on the natural resistance of the suckling piglets and to the substantiation of the necessity of its use in the conditions of intensive technologies. The aim of the investigation was to study the influence of the immunostimulator Seliran on the composition of immunocompetent cells, durability and intensity of the growth of suckling pigs at the beginning of postnatal period of their development in the conditions of standard sanitary and hygienic regime in the boxes. Methods of investigations: hygienic (temperature, moisture, ammonia, calcium dioxide); clinical (clinical

condition of animals), hematological (morphological indices of blood); immunological (indices of non-specific immunity); zootechnical (productivity, durability); statistical ones. Seliran is the combination of the following biologically active components: sodium selenite, potassium selenite, riboflavin, interferon dry, L-arginin, zink sulphate, copper sulphate, 0,25% solution of beta carotene in oil. The optimal prophylactic dose of the preparation is 1,5 ml/kg of live weight of piglets, twice: on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> day after their birth and on the 3<sup>rd</sup>-7<sup>th</sup> day before the weaning from swine. Seliran promoted the activation of erythropoiesis: the content of hemoglobin increased by 12,5 % the number of erythrocytes – by 19,6 %. It was revealed that blood serum had higher content of protein, globulines, active alaninaminotraspherase, aspartataminotraspherase. The use of Seliran conditioned the increase in the number of T-cells by 8,5–14,5 %,  $\beta$  – lymphocytes by 1,1 times and the decrease in the number of 0-cells by 10,9 %. The increase in the intensity of piglets' growth was stated, the durability of piglets was not less than 95 %.

**Key words:** piglets-sucking, sanitation, hygiene, immunostimulant of seliran bactericidal activity, lisocim activity of serum of blood, resistance.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Коваленко В. Л. Доклінічні дослідження та застосування імуностимулятора селіран при вирощуванні поросят: Методичні рекомендації / В. Л. Коваленко, В. П. Лясота, Ю.П. Балим та ін. // – Біла Церква: БНАУ. -2013. – 35с.
2. Кондрахин И. П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: справочное издание / И. П. Кондрахин, Н. В. Курилов, А. Г. Малахов и др. – М. : Агропромиздат. -1985. – 287с.
3. Скопичев В. Г. Физиолого-биохимические основы резистентности животных: учебное пособие / В. Г. Скопичев, Н. Н. Максимюк. – СПб. : Лань. -

2009. – 352с.

4. Черный Н. В. Практикум по гигиене животных / Н. В. Черный, А. Ф. Прокудин, А. С. Вовк. – Харьков. -1994. – 104с.
5. Чумаченко В. Е. Определение естественной резистентности и обмена веществ в с.-х. животных / В. Е. Чумаченко, А. М. Высоцкий, Н. А. Сердюк, В. В. Чумаченко. – К. : Урожай. -1990. – 136с.
6. Mendes N. F. Technical aspects of the rosette test used detect human complement receptor (B) and sheep erythrocyte binding (T) Lymphocytes / N. F. Mendes, M. E. A. Tolnai, B. P. A. Silveira et. al. // J. Immunol. - 1973. – Vol. 3. – P. 860-867.



## МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ ПОРОСЯТ, ПЕРЕНЕСШИХ ПРИ РОЖДЕНИИ ОСТРУЮ ГИПОКСИЮ

Медведев И.Н. - д.б.н., профессор, зав. кафедрой адаптивной физической культуры и  
медико-биологических наук,

Парахневич А.В. - к.б.н., соиск. кафедры адаптивной физической культуры и медико-  
биологических наук

Курский институт социального образования (филиал) РГСУ



### РЕФЕРАТ

Цель работы: выяснить особенности микрореологических характеристик эритроцитов у поросят молочивного питания, перенесших при рождении острую гипоксию. Под наблюдением находилось 28 новорожденных поросят после острой гипоксии. Контроль представлен 36 здоровыми новорожденными поросятами. В плазме крови новорожденных поросят после острой гипоксии отмечено нараста-

ние интенсивности перекисного окисления липидов на фоне повышения в эритроцитах интенсивности перекисного окисления липидов при ослаблении их антиоксидантной защищенности и выраженном ухудшении микрореологических свойств эритроцитов (повышение количества измененных их форм и способности красных кровяных телец к агрегации).

**Ключевые слова:** новорожденные поросята, острая гипоксия, эритроциты, агрегация, реологические свойства эритроцитов.

### ВВЕДЕНИЕ

Движение крови по сосудам микроциркуляторного русла во многом является лимитирующим процессом, влияющим на функциональную активность организма продуктивных животных, в т.ч. у поросят. Одними из ведущих компонентов микроциркуляции являются эритроциты, во многом определяющие реологию крови поросят через состояние их агрегационной способности и поверхностной геометрии [7].

Выраженность агрегации эритроцитов и цитоархитектонических изменений у поросят могут усиливаться при различных состояниях организма, связанных с развитием у них отклонений от физиологического оптимума, ухудшая микроциркуляторные свойства эритроцитов [4]. Наиболее уязвима у них в этом плане фа-

за новорожденности. Одним из нередко встречающихся состояний у поросят этого возраста является возникающая во время родов острая гипоксия, способная приводить к серьезным дисфункциям и нередко к гибели животного.

Несмотря на серьезные успехи практической биологии до сих пор остается не изучено состояния цитоархитектоники и агрегации эритроцитов, во многом определяющие микроциркуляцию в тканях новорожденных поросят, перенесших при рождении острую гипоксию.

В этой связи определена цель настоящей работы: выяснить особенности микрореологических характеристик эритроцитов у поросят молочивного питания, перенесших при рождении острую гипоксию.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 28 новорожденных поросят, перенесших при рождении острую гипоксию. Группу контроля составили 36 здоровых новорожденных поросят.

У всех наблюдаемых животных проводился морфо-биологический анализ крови, включающий определение количества эритроцитов, гемоглобина, сидероцитов, ретикулоцитов и концентрации сывороточного железа [3], показавшие нормальные результаты.

Состояние перекисного окисления липидов в жидкой части крови оценивали по количеству в ней тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов с помощью набора „Агат-Мед” и по уровню ацилгидроперекисей (АГП) [2]. У всех животных проведена оценка антиоксидантной активности (АОА) плазмы крови [1].

Оценка активности биохимических процессов в эритроцитах осуществлялась после их отмывки и ресуспендирования. Выраженность процессов ПОЛ, протекающих внутри эритроцитов, устанавливали по уровню МДА в реакции восстановления тиобарбитуровой кислоты [6] и по содержанию в них АГП [2]. В эритроцитах с помощью энзиматического колориметрического метода с набором „Витал Диагностикум” количественно определялось содержание холестерина, а по содержанию их мембранах фосфора оценивалось количество в них общих фосфолипидов [5] с последующим расчетом соотношения ОХС/ОФЛ. Оценивалась активность внутриэритроцитарных антиоксидантных ферментов каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) [8].

Производилась оценка цитоархитектоники эритроцитов с применением световой фазово-контрастной микроскопии с учетом следующей классификации, подразделяющей их на десять классов (дискоциты, дискоциты с одним вырос-

том, дискоциты с гребнем, дискоциты с множественными выростами, эритроциты в виде тутовой ягоды, куполообразные эритроциты (стоматоциты), сфероциты с гладкой поверхностью, сфероциты с шипиками на поверхности, эритроциты в виде «спущенного мяча», дегенеративные формы эритроцитов). Первые пять классов эритроцитов (с признаками эхиноцитарной трансформации) считались обратимо деформированными в виду их способности спонтанно восстанавливать форму. Остальные классы эритроцитов относили к группе необратимо деформированных или предгемолитических форм [4]. На основе полученных данных о количестве неизмененных, обратимо и необратимо измененных формах эритроцитов рассчитывали ряд индексов [7]:

Индекс трансформации (ИТ):

$ИТ = (ОД + НД) / Д$ , где Д – процент дискоцитов; ОД – процент обратимо деформированных эритроцитов; НД – процент необратимо деформированных эритроцитов.

Индекс обратимой трансформации (ИОТ) рассчитывали:  $ИОТ = ОД / Д$ ,

Индекс необратимой трансформации (ИНОТ):  $ИНОТ = НД / Д$ ,

Индекс обратимости (ИО):  $ИО = ОД / НД$

Агрегационную активность эритроцитов регистрировали с помощью светового микроскопа путем подсчета в камере Горяева количества агрегатов эритроцитов, агрегированных и неагрегированных эритроцитов во взвеси отмывших эритроцитов в плазме крови с вычислением среднего размера агрегата (СРА):  $СРА = СЭА / КА$ , где СЭА – сумма всех эритроцитов в агрегате; КА – количество агрегатов.

Показатель агрегации (ПА) рассчитывали:  $ПА = (СРА \times КА + КСЭ) / (КА + КСЭ)$ , где КСЭ – количество свободных эритроцитов.

Процент неагрегированных эритроци-

тов (ПНА) определяли:  $PNA = (КСЭ \times 100) / (СРА \times КА + КСЭ)$  [7].

Статистическая обработка полученных научных результатов проведена с помощью критерия (t) Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

У всех обследуемых животных выявлено достоверное усиление ПОЛ в плазме. Уровень ТБК-активных продуктов в ней у поросят, перенесших острую гипоксию, был в 1,58 раз выше, чем в группе контроля ( $4,86 \pm 0,06$  мкмоль/л и  $3,06 \pm 0,12$  мкмоль/л, соответственно). Содержание АГП в плазме превышало уровень контроля в 2,23 раза ( $2,99 \pm 0,09$  Д<sub>233</sub>/мл и  $1,32 \pm 0,11$  Д<sub>233</sub>/мл, соответственно). При этом, у поросят отмечено ослабление антиоксидантной защиты их организма – антиокислительный потенциал их плазмы снижался до  $27,9 \pm 0,08\%$  (у здоровых животных -  $37,3 \pm 0,13\%$ ).

Выяснено, что в составе мембран

эритроцитов новорожденных поросят, перенесших острую гипоксию, содержание холестерина и ОФЛ соответствовало уровню контроля, обуславливая нормальное в них соотношение ХС/ОФЛ –  $0,88 \pm 0,006$ , в контроле –  $0,89 \pm 0,004$ .

Уровень первичных продуктов ПОЛ - АГП в эритроцитах наблюдаемых животных превышал контроль на 63,3% ( $4,72 \pm 0,12$  Д<sub>233</sub>/10<sup>12</sup>эр. и  $2,92 \pm 0,05$  Д<sub>233</sub>/10<sup>12</sup>эр., соответственно). Уровень МДА в эритроцитах оказался увеличен на 58,8% ( $1,54 \pm 0,09$  нмоль/10<sup>12</sup> эр. и  $0,99 \pm 0,06$  нмоль/10<sup>12</sup> эр., соответственно).

Выявленное нарастание процессов ПОЛ в эритроцитах наблюдаемых поросят было обусловлено снижением их антиоксидантной защиты и, в первую очередь, каталазы ( $8240,5 \pm 19,9$  МЕ/10<sup>12</sup>эр.) и супероксиддисмутазы ( $1493,1 \pm 9,26$  МЕ/10<sup>12</sup> эр.), уровни которых в красных кровяных тельцах оказались снижены в

Таблица 1

Цитоархитектоника эритроцитов у новорожденных поросят, перенесших при рождении острую гипоксию

Параметры	Контроль, n=36, M±m	Поросята, перенесшие при рождении острую гипоксию, n=28, M±m
Дискоциты, %	$85,3 \pm 0,2$ p<0,01	$72,8 \pm 0,1$
Обратимо изм. эритроциты, %	$9,3 \pm 0,1$ p<0,01	$14,6 \pm 0,2$
Необратимо изм. эритроциты, %	$5,3 \pm 0,1$ p<0,01	$12,6 \pm 0,1$
Индекс трансформации	$0,2 \pm 0,0$ p<0,01	$0,4 \pm 0,0$
Индекс обратимой трансформации	$0,1 \pm 0,0$ p<0,01	$0,2 \pm 0,0$
Индекс необратимой трансформации	$0,1 \pm 0,0$ p<0,01	$0,2 \pm 0,0$
Индекс обратимости	$1,8 \pm 0,0$ p<0,01	$1,2 \pm 0,0$

**Условные обозначения:** p – достоверность динамики показателей.  
В последующей таблице обозначения сходные.

Таблица 2

Спонтанная агрегация эритроцитов у новорожденных поросят, перенесших при рождении острую гипоксию

Параметры	Контроль, n=36, M±m	Поросята, перенесшие при рождении острую гипоксию, n=28, M±m
Сумма всех эритроцитов в агрегате	32,3±0,1 p<0,01	48,8±0,2
Количество агрегатов	7,2±0,0 p<0,01	12,6±0,1
Количество свободных эритроцитов	282,3±0,2 p<0,05	232,6±0,4
Показатель агрегации	1,1±0,1 p<0,05	1,2±0,1
Процент не агрегированных эритроцитов	93,6±0,2 p<0,05	82,6±0,2
Средний размер агрегата, клеток	4,5±0,1 p<0,01	3,9±0,1

1,33 раза и 1,15 раза по сравнению с контролем (10968,0±16,6 ME/10<sup>12</sup> эр. и 1718,0±5,72 ME/10<sup>12</sup> эр., соответственно).

У новорожденных поросят, перенесших острую гипоксию, найдено выраженное снижение в крови уровня эритроцитов дискоидной формы (табл.1), что сочеталось с достоверным увеличением суммарного содержания в их крови обратимо и необратимо измененных форм эритроцитов на 58,7% и 2,7 раза, соответственно. У наблюдаемых животных отмечено повышение ИТ в 2,3 раза (0,37±0,009) при значимом увеличении ИОТ (0,20±0,003), ИНОТ в 3,4 раза и снижении ИО на 51,7%.

У животных, перенесших при рождении острую гипоксию, выявлено усиление спонтанной агрегации эритроцитов (табл.2) с выраженным повышением суммарного вовлечения эритроцитов в агрегаты (на 50,1%) и количества этих агрегатов в кровотоке (на 75,0%), сопровождаясь понижением на 20,9% содержания в крови свободно перемещающихся эритроцитов. У поросят, испытавших при рождении острую гипоксию, выявлено досто-

верное уменьшение СРА, достигающего уровня 3,9±0,05 клеток. Кроме того, у этих поросят найдено достоверное повышение ПА до 1,15±0,12 при понижении на 8,8% ПНА.

Таким образом, для новорожденных поросят, перенесших острую гипоксию, свойственно значимое ухудшение цитоархитектоники и усиление агрегации эритроцитов.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Возникающая у поросят при рождении острая гипоксия до сих пор является нередко встречающимся состоянием, вызывающим существенный экономический ущерб вследствие сокращения поголовья и ослабления стада.

В проведенном исследовании у новорожденных поросят, перенесших острую гипоксию, выявлено ослабление антиоксидантной защищенности плазмы крови, вызывающее нарастание уровня в ней АГП и ТБК-активных продуктов, негативно влияя на процессы метаболизма. Высокая интенсивность ПОЛ плазмы вызывает альтерацию наружных мембран эритроцитов, негативно влияя на их

функции, отрицательно сказываясь на их поверхностной геометрии и способности к спонтанной агрегации.

У поросят, перенесших при рождении острую гипоксию, в фазе новорожденности отмечается депрессия ферментов антиокисления, сопровождающаяся усилением в них интенсивности ПОЛ не смотря на отмечающееся оптимальное состояние липидного баланса в мембранах эритроцитов.

Нарушения в антиоксидантном гомеостазе эритроцитов, видимо, способствует нередко необратимым нарушениям структурно-функционального статуса определенной части их популяции. Это приводит к тому, что отдельные эритроциты начинают утрачивать свою двояковыпуклую форму, что отрицательно сказывается на их способности перемещаться по мелким сосудам. Данная трансформация у этих поросят реализуется с явлениями эхиноцитоза, когда поверхность эритроцита покрывается шипами конусовидной формы, и путем стоматоцитоза, когда эритроцит принимает вид односторонне выгнутого диска. После этого возможно наступление этапов сфероэхиноцитоза, сферостоматоцитоза, и как конечная форма – сфероцит – предшествует разрушению красного кровяного тельца.

Усиление агрегации эритроцитов у перенесших острую гипоксию новорожденных поросят в значительной мере обеспечивается изменением заряда эритроцитов, вследствие деградации несущих отрицательный заряд протеинов на их поверхности в условиях активации ПОЛ. Нарастание генерации активных форм кислорода обуславливает у поросят оксидативные повреждения белков мембраны, имеющих электроотрицательный заряд, сопровождаясь перекисным окислением глобулярных белков плазмы, выполняющих роль «мостиков» между эритроцитами, увеличивая силу сцепления клеток в агрегатах. При ослаблении в эритроцитах

антиоксидантных ферментов нарастает их гиперагрегабельность, сочетаясь с генерацией феррилгемоглобина вследствие реакции нейтрализации пероксида водорода гемоглобином, что сопровождается изменением формы эритроцитов и порой их гемолизом. При этом, после перенесенной гипоксии продукты ПОЛ способствуют выраженному повышению порога дезагрегации эритроцитов, увеличивая силы сцепления эритроцитов в агрегатах и скорость протекания агрегации в результате оксидативных изменений со стороны липидного бислоя мембраны.

Выявленное ухудшение состояния цитоархитектоники и усиление агрегационной способности эритроцитов у новорожденных поросят, перенесших при рождении острую гипоксию, неизбежно ведет к нарушению микроциркуляции во всех внутренних органах. Возникающее при этом усиление агрегации эритроцитов затрудняет кровоток, способствуя окклюзии части мелких сосудов вследствие того, что повышенная способность эритроцитов к спонтанной агрегации приводит к формированию плотных, не разрушающихся комочков, выступающих в роли эмболов. Найденная гиперагрегация эритроцитов неизбежно нарушает нормальную структуру кровотока в микрососудах поросят после острой гипоксии, приводит к повышению вязкости крови, микроциркуляторному блоку, усугубляя тканевую гипоксию, являясь важным фактором, вызывающим изменения нормальных микрореологических свойств крови в целом.

В жидкой части крови и эритроцитах новорожденных поросят, перенесших при рождении острую гипоксию, отмечается высокая интенсивность ПОЛ на фоне ослабления их антиоксидантной защищенности и нормальном соотношения ХС/ОФЛ в эритроцитах.

Для новорожденных поросят, перенесших острую гипоксию, характерно повы-

шение количества измененных форм эритроцитов при усилении их спонтанной агрегации.

**Microrheology properties of erythrocytes in newborn piglets with acute at birth hypoxia.**

I.N. Medvedev, A.V. Parahnevich.

**ABSTRACTS**

Job purpose: to ascertain particularly characteristic gilts microrheology characteristics colostric nutrition, trauma at birth from hypoxia. There were 28 births supervised after acute hypoxia piglets. Control of submitted 36 healthy newborn piglet. Newborn piglets in blood plasma after acute hypoxia noted increasing intensity of lipid peroxidation on the background of increasing intensity of red blood lipid peroxidation in weakening their antioxidant protection and reflected deteriorating microrheology erythrocyte (increasing the number of changed their form and ability of red blood cells to the aggregation).

**Key words:** newborn piglets, acute hypoxia, erythrocytes, aggregation, the flow properties of erythrocytes.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск, изд-во Челябинского государственного педагогического университета. -2000.-167с.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. -1983. - №3. -С. 33-36.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Минск, Беларусь. -2000. -381с.
4. Козинец Г.И., Симоварт Ю.А. Поверхностная цитоархитектоника клеток периферической крови в норме и при заболеваниях системы клеток. Таллин. -1984. - 116с.
5. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии.- Минск: Изво Беларусь. -1982. - 367с.
6. Кубатиев А.А., Андреев А.А. Перекиси липидов и тромбоз // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. -1979. -№5. -С. 414-417.
7. Медведев И.Н., Савченко А.П., Завалишина С.Ю. и др. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях. // Российский кардиологический журнал.-2009. -№5. -С. 42-45.
8. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело. - 1991.- №10. - С.9-13.

## УЛЬТРАСТРУКТУРА ПАРЕНХИМЫ НЕЛАКТИРУЮЩЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КОЗ ЗААНЕНСКОЙ ПОРОДЫ

Щипакин М.В. - к.в.н., доцент, зав. каф. анатомии животных  
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



### РЕФЕРАТ

Проведены ультраструктурные исследования нелактующей молочной железы коз зааненской породы. Установлены морфофункциональные структурные компоненты клеток молочной железы у коз зааненской породы в неактивном физиологическом состоянии вымени. Материалом для гистологического и электронно-микроскопического исследований служили небольшие по объему (2-4 мм<sup>3</sup>) образцы молочной железы козы. Кусочки взяты из глубоких областей паренхимы органа. Материал был отобран и зафиксирован непосредственно после убоя животных.

Отобранные образцы зафиксированы в 2,5%-м растворе глутарового альдегида на 0,1М фосфатном буфере в течение 1 часа при комнатной температуре, после чего промыты в 3-х сменах фосфатного буфера. Далее была выполнена пост-фиксация кусочков в 1%-м растворе тетроксиде осмия на том же буфере, при той же температуре в течение 1 часа. После фиксации образцы обезвожены в серии растворов этанола возрастающей концентрации, пропитаны ацетоном и заключены в эпоксидную смолу Эпон. Впервые проведенные нами ультраструктурные исследования показали, что секреторный эпителий молочных альвеол в паренхиме нелактующей молочной железы коз зааненской породы в основном (на 75-80% клеточного состава) образован лактоцитами призматической формы, ядра которых располагаются в 2-3 ряда. Установили, что апикальная поверхность лактоцитов формирует небольшие микроворсинки высотой около 0,5 мкм, они свидетельствуют о реабсорбционной способности эпителия, а также помимо митохондрий в цитоплазме обнаружили цистерны шероховатой эндоплазматической сети, которая на ультратонких срезах представлена мембранными каналцами и цистернами, взаимосвязанными между собой, а также элементы аппарата Гольджи. Электронная микроскопия показала, что аппарат Гольджи состоит из скоплений плоских цистерн количеством в среднем около пяти-семи пакетов, так называемых диктиосом. Морфология клеток, находящихся в паренхиме нелактующей молочной железы коз зааненской породы - говорит о том, что они находятся в состоянии относительного физиологического покоя.

**Ключевые слова:** коза, молочная железа, ультраструктура, ядро, митохондрии, микроскопия.

### ВВЕДЕНИЕ

Молочная железа коз, как сложная органоспецифическая система, вызывает определенный интерес среди отечественных и зарубежных ученых в связи с перспективным развитием молочного козоводства и повышающимся спросом на

козье молоко, которое является естественной пищей для новорожденных козлят и диетическим продуктом питания для людей. Изучение морфофункционального статуса молочной железы козы в периоды лактации, беременности и функционального покоя, в возрастном аспекте, рас-

крытие механизмов ее развития и особенностей строения является актуальной проблемой современной биологии [2].

При ультраструктурном исследовании железистая клетка имеет ряд общих черт с другими клетками животного организма и ряд отличительных признаков. Отличия железистой клетки определяются спецификой ее функции и проявляются в своеобразии их морфологических и гистохимических свойств. В железистых клетках бывают развиты те структуры, которые непосредственно участвуют в поглощении исходных веществ, синтезе и оформлении секрета, его выделении и восстановлении клетки [3,4].

Целью нашего исследования является, установить структурные компоненты паренхимы молочной железы коз зааненской породы в состоянии физиологического покоя.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Материалом для исследования послужила молочная железа от 30 самок коз зааненской породы в возрасте от двух недель до одного года, доставленных на кафедру анатомии животных из козоводческого хозяйства ЗАО «Приневское». Для выполнения поставленной задачи использовали комплекс морфологических методов исследования и подготовки материала: аутопсия, тонкое анатомическое препарирование сосудов, трансмиссионная микроскопия, гистологический и морфометрический методы, фотографирование.

Материалом для гистологического и электронно-микроскопического исследований служили небольшие по объему (2-4 мм<sup>3</sup>) образцы молочной железы козы. Кусочки взяты из глубоких областей паренхимы органа. Материал был отобран и зафиксирован непосредственно после убоя животных. Отобранные образцы зафиксированы в 2,5%-м растворе глутарового альдегида на 0,1М фосфатном буфере в течение 1 часа при комнатной тем-

пературе, после чего промыты в 3-х сменах фосфатного буфера. Далее была выполнена пост-фиксация кусочков в 1%-м растворе тетроксид осмия на том же буфере, при той же температуре в течение 1 часа. После фиксации образцы обезвожены в серии растворов этанола возрастающей концентрации (30%, 50%, 70%, 96%, 100%), пропитаны ацетоном и заключены в эпоксидную смолу Эпон.

Для гистологического исследования на ультрамикротоме Leica UC7 получены полутонкие срезы изучаемых объектов толщиной 1,0 - 1,5 мкм. Срезы окрашены толлуидиновым синим и исследованы в световом микроскопе Leica DM2500, снабженном цифровой камерой Leica DFC290.

Для электронно-микроскопического исследования на ультрамикротоме Leica UC7 получены ультратонкие срезы толщиной 50 - 70 нм. Срезы собирали на медные сетки для электронной микроскопии. Контрастирование ультрасрезов проводили в спиртовом растворе уранилацетата и водном растворе цитрата свинца. Электронно-микроскопическое исследование выполнено на микроскопе JEOL JEM 1011. Электронные микрофотографии были получены с использованием камеры Morada (Digital Imaging Solutions Inc.) [1].

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Впервые проведенные нами ультраструктурные исследования показали, что секреторный эпителий молочных альвеол в паренхиме нелактующей молочной железы коз зааненской породы в основном (на 75-80% клеточного состава) образован лактоцитами призматической формы, ядра которых располагаются в 2-3 ряда. Крупные ядра лактоцитов имеют преимущественно овальную форму шириной 4-5 мкм и высотой 7-8 мкм, иногда с инвагинациями кариолеммы. В ядрах обнаруживается хорошо различимое округлое электронно-плотное ядрышко диамет-



ром около 1,0 мкм. Ультрамикроскопически ядрышко образовано специализированными участками хромосом, называемыми ядрышковыми организаторами. В этих участках находятся гены, кодирующие синтез рибосомальных РНК. При электронной микроскопии в составе ядрышка различают три зоны – слабоокрашенную зону, которая содержит ДНК из области ядрышкового организатора хромосом; гранулярную зону, которая содержит предшественников зрелых субъединиц рибосом; плотную нитчатую зону, которая содержит множество тонких рибонуклеопротеиновых фибрилл, они представляют РНК-транскрипты.

Установлено, что апикальная поверхность лактоцитов формирует небольшие микроворсинки высотой около 0,5 мкм, они свидетельствуют о реабсорбционной способности эпителия. Внутри каждой микроворсинки расположен пучок активных микрофиламентов в количестве 25-30. Одним полюсом филаменты закрепляются к вершине микроворсинки, другим полюсом связываются в пучок спектриноподобным белком и проникает в субапикальную часть цитоплазмы, вплетенную в кортекс. В состав микроворсинок входит сократительный белок минимиозин, который способен выполнять сократительную функцию. Лактоциты соединены друг с другом комплексом межклеточных контактов, включающим в себя плотные контакты, промежуточные контакты и десмосомы. Базолатеральные мембраны соседних лактоцитов формируют многочисленные пальцевидные выпячивания – интердигитации. Базальная поверхность альвеолярного эпителия выстлана непрерывной электронно-плотной базальной мембраной.

В результате проведенного исследования установлено, что цитоплазма лактоцитов имеет достаточно высокую электронную плотность. В целом, цитоплазма выглядит «зернистой» за счёт большого

количества содержащихся в ней рибосом. При ультрамикроскопическом исследовании рибосомы выглядят как осмиофильные черные точки, а их рабочие комплексы (полисомы), как объединенные группы осмиофильных точек. В цитоплазме обнаруживаются округлые или слегка удлинённые митохондрии, которые обладают уникальной способностью использовать кислород в ходе катаболизма: при необходимости в них резко усиливается образование химической энергии, в результате чего возникает клеточное дыхание. Размер и функциональная активность митохондрий меняется в зависимости от внешних воздействий и физиологических процессов молочной железы. Размер их в среднем составляет 1,5-2,5 мкм.

Установлено, что помимо митохондрий в цитоплазме обнаруживаются цистерны шероховатой эндоплазматической сети, которая на ультратонких срезах представлена мембранными каналцами и цистернами, взаимосвязанными между собой, а также элементы аппарата Гольджи. При электронной микроскопии видно, что аппарат Гольджи состоит из скоплений плоских цистерн количеством в среднем около пяти-семи пакетов, так называемых диктиосом. Таких скоплений, как правило, в клетке несколько, цистерны плотно прилегают друг к другу, расстояние между ними колеблется от 18 до 23 нм. Каждая цистерна немного изогнута и имеет выпуклую и вогнутую поверхности. Просвет, расположенный между ними небольшой в центральной части, по периферии цистерны имеются расширения в виде ампул, непостоянного размера. В комплексе Гольджи лактоцитов нелактирующей молочной железы козы наблюдается большое количество мелких пузырьков, расположенных, как правило, по краям органеллы. Между цистернами располагается белковый матрикс. Основными функциями аппарата Гольджи является перемещение веществ в цитоплазму

и внеклеточную среду, а также синтез жиров и углеводов. Он, принимает участие в росте и обновлении плазматической мембраны и в формировании лизосом. В лактоцитах хорошо развиты цитоскелетные элементы, в особенности пучки промежуточных филаментов, ассоциированные с промежуточными контактами.

В апикальной области цитоплазмы выявляется электронно-плотный центр организации микротрубочек, которые представляют собой полые цилиндры, имеющие диаметр от 20-23 нм. Они образованы глобулярными белками – тубулинами, которые объединяются в цепочки и образуют спираль. Микротрубочки формируют центриоли, основу которых образуют девять триплетов их, организованных по окружности и формирующий полый цилиндр. Калибр цилиндра в среднем составляет  $0,13 \pm 0,01$  мкм, длина  $0,45 \pm 0,04$  мкм. Микротрубочки плотно прилегают друг к другу. Они являются наиболее динамичным элементом цитоскелета. В состав центриоли также входят поперечные белковые мостики, которые связывают микротрубочки. В целом, цитоплазма лактоцитов нелактирующей молочной железы имеет хорошо развитый аппарат белкового синтеза, но находится он в состоянии относительного функционального покоя.

Помимо секреторирующих клеток – лактоцитов, в эпителии альвеол нелактирующей молочной железы козы присутствуют – недифференцированные камбиальные и миоэпителиальные клетки. Оба указанных типа клеток не выходят на апикальную поверхность эпителиального слоя, располагаясь в базальной области эпителия.

Недифференцированные камбиальные клетки – это мелкие округлые клетки диаметром 5-8 мкм, разбросанные среди секреторных лактоцитов в толще эпителия альвеол. Цитоплазма их бедна органоидами, в ней обнаруживаются отдельные

цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулума и немногочисленные митохондрии.

Миоэпителиоциты относятся, по своему происхождению относятся к эпителиальным клеткам и, развиваясь дивергентно, превращаются в контракильные элементы. Они располагаются непосредственно на базальной мембране. Это уплощенные отростчатые клетки, вытянутые ядра которых ориентированы параллельно плоскости базальной мембраны. Миоэпителиальные клетки формируют многочисленные отростки, в своей совокупности, охватывающие всю альвеолу. В процессе лактации их функцией является сокращение актин-миозиновых фибрилл и выталкивание секрета из альвеолы в систему молочных протоков. Однако в нелактирующей молочной железе миоэпителиальные клетки, как и лактоциты, находятся в состоянии функционального покоя.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, секреторный эпителий молочных альвеол в паренхиме нелактирующей молочной железы коз зааненской породы в основном (на 75-80% клеточного состава) образован лактоцитами, их апикальная поверхность сформирована небольшими микроворсинками высотой около 0,5 мкм, которые свидетельствуют о реабсорбционной способности эпителия. Помимо секреторирующих клеток, в эпителии альвеол нелактирующей молочной железы присутствуют – недифференцированные камбиальные клетки и миоэпителиоциты. Морфология клеток, находящихся в паренхиме нелактирующей молочной железы коз зааненской породы - говорит о том, что они находятся в состоянии относительного физиологического покоя.

**Parenchima ultrastructure no lactated mammary gland of goats of Zaanensky breed.**

**M.V. Shchipakin.**

### ABSTRACTS

Ultra structural researches of a no lactated mammary gland of goats of zaanensky breed are conducted. Morfofunktionalny structural components of cells of a mammary gland at goats of zaanensky breed in an inactive physiological condition of an udder are established. As material for histology and electronic and microscopic researches samples of a mammary gland of a goat served small on volume (2-4 mm<sup>3</sup>). Slices are taken from deep areas of a parenchyma of body. The material was selected and recorded directly after slaughter of animals. The selected samples are recorded in 2,5%-m solution of glyutarovy aldehyde on 0,1M the phosphatic buffer within 1 hour at the room temperature then are washed out in 3 changes of the phosphatic buffer. Further post-fixing of slices in 1%-m solution tetroxid osmium on the same buffer was executed, at the same temperature within 1 hour. After fixing samples are dehydrated in a series of solutions of ethanol of increasing concentration, impregnated with acetone and concluded in epoxy Epon. For the first time the ultra structural researches conducted by us showed that the secretary epithelium of dairy alveolus's in a parenchyma of a no lactated mammary gland of goats of zaanensky breed in the basic (for 75-80% of cellular structure) is educated lactocytos the prismatic form which kernels settle down in 2-3 rows. Established that the apically surface lactocytos forms small microfibrils about 0,5 microns high, they testify to reabsorbtsionny ability of an epithelium, and also besides, mitochondrion's in cytoplasm found tanks of a rough endoplasmic network which on ultrathin cuts is presented by membrane tubules and the tanks interconnected among themselves, and also elements of the device of Golgi. The electronic microscopy showed that Golgi's device consists of congestions of flat tanks quantity on the average about five-seven packages, so-called the dictions. The morphology of the cages which are in a pa-

renchyma of a no lactated mammary gland of goats of zaanensky breed - says that they are in a condition of relative physiological rest.

**Key words:** goat, mammary gland, ultra-structure, kernel, mitochondrions, microscopy.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Кудряшов А.А. Патологоанатомическое вскрытие трупов животных. – Ч.2. – Ветеринарная практика. -2005. 1(28). – С. 33-37.
2. Ремизова Е.В. Микроструктура молочной железы коз в зависимости от физиологического состояния организма / Е.В. Ремизова, Л.П. Соловьёва // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе: Сборник статей 64-й международной научно-практической конференции / Кострома. -2013. – Т.2. – С. 207-210.
3. Снегиревская Б. С., Комиссарчик Я. Ю. Ультраструктура специализированных межклеточных контактов // Цитология. — М. -1980. — Т. 22.-С. 1011-1036.
4. Шубникова Е.А. Секреторная клетка // Е.А. Шубникова / Издательство Московского Университета. -1961. – 100с.

## ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДОГРАММЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ СОБАК И КОШЕК БЕЗ КЛИНИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ПАТОЛОГИИ

Землянский А.А.<sup>1</sup>. - аспирант, каф. хирургии и болезней мелких домашних животных,  
Локес-Крупка Т.П.<sup>2</sup>- аспирант, каф. терапии и клинической диагностики,  
Кузьмина Ю.В.<sup>1</sup>. - аспирант, каф. хирургии и болезней мелких домашних животных  
Луганский НАУ<sup>2</sup>, Полтавская ГАА<sup>1</sup>



### РЕФЕРАТ

Определены показатели липидного обмена клинически здоровых собак и домашних кошек. Содержание общего холестерина в сыворотке крови собак колеблется в пределах 2,99 – 6,86 ммоль/л и в среднем составляет 4,71±0,26 ммоль/л. На долю холестерина ЛПВП приходилось 80,47% от содержания общего холестерина. Содержание холестерина ЛПНП составляло 0,58 ммоль/л, то есть было в 6,5 раз ниже, чем содержание холестерина ЛПВП, и на его долю приходилось 12,31% от содержания общего холестерина. Концентрация холестерина ЛПОНП – липопротеинов, богатых на триглицериды, была 0,30±0,04 ммоль/л, то есть составляла 6,37% от содержания общего холестерина. Уровень триглицеридов в сыворотке крови клинически здоровых собак колебался в пределах 0,21 – 1,32 ммоль/л и составлял в среднем 0,74±0,08 ммоль/л. Липидограмма домашних кошек незначительно отличается от результатов, приведенных другими исследователями. При сравнении липидограммы у собак и кошек установлено что у собак концентрация общего холестерина выше в 1,7 раза, холестерина ЛПВП – в 2 раза, холестерина ЛПНП – не отличалось, в то время как уровень холестерина ЛПОНП выше в 1,2 раза. Анализ литературных источников по изучаемой тематике выявил, что приведенные нами данные имеют незначительные отличия от показателей зарубежных авторов, что делает возможным их использование для дальнейшего изучения патогенеза заболеваний кошек и собак.

**Ключевые слова:** собаки, кошки, сыворотка крови, липидограмма.

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы проблема нарушения обмена липидов у мелких домашних животных вызывает интерес не только узких специалистов в этой области, но и клиницистов, эндокринологов, кардиологов, а также практикующих ветеринарных врачей. Это связано с увеличением количества патологий, особенно у мелких домашних животных, которые связывают с нарушениями липидного обмена, таких как ожирение, панкреатит, гипотиреозидизм, гиперандренокортицизм, сахарный

диабет, холестаза, нефропатии с микроальбуминурией, некоторые эндокринные заболевания, нарушения минерального и углеводного обмена и др. [4,8,10].

Несмотря на активные исследования данной проблемы за рубежом, где на протяжении нескольких лет ведется значительная работа в этом направлении и проводится усовершенствование методов определения нарушений липидного обмена, в Украине только набирают обороты фундаментальные исследования обмена липидов. При этом у мелких домашних

животных, в частности у собак и кошек, данный вид обмена остается все еще недостаточно изученным, в то время как за рубежом этому вопросу уделяется значительное внимание [4,8,10].

Отсутствие исчерпывающих данных о показателях липидного обмена в норме и патологии у собак и кошек обуславливает необходимость проведения всестороннего изучения липидного обмена, что, в свою очередь, является важным моментом в диагностике этих нарушений. Сложность определения достоверных показателей уровня липидов и липопротеинов, очевидно, связана с разной чувствительностью лабораторных методов, разнородностью исследуемых групп животных, их физиологическим состоянием при проведении исследований, разными экологическими условиями.

Целью настоящей работы было определение показателей липидного обмена в сыворотке крови собак и домашних кошек без клинически выраженных признаков какой-либо патологии.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Объектами исследования были 15 собак пород немецкая овчарка и беспородных, самцов и самок, 10 и 5 особей соответственно, в возрасте 3-7 лет, приблизительно одинакового веса без клинических признаков патологии. Была также подобрана группа из 20 домашних кошек, беспородных, возраст 2-6 лет, 10 самцов и 10 самок, приблизительно одинакового веса без клинических признаков патологии.

Все животные были исследованы по следующей схеме: сбор данных анамнеза, клиническое исследование по общепринятой схеме, лабораторное исследование (биохимический анализ). Отбор образцов крови у животных проводили из подкожной вены предплечья. При подборе животных мы исследовали кровь, мочу и сыворотку крови более обширной группы собак и кошек и отобрали в исследуемые группы только тех из них, у которых не

выходили за пределы референтных норм показатели морфологического состава крови, анализ мочи и уровень биохимических анализов (общий белок, протеинограмма, активность АлАТ, АсАТ, щелочная фосфатаза, ГГТ, глюкоза, общий холестерол, мочевины, креатинин).

В сыворотке крови всех животных, кроме выше названных тестов, определяли содержание триглицеридов, а также фракционный состав липопротеинов (очень низкой плотности – ЛПОНП, низкой плотности – ЛПНП, высокой плотности – ЛПВП).

Все исследования выполняли по общепринятым методикам по В. С. Камышникову и по В. И. Левченко с соавторами [1,2].

Расчёты полученных результатов проводили на персональном компьютере при помощи статистической программы STATISTICA 7.0 (StatSoft, USA) с определением среднеарифметического (M), ошибки средней (m), лимитов (Lim) и доверительного интервала (ДИ) для  $p < 0,05$  [3].

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Результаты определения липидов и липопротеинов сыворотки крови исследуемых собак приведены в таблице 1.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что содержание общего холестерина в сыворотке крови собак колеблется в пределах 2,99 – 6,86 ммоль/л и в среднем составляет  $4,71 \pm 0,26$  ммоль/л, существенно не отличаясь от данных, приведенных в других литературных источниках [8,10].

На долю холестерина ЛПВП приходилось 80,47% от содержания общего холестерина, что характерно для собак как для вида животных. В соответствии с вышеупомянутыми источниками литературы, в сыворотке крови собак количественно преобладает именно эта фракция. Содержание холестерина ЛПНП в сыворотке крови животных исследуемой группы составляло 0,58 ммоль/л, то есть было в

Таблица 1

## Липидограмма сыворотки крови собак без клинических признаков патологии (n=15)

Показатель	Общий холестерол, ммоль/л	Холестерол ЛПВП, ммоль/л	Холестерол ЛПНП, ммоль/л	Холестерол ЛПОНП, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л
M±m	4,7±0,3	3,8±0,3	0,6±0,1	0,3±0,0	0,7±0,1
Lim	3,0-6,9	2,1-6,0	0,3-1,1	0,1-0,6	0,2-1,3
ДИ	4,2-5,3	3,3-4,3	0,5-0,7	0,2-0,4	0,6-0,9

Таблица 2

## Липидограмма сыворотки крови домашних кошек без клинических признаков патологии (n=20)

Показатель	Общий холестерол, ммоль/л	Холестерол ЛПВП, ммоль/л	Холестерол ЛПНП, ммоль/л	Холестерол ЛПОНП, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л
M±m	2,8±0,2	1,9±0,1	0,6±0,1	0,3±0,0	0,6±0,1
Lim	1,4-4,6	1,2-3,1	0,1-1,3	0,1-0,4	0,2-1,0
ДИ	2,3-3,3	1,6-2,2	0,3-0,8	0,2-0,3	0,5-0,7

6,5 раз ниже, чем содержание холестерина ЛПВП, и на его долю приходилось 12,31% от содержания общего холестерина. Концентрация холестерина ЛПОНП – липопротеинов, богатых на триглицериды, была 0,30±0,04 ммоль/л, то есть составляла 6,37% от содержания общего холестерина.

Уровень триглицеридов в сыворотке крови клинически здоровых собак колебался в пределах 0,21 – 1,32 ммоль/л и составлял в среднем 0,74±0,08 ммоль/л.

Мы сравнили полученные нами данные с данными I. C. Jeusette [8]. При их анализе выяснилось, что у собак, исследованных нами, содержание холестерина достоверно не отличалось от результатов этой исследовательницы (4,47±0,28 ммоль/л). Но содержание холестерина ЛПОНП у животных в наших исследованиях было в 3 раза выше (по данным I. C. Jeusette – 0,10±0,03 ммоль/л), что, возможно, объясняется разными условиями эксперимента, типом питания, методикой исследования, климатическими и другими факторами.

Содержание холестерина ЛПВП существенно не различается по результатам обоих источников (по данным I. C.

Jeusette – 3,88±0,23 ммоль/л). Это же касается концентрации холестерина ЛПНП и триглицеридов (по данным I. C. Jeusette – 0,49±0,05 и 0,60±0,08 ммоль/л соответственно) [8].

Таким образом, полученный нами состав липидограммы собак совпадает с данными другого автора, что позволило нам использовать полученные данные в качестве контрольных для проведения дальнейших исследований болезней, которые сопровождаются нарушениями обмена липидов и липопротеинов у собак.

Результаты определения липидограммы у 20 клинически здоровых кошек приведены в таблице 2.

При анализе полученных результатов и данных, приведенных в литературе, оказалось, что липидограмма домашних кошек незначительно отличается от результатов, приведенных другими исследователями. Так, у наших животных была больше концентрация триглицеридов. По результатам разных авторов, данный показатель колеблется в диапазоне 0,28-0,36 ммоль/л [6,7]. Содержание холестерина, напротив, ниже, чем у F. Asadii M.K. McClure [5,9] и приближается к данным R.F. Butterwick – 2,32 ммоль/л [6]. Содер-

Содержание липопротеинов разной плотности в сыворотке крови собак и домашних кошек в процентах

Показатели	Собаки	Кошки	Разница
ЛПВП	80,5%	68,6%	+11,9%
ЛПНП	12,3%	21,3%	-9,0%
ЛПОНП	6,4%	9,0%	-2,6%

жание ЛПВП в наших исследованиях оказалось близко по значению к результатам, полученным F. Asadi, M.K. McClure, D.G. Ginzinger (1,46 – 1,9 ммоль/л) [5,7,9]. То же относится и к уровню ЛПНП (0,52 – 0,91 ммоль/л). Уровень ЛПОНП, по нашим данным, максимально приближен к показателям, приведенным в исследовании R.F. Butterwick (0,23 ммоль/л). В остальных источниках концентрация данного липопротеина колеблется в диапазоне значений 0,32 – 0,71 ммоль/л. Таким образом, наши результаты существенно не отличаются от приведенных в литературе, а имеющиеся различия объясняются разными объективными причинами. Поэтому мы считаем возможным использование полученных данных в дальнейших исследованиях в качестве контрольной группы.

При сравнении липидограммы у собак и домашних кошек мы установили между ними следующие различия. У собак была выше, чем у кошек, концентрация общего холестерина в 1,7 раза, холестерина ЛПВП – в 2 раза, холестерина ЛПНП – не отличалась по уровню показателя, в то время как уровень холестерина ЛПОНП был выше в 1,2 раза. Мы также вычислили по средним значениям показателей липидограммы процентное содержание холестерина для каждой из фракций липопротеинов для собак и домашних кошек (таблица 3).

Оказалось что у собак на 11,9% выше доля холестерина ЛПВП в сыворотке крови, чем у кошек, а у последних выше, чем у собак, доля (атерогенных) липопротеинов – холестерина ЛПНП (на 9,0%) и холестерина ЛПОНП (на 2,6%). В гуманной

медицине ЛПВП называют антиатерогенными липопротеинами, поскольку они препятствуют развитию атеросклероза, перенося холестерол из тканей и сосудов в печень (так называемый обратный транспорт холестерола). Существует мнение, что у собак высокий уровень этой фракции липопротеинов способствует тому, что эти животные очень редко болеют атеросклерозом. В отношении кошек данный вопрос остается открытым. Полученные результаты мы планируем использовать в дальнейшей работе при изучении заболеваний, сопровождающихся нарушениями обмена липидов, у собак и домашних кошек.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Липидограмма сыворотки крови собак без клинических признаков какой-либо патологии существенно не отличается по своему составу от результатов, полученных другими исследователями, за исключением более высокого уровня холестерола ЛПОНП. Доля холестерола ЛПВП составляет 80,5% от концентрации общего холестерола, холестерола ЛПНП – 12,3%, холестерола ЛПОНП – 6,4%.

Показатели липидограммы кошек, кроме холестерола ЛПВП, выше, чем у собак. Процентное содержание холестерола ЛПВП составляет 68,6% то есть на 11,9% ниже, чем у собак, в то время как содержание холестерола ЛПНП и холестерола ЛПОНП соответственно больше, чем у собак, на 9,0% и 2,6%.

Полученные результаты будут использованы при изучении патогенеза заболеваний кошек и собак, сопровождаемых нарушением обмена липидов и липопротеинов.

**Indicators lipid profile blood serum dogs and cats without clinical signs of pathology.**

**A.A. Zemlyanskii, T.P. Lokes-Krypka, U.V. Kyzmina.**

**ABSTRACTS**

Indicators of a lipid metabolism of clinically healthy dogs and domestic cats the Content of the total cholesterol in blood serum of dogs is ranges within 2,99 – 6,86 mmol/l and averages 4,71±0,26 mmol/l. The share of HDL cholesterol accounted for 80,47% of the total cholesterol content. The content of LDL cholesterol was 0,58 mmol/l, that is 6,5 times lower, than the content of HDL cholesterol, and its share was 12,31% of the total cholesterol content. Concentration of VLDL cholesterol – the lipoproteins rich in triglycerides, was 0,30±0,04 mmol/l, that is 6,37% of the total cholesterol content. Level of triglycerides in blood serum of clinically healthy dogs fluctuated within 0,21 – 1,32 mmol/l and averaged 0,74±0,08 mmol/l. Lipidograma of domestic cats is slightly different from the results of other researchers. By comparing lipidograma of dogs and cats it is found that dogs has higher concentration of the total cholesterol in 1,7 times, HDL cholesterol – twice, LDL cholesterol – was not different while VLDL level was 1,2 times higher. The analysis of references this top is showed our results by us have insignificant differences from indicators of foreign authors which makes possible to use them for future study of the pathogenesis of cats and dogs diseases.

**Key words:** dogs, cats, blood serum, lipid profile.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Камышников В. С. Справочник по клин.-биох. исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников // – М.: МЕДпресс-информ. – 2004. – 920с.
2. Левченко В. И. Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин // – К. : Аграрна освіта. – 2010. – 437 с.
3. Реброва О. Ю. Статистический анализ

медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTIKA // – М.: Меди Сфера. – 2002. – 312 с.

4. Тимошенко О. П. Показники ліпідограми сироватки крові собак без клінічних ознак патології // Науковий вісник Луганського національного аграрного університету. – 2013. - № 49 – С. 136 - 140.

5. Asadi F. Serum lipid and lipoprotein parameters of Iranian Persian cat (*Felis Catus*) // Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. -2007. -№2. 123–125.

6. Butterwick R.F. Changes in the body composition of cats during weight reduction by controlled dietary energy restriction // Vet. Record. -1996. -№138. –P. 354-357.

7. Ginzinger D.G. Lipoprotein lipase deficiency in a colony of domestic cats. -1997. - 151p.

8. Jeusette I.C. Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs // AJVR. -2005. -Vol 66. -№1. –P. 81 – 86.

9. McClure M.K. Dietary polyunsaturated fatty acids modify plasma lipids and red blood cell membrane composition but do not induce desaturase mediated conversions in the domestic feline // A Thesis by Melena Kathleen McClure Submitted to the Office of Graduate Studies of Texas A&M University in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science (2008), 1-72.

10. Xenoulis P.G, Steiner JM. Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. // *VetJ.* - 2010. -№183. –P. 12-21.



## ОЦЕНКА НАКОПЛЕНИЯ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВАХ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Рыжаков А.В.- д.в.н., профессор, Русецкий С.С. - к.с.-х.н., доцент, Вечеринина А.И. - аспирант. Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина



### РЕФЕРАТ

Проведение комплексной эколого-токсикологической оценки компонентов окружающей природной среды, таких как почва и растительность, для Вологодской области является актуальным. Обобщая данные по содержанию тяжелых металлов в почвах сельхозугодий 26 районов области

по результатам второго цикла сплошного мониторинга за 2011 год можно сделать следующие выводы: максимальная концентрация валовых форм исследуемой группы металлов не превышает величин ПДК (ОДК), а максимальный уровень содержания ТМ не превышал отметку: 0,11 долей ОДК по свинцу, 0,15 долей ОДК по меди, 0,27 долей ОДК по цинку, 0,31 долей ОДК по кадмию, 0,42 долей ОДК по никелю и 0,65 долей ОДК по марганцу, а по ртути – 0,037 долей ПДК. В виду отсутствия ОДК по кобальту и хрому, за ОДК по данным элементам принимается удвоенное региональное фоновое содержание в незагрязненной почве. По кобальту максимальный уровень содержания составил 0,93 доли к региональному фону и по хрому 0,98 доли к данному фону.

Сравнивая результаты регионального фонового содержания ТМ в дерново-подзолистых почвах с нашими исследованиями следует отметить, что содержание ТМ в дерново-подзолистых почвах области значительно ниже региональных значений, кроме кадмия его содержание хотя и выше в 3,2 раза регионального фона, но значительно ниже ОДК. Эколого-токсикологическая оценка растительных проб, отобранных в 20 км пригородной зоне Череповца и Вологды подтверждает, что концентрация тяжелых металлов в них ниже максимально допустимых уровней. Содержание тяжелых металлов в зеленой массе однолетних и многолетних трав находилось в интервале (мг/кг воздушно-сухом состоянии): меди – 2,2-6,5 мг/кг; кадмия – 0,011-0,12 мг/кг; свинца – 0,09-0,68 мг/кг. Максимально допустимый уровень (МДУ 123-4/281) содержания тяжелых металлов в многолетних травах, идущих на корм для с/х животных, допускает: меди – 30,0 мг/кг; кадмия – 0,3 мг/кг; свинца – 5,0 мг/кг корма.

Эколого-токсикологическая оценка почв, проведенная в 26 районах области по валовому содержанию тяжелых металлов, констатирует практическое отсутствие химического загрязнения. В растительной продукции, выращенной на данных землях, не выявлено превышения тяжелых металлов выше максимально допустимых уровней и она отвечает санитарно-гигиеническим требованиям.

**Ключевые слова:** Микроэлементы, тяжёлые металлы, корма.

### ВВЕДЕНИЕ

Почва является одним из главных компонентов природной среды, она яв-

ляется особой формой биосферы. Верхний слой почвы накапливает не только загрязняющие вещества, но и выступает

как природный переносчик химических элементов в сопредельные среды (атмосферу и гидросферу). Это обстоятельство - весьма существенно для сельхозугодий, где почва - средство производства и ее эколого-токсикологическое состояние во многом определяет качество и санитарно-гигиенические показатели получаемой сельскохозяйственной продукции. [1, 2, 3, 4, 5].

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Определение содержания тяжелых металлов в почвах 26 районов Вологодской области проводили с применением атомно-абсорбционной спектрометрии на приборе

«С-115М» с предварительным разложением образцов в Федеральном государственном бюджетном учреждении государственной агрохимической службы «Вологодский». Оценка загрязнения почвы тяжёлыми металлами (валовые формы) проводилась:

- по меди, цинку, свинцу, кадмию, никелю по ориентировочно допустимым концентрациям (ОДК ГН 2.1.7.2511-09);

- по марганцу и ртути по предельно допустимым концентрациям (ПДК ГН 2.1.7.2041-06);

- по хрому и кобальту использовались региональные фоновые значения.

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Среди многочисленных веществ, загрязняющих почву, наиболее значимыми являются тяжелые металлы (ТМ). Металлы сравнительно легко накапливаются в почвах, но трудно и медленно из нее удаляются.

Проведение комплексной эколого-токсикологической оценки компонентов окружающей природной среды, таких как

почва и растительность, для Вологодской области является актуальным.

Обобщая данные по содержанию тяжелых металлов в почвах сельхозугодий 26 районов области по результатам второго цикла сплошного мониторинга за 2011 год можно сделать следующие выводы: максимальная концентрация валовых форм исследуемой группы металлов не превышает величин ПДК (ОДК), а максимальный уровень содержания ТМ не превышал отметку: 0,11 долей ОДК по свинцу, 0,15 долей ОДК по меди, 0,27 долей ОДК по цинку, 0,31 долей ОДК по кадмию, 0,42 долей ОДК по никелю и 0,65 долей ОДК по марганцу, а по ртути – 0,037 долей ПДК.

В виду отсутствия ОДК по кобальту и хрому, за ОДК по данным элементам принимается удвоенное региональное фоновое содержание в незагрязненной почве. По кобальту максимальный уровень содержания составил 0,93 доли к региональному фону и по хрому 0,98 доли к данному фону.

Важное значение имеет сравнение фактического содержания тяжелых металлов в почвах Вологодской области с региональными фоновыми значениями, определяемыми экспериментальным путем. В таблице 1 приведены сравнительные данные по среднему содержанию тяжелых металлов в почвах области с региональным фоновым содержанием для дерново-подзолистых почв.

Сравнивая результаты регионального фонового содержания ТМ в дерново-подзолистых почвах (д-п) с нашими исследованиями следует отметить, что содержание ТМ в д-п почвах области значительно ниже региональных значе-

**Таблица 1**

**Содержание тяжелых металлов в дерново-подзолистых почвах (мг/кг)**

Наименование	Си	Zn	Cd	Pb	Ni	Cr	Hg	Co
Региональный фон	15,0	45,0	0,12	15,0	30,0	15,0	0,10	10,0
Среднее по области	6,2	28,7	0,39	6,4	10,4	9,2	0,022	5,6

ний, кроме кадмия его содержание хотя и выше в 3,2 раза регионального фона, но значительно ниже ОДК.

Региональные фоновые значения также используются при расчете суммарного показателя Zс - оценка опасности загрязнения почв комплексом металлов. Рассчитанная величина суммарного показателя для 26 районов области к региональному фону составила от 0,09 до 2,68 единиц, что по градации оценочной шкалы относится к допустимой категории загрязнения почв.

Эколого-токсикологическая оценка растительных проб, отобранных в 20 км пригородной зоне Череповца и Вологды подтверждает, что концентрация тяжелых металлов в них ниже максимально допустимых уровней. Содержание тяжелых металлов в зеленой массе однолетних и многолетних трав находилось в интервале (мг/кг воздушно-сухом состоянии): меди – 2,2-6,5 мг/кг; кадмия – 0,011-0,12 мг/кг; свинца – 0,09-0,68 мг/кг. Максимально допустимый уровень (МДУ 123-4/281) содержания тяжелых металлов в многолетних травах, идущих на корм для с/х животных, допускает: меди – 30,0 мг/кг; кадмия – 0,3 мг/кг; свинца – 5,0 мг/кг корма. Эколого-токсикологическая оценка почв, проведенная в 26 районах области по валовому содержанию тяжелых металлов, констатирует практическое отсутствие химического загрязнения. В растительной продукции, выращенной на данных землях, не выявлено превышения тяжелых металлов выше максимально допустимых уровней и она отвечает санитарно-гигиеническим требованиям.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

При выяснении биогеохимической обстановки в Вологодской области мы основывались на учении академика А.П. Виноградова о биогеохимических провинциях, рассматривающих систему почва - растение - животный организм - как единое целое.

Как известно, обеспеченность животных йодом, наряду с содержанием последнего в объектах внешней среды, зависит от наличия в этих объектах антагонистов йода, среди которых первостепенное значение принадлежит стронцию, магнию, хрому и другим микроэлементам.

#### **Heavy metals, as the factors limiting the maintenance of iodine in an organism of pigs.**

**A.V. Ryzhakov, S.S. Rusetsky, A.I. Vecherinina.**

#### **ABSTRACTS**

Conduct integrated environmental-toxicological assessment of environmental components, such as soil and vegetation to the Vologda region is relevant. Summarizing data on heavy metals in the soils of the 26 districts of the region of farmland on the second cycle of continuous monitoring for the 2011 year, the following conclusions can be drawn: the maximum concentration of total forms study group metals does not exceed the values of maximum concentration limit (roughly allowable concentration), and the maximum level of HM does not exceed the mark: 0.11 shares of JDC 0.15 share of lead, copper, JDC 0.27 shares of JDC for zinc, 0.31 shares of JDC for cadmium, 0.42 shares of JDC on nickel and 0.65 shares of JDC on manganese and mercury-0.037 MPC shares. In the absence of cobalt and chromium by JDC, the JDC according to items is twice the regional background content in uncontaminated soil. Cobalt the highest level was 0.93 percentage to the regional background of chrome and 0.98 percentage to the background.

Comparing the results of the regional background of HM in Soddy-podzolic soils with our research, it should be noted that the contents of the TM in Soddy-podzolic soils of the oblast is far below the regional values except cadmium content though higher in 3.2 times the regional background, but well below the JDC. Ecological and toxicological assessment of plant samples in 20 km subur-

ban area of Vologda and Cherepovets confirms that the concentration of heavy metals are below the maximum allowable levels. Heavy metal content of green mass of annual and perennial herbs in the range (mg/kg dry air): copper- 6.5 2.2 mg/kg; cadmium- 0.12 0.011 mg/kg; lead- 0.68 0.09 mg/kg. The maximum allowable limit (MRL 123-4/281) of heavy metals in perennial grasses for fodder for animals, admits: copper-30.0 mg/kg; cadmium-0.3 mg/kg; lead-5.0 mg/kg feed.

Ecological and toxicological assessment of soil held in 26 districts of the gross content of heavy metals, notes the lack of chemical pollution. In plant products grown on these lands, no excess heavy metals above the maximum allowable levels and meet sanitation requirements.

**Key word:** trace elements, heavy metals, forage.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Рыжаков А.В., Лазарев А.В. Кормовой травматизм крс в условиях промышленного производства. // Кормопроизводство. – 2008. – №12. – С. 29.
2. Ковальский В.В. Новые направления и задачи биологической химии с.-х. жив. в связи с изучением биогеохимических провинций. М.: Минсельхоз СССР. -1957. – 121 с.
3. Мет. ук. о выполнении работ по определению загрязнения почв.– М.: Госкомприрод. -1990. -№2. -С. 23-33.
4. Якимчук Н.В. Биохимические показатели крови у свиноматок // Ветеринария. – 1974. – №8. – С. 93.
5. Пейве Я.В. Роль микроэлементов в питании растений и животных. – М.: АН СССР. -1955. – 211 с.

УДК: 611.133.33:636.2

## МОРФОЛОГИЯ ОСНОВНЫХ ИСТОЧНИКОВ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА БЫКА ДОМАШНЕГО



Прусаков А.В. - к.в.н., доцент кафедры анатомии животных Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

#### РЕФЕРАТ

В статье описана методика вазорентгенографии с использованием модифицированной смеси Кульчицкого К.И. Данная масса представляет взвесь свинцового сурика в скипидаре со спиртом этиловым ректифицированным и глицерином. Для исследования сосудистого русла головного мозга быка домашнего проводили инъекцию сосудов головы через правую и левую общие сонные артерии. Чтобы предотвратить вытекание массы через коллатеральные сосуды, перед инъекцией тампонировали поперечные каналы шейного отдела позвоночного столба и позвоночный канал гигроскопической ватой. После фиксации материала производили трепанацию черепа и извлекали головной мозг. В дальнейшем с препаратов делали рентгеновские снимки. В результате исследования установили, что основными источниками кровоснабжения головного мозга быка домашнего являются правая и левая роstralные и каудальные соединительные артерии, образованные путем ветвления мозговых сонных артерий, а также основная мозговая артерия. Мозговая сонная артерия у быка домашнего берет начало из чудесной сосудистой сети основания черепа, которая образуется путем слияния ветвей верхнечелюстной артерии с ветвями позвоночной и мышечковой артерий. Роstralные и каудальные соединительные артерии правой и левой сторон го-

ловного мозга, объединяясь друг с другом, образуя вокруг гипофиза артериальное кольцо головного мозга (Виллизиев круг). Вперед от артериального кольца у быка домашнего отходит парная роstralная мозговая артерия. По бокам от роstralной мозговой артерии каждая роstralная соединительная артерия с обеих сторон отдает роstralную артерию мозговой оболочки и среднюю мозговую артерию. Каудальная соединительная артерия дает начало каудальным мозговым артериям, артериям четверохолмия и роstralным артериям мозжечка. Основная мозговая артерия снабжает кровью большую часть ромбовидного мозга и образуется путем слияния ветвей правой и левой затылочных артерий. На своем пути основная мозговая артерия отдает множественные парные артерии продолговатого мозга и артерию мозгового моста. Позади мозгового моста от основной мозговой артерии отходят правая и левая каудальные артерии мозжечка.

**Ключевые слова:** головной мозг, васкуляризация, бык, сосуды, коррозия.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Изучение особенностей кровоснабжения головного мозга вызывает значительный интерес морфологов, физиологов, клиницистов и других специалистов биологического профиля. Это напрямую связано с тем, что головной мозг является важнейшей частью нервной системы, которая координирует работу всех органов и систем организма, обеспечивая его целостность и гармоничное взаимодействие с окружающей средой [1, 2, 3, 4]. Изучение видовых особенностей васкуляризации головного мозга имеет не только большое прикладное, но и важное практическое значение. Эти знания необходимы не только для общего понимания физиологических и биохимических процессов происходящих, в этом органе, но и для выявления причин возникновения патологических процессов в нем [1, 2].

Подвергнув анализу доступные источники литературы, мы сделали вывод, что морфология основных источников кровоснабжения головного мозга у быка домашнего изучена недостаточно, а имеющиеся в литературе сведения неполные, а иногда и противоречивые.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследование проводили на пяти препаратах головного мозга быка домашнего в возрасте от полутора до двух лет, доставленных на кафедру анатомии живот-

ных ФГБОУ ВПО СПбГАВМ из фермерских хозяйств Ленинградской области.

Для изучения артериального русла головного мозга проводили инъекцию сосудов головы рентгеноконтрастной массой через правую и левую общие сонные артерии. Для предотвращения вытекания инъецируемой массы через коллатеральные сосуды, перед инъекцией производили тампонирование поперечных каналов шейного отдела позвоночного столба и позвоночный канал гигроскопической ватой.

Рентгеноконтрастную инъекционную массу изготавливали по прописи Кульчицкого К.И. и др. (1983) в нашей модификации. Данная масса представляет взвесь свинцового сурика в скипидаре со спиртом этиловым ректифицированным и глицерином. При этом спирт и глицерин добавляли для предотвращения расслаивания инъецируемой массы.

Для получения более точного изображения на рентгеновском снимке кровеносное русло заполняли дважды. Первую порцию массы готовили более жидкой консистенции для заполнения наиболее мелких сосудов, а вторую порцию более густую. Последнюю вводили в сосудистое русло под большим давлением, чтобы первая порция контрастной массы полностью заполнила все мелкие сосуды вплоть до звеньев гемомикроциркуляторного русла..

После инъекции материал подвергали фиксации в 10,0 % растворе формалина в течение пяти суток, необходимой для лучшего заполнения мелких сосудов. Для лучшей фиксации головного мозга периодически проводили инъекцию 10,0 % раствора формалина в полость центрального канала спинного мозга и подбололочные пространства.

После фиксации материала производили трепанацию черепа и извлекали головной мозг. Удаляли с головного мозга твердую оболочку, под которой наблюдали картину поверхностного артериального сосудистого русла головного мозга, заполненного взвесью свинцового сурика и имеющую характерную оранжевую окраску. В дальнейшем с препаратов делали рентгеновские снимки.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

В результате проведенного исследования установили, что основными источниками кровоснабжения головного мозга быка домашнего являются правая и левая ростральные и каудальные соединительные артерии, а также основная мозговая артерия.

Ростральная и каудальная соединительные артерии берут свое начало от правой (3,17±0,31 – здесь и далее измерение диаметра приводятся в миллиметрах) и левой (3,13±0,29) мозговых сонных артерий – *aa. carotis cerebri dexter et sinister*, выходящих из чудесной сосудистой сети основания черепа. Последняя образуется за счет слияния ветвей верхнечелюстной артерии с ветвями позвоночной и мыщелковой артерий.

Ростральные (1,87±0,27) и каудальные (1,64±0,24) соединительные артерии – *a. communicans rostralis et caudalis* правой и левой сторон головного мозга объединяются друг с другом, образуя вокруг гипофиза артериальное кольцо головного мозга (*Виллизиев круг*) – *circulus arteriosus (Villisi)*.

Артериальное кольцо головного моз-

га у взрослой особи быка домашнего имеет форму неправильной восьмерки. При этом ростральная петля этой восьмерки шире каудальной.

Каждая ростральная соединительная артерия огибает зрительные тракты и зрительный перекрест с латеральной стороны. Далее она резко поворачивает в сторону медианной плоскости, где анастомозирует с ростральной соединительной артерией противоположной стороны. Таким образом, образуется ростральная петля артериального кольца.

Вперед и в сторону продольной щели головного мозга от ростральной петли отходит парная *ростральная мозговая артерия* – *a. cerebri rostralis* (1,34±0,27). В продольной щели она переходит на медиальную поверхность полушарий, отдавая лобные и мозолистокраевые ветви.

По бокам от ростральной мозговой артерии каждая ростральная соединительная артерия с обеих сторон отдает ростральную артерию мозговой оболочки и среднюю мозговую артерию.

*Правая* (0,85±0,23) *и левая* (0,83±0,21) *ростральные артерии мозговых оболочек* – *aa. meningea rostralis dextra et sinistra* берут начало от дорсальных стенок ростральных соединительных артерий. Около каудального края зрительного тракта каждая из них отдает ветви в пограничную борозду. Затем ростральная артерия мозговых оболочек поднимается к серповидной складке твердой оболочки головного мозга, где анастомозирует с ветвями решетчатых артерий.

*Правая* (1,57±0,29) *и левая* (1,53±0,27) *средние мозговые артерии* – *aa. cerebri mediana dextra et sinistra* являются одними из самых крупных ветвей артериального анастомоза. Они отходят от ростральных соединительных артерий в области медиального угла обонятельного треугольника и проходят по его основанию. Достигнув силвиевой борозды, средняя мозговая

артерия проходит в ее составе и ветвится почти на всей латеральной и вентральной поверхности полушария, отдавая *корковые и центральные ветви* – *rr. corticales et centrales*. Они снабжают кровью центральные извилины, нижнюю и большую часть средних лобных извилин, теменную долю, а также верхнюю и среднюю височную извилины. В одном из случаев мы наблюдали отхождение средней мозговой артерии от ростральной соединительной артерии двумя стволами.

*Каудальная соединительная артерия* – *a. communicans caudalis* дает начало каудальным мозговым артериям, артериям четверохолмия и ростральным артериям мозжечка.

*Правая* ( $1,05 \pm 0,27$ ) *и левая* ( $0,98 \pm 0,26$ ) *каудальные мозговые артерии* – *aa. cerebri caudalis dextra et sinistra* отходят от ростральных частей каудальных соединительных артерий. Каудальная мозговая артерия пересекает латеральную поверхность ножки мозга и погружается в борозду, расположенную между латеральным и медиальным коленчатыми телами. По своему ходу каждый из этих сосудов отдает соответственно *правую* ( $0,64 \pm 0,21$ ) *и левую* ( $0,63 \pm 0,19$ ) *каудальные артерии сосудистого сплетения* – *aa. choroidea caudales dextra et sinistra*, идущие в сосудистое сплетение боковых мозговых желудочков. Помимо этого, по ходу каждая каудальная мозговая артерия отдает тонкие артериальные ветви для зрительного бугра, коленчатых тел, ростральных бугров четверохолмия и затылочной доли полушария.

*Правая* ( $0,84 \pm 0,23$ ) *и левая* ( $0,80 \pm 0,21$ ) *артерии четверохолмия* – *aa. quadrageminae dextra et sinistra* отходят от каудальных соединительных артерий на середине их длины. По ходу каждая из артерий огибает соответствующую ножку большого мозга и ветвится на буграх четверохолмия. На одном из препаратов мы наблюдали, что каждая из артерий четверо-

холмия отходит от каудальных соединительных артерий двумя стволами. При этом ростральный ствол разветвляется в ростральных буграх четверохолмия, а каудальный в каудальных буграх.

*Правая* ( $0,87 \pm 0,23$ ) *и левая* ( $0,83 \pm 0,21$ ) *ростральные артерии мозжечка* – *a. cerebelli rostrales dextra et sinistra* берут начало от абораальных частей каудальных соединительных артерий до их слияния в основную мозговую артерию. Помимо малого мозга ростральные артерии мозжечка участвуют в кровоснабжении каудальных бугров четверохолмия.

*Основная мозговая артерия* – *a. basilaris cerebri* ( $2,11 \pm 0,23$ ) снабжает кровью большую часть ромбовидного мозга. Она образуется путем слияния ветвей *правой и левой затылочных артерий* – *aa. occipitales dextra et sinistra*, которые проникают в позвоночный канал через межпозвоночные отверстия атланта.

Основная мозговая артерия на своем пути отдает множественные парные артерии *продолговатого мозга* – *aa. medullae oblongatae* *и артерию мозгового моста* – *a. pontis*.

Позади мозгового моста от основной мозговой артерии отходят – *правая* ( $0,98 \pm 0,19$ ) *и левая* ( $0,93 \pm 0,18$ ) *каудальные артерии мозжечка* – *a. cerebelli caudales dextra et sinistra*. На своем пути каждая из них отдает артериальные ветви к латеральной поверхности продолговатого мозга. В дальнейшем правая и левая каудальные артерии мозжечка поднимается дорсально и ветвится на латеральной и дорсальной поверхностях полушария мозжечка и его червячка.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

1. Сосуды головного мозга быка домашнего имеют выраженные морфометрические и синтопические видовые особенности.

2. Основными источниками кровоснабжения головного мозга быка домашнего являются ростральные и каудальные

соединительные артерии, а также основная артерия мозга.

3. Артериальное кольцо основания головного мозга у быка домашнего образуется за счет слияния правых и левых краниальных и каудальных соединительных артерий, включая основную артерию мозга.

4. В области основания черепа у быка домашнего имеется чудесная сосудистая сеть. Она образуется слиянием ветвей верхнечелюстной, позвоночной и мышечковой артерий. Функционально сеть исключает перепады внутричерепного давления при резких движениях головы животного.

5. Ротральные и каудальные соединительные артерии у быка домашнего являются ветвями мозговых сонных артерий, берущих начало от чудесной сосудистой сети основания черепа.

#### **Morphology of the main sources of blood supply of the brain of the bovis.**

**A.V. Prusakov.**

#### **ABSTRACTS**

In article the vazorentgenografiya technique with use of the modified mix of Kulchitsky K.I. is described. This weight represents a suspension of lead minium in turpentine with alcohol ethyl rectified and glycerin. For research of the vascular course of a brain of a bull house carried out an injection of vessels of the head through the right and left general carotids. To prevent a weight effluence through collateral vessels, before an injection тампониروвали cross channels of cervical department of a spine column and the vertebral channel hygrosopic cotton wool. After fixing of a material made cranial trepanation and took a brain. Further from preparations did x-ray pictures. As a result of research established that the main sources of blood supply of a brain of a bull house are the right and left rostral and kaudalny connecting arteries formed by branching of brain carotids, and also the main brain artery. The brain carotid at a bull

house originates from a wonderful vascular network of basis of a skull which is formed by merge of branches of a maxillary artery to branches of vertebral and myshchelkovy arteries. Rostral and kaudalny connecting arteries of the right and left parties of a brain, uniting with each other, I form round a hypophysis an arterial ring of a brain (Villiziyev a circle). Forward the pair rostral brain artery departs from an arterial ring at a bull house. On each side from a rostral brain artery each rostral connecting artery from both parties gives a rostral artery of a brain cover and an average brain artery. The Kaudalny connecting artery gives rise to kaudalny brain arteries, arteries a chetverokholmiya and to rostral arteries of a cerebellum. The main brain artery supplies with blood the most part of a diamond-shaped brain and is formed by merge of branches of the right and left occipital arteries. On the way the main brain artery gives multiple pair arteries of a medulla and an artery of the brain bridge. Behind the brain bridge the right and left kaudalny arteries of a cerebellum depart from the main brain artery.

**Key words:** brain, vaskulyarization, bull, vessels, corrosion.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Зеленовский Н.В., Стекольников А.А. Практикум по ветеринарной анатомии. – СПб, «Логос», 2006. – 160с.
2. Зеленовский Н.В., Хонин Г.А. Анатомия собаки и кошки. – СПб, «Логос», 2004. – 344с.
3. Зеленовский Н.В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура. Пятая редакция. СПб, Лань, 2013.
4. Хрусталева И.В., Михайлов Н.В., Шнейберг Я.И. Анатомия домашних животных. М.: Колос, 1994. – 704с.



## ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЛАВАЖНОЙ ЖИДКОСТИ У БЫЧКОВ, БОЛЬНЫХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ БРОНХОПНЕВМОНИЕЙ

Крячко О.В. - д.в.н., профессор, зав. каф. патологической физиологии, Агапиев Д.А. - аспирант, каф. патологической физиологии  
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



### РЕФЕРАТ

Цель работы – изучить состояние местного иммунитета легких у бычков, больных неспецифической бронхопневмонией. Для исследования была отобрана группа бычков 15-месячного возраста ( $n=10$ ), у которых отмечали клинические признаки нарушения функции легких: приступы кашля и серозные истечения из носа. Кашель усиливался при физической нагрузке. В условиях мясокомбината бычки подвергались убою. Для получения и оценки количественных и качественных показателей клеточного звена местной защиты легких использовали бронхоальвеолярный лаваж в модификации О.В.Крячко (1992). В лаважной жидкости (100 мл) определяли общее число лейкоцитов и процентное соотношение клеток в лаважной жидкости. В результате исследований установили, что приток лейкоцитов в легочное пространство у опытных животных был различным и варьировал в пределах от  $4,75 \times 10^9$ /л до  $12,2 \times 10^9$ /л, что в среднем составило  $6,64 \pm 0,68 \times 10^9$ /л. Среди клеток преобладали сегментоядерные нейтрофилы, их число колебалось от 60 до 73 % ( $68,4 \pm 1,3$  %). Палочкоядерные нейтрофилы были представлены в меньшем количестве: от 1 до 13 % ( $8,5 \pm 1,27$  %). Притекали в альвеолярное пространство лимфоциты (колебания 14-29%, в среднем -  $17,8 \pm 1,55$ %) и макрофаги (колебания 3-10%, в среднем -  $5,1 \pm 0,69$ %). В единичных случаях определяли в лаважной жидкости и эозинофилы. В результате проведенных цитологических исследований установлено, что у бычков, больных неспецифической бронхопневмонией, клеточные характеристики бронхоальвеолярной лаважной жидкости подтверждают наличие острого воспалительного процесса в легких.

**Ключевые слова:** бронхоальвеолярный лаваж, макрофаги, нейтрофилы, лимфоциты, бронхопневмония, местный иммунитет, бычки, лаважная жидкость.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время респираторные заболевания наносят большой экономический ущерб животноводству. Заболеваемость телят неспецифической бронхопневмонией в некоторых хозяйствах достигает 60%. Вследствие этого снижаются показатели прироста живой массы телят. [4]

В этой связи большое значение в ветеринарии приобретает метод оценки мест-

ной защиты легких у телят. Местную защиту легких обеспечивает нормальное функционирование клеток, находящихся в альвеолярном пространстве. В основном это нейтрофилы и моноциты, мигрировавшие в легкие – макрофаги. Альвеолярные макрофаги являются основными клеточными элементами, обеспечивающими ряд защитных механизмов в легочной ткани, которые функционируют не только как фагоцитирующие клетки, но и

как клетки, активно взаимодействующие с Т- и В-лимфоцитами и окружающими тканями, что и представляет собой фундамент клеточного иммунитета.[1]

Целью нашего исследования являлось изучение цитологических характеристик бронхоальвеолярной лаважной жидкости - общий цитоз и соотношение различных типов лейкоцитов – у бычков, больных неспецифической бронхопневмонией.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в условиях Лужского мясокомбината Ленинградской области и на кафедре патологической физиологии СПбГАВМ.

Для изучения состояния клеточного звена местной защиты легких у крупного рогатого скота были проведены цитологические исследования. В качестве подопытных животных использовали бычков 15-месячного возраста (n=10), у которых отмечали клинические признаки нарушения функции легких: приступы кашля и серозные истечения из носа. Кашель усиливался при физической нагрузке (перегон).

Для получения и оценки количественных и качественных показателей клеточного звена местной защиты легких используют бронхоальвеолярный лаваж. Он может быть прижизненным, проводимым под наркозом, и посмертным, проводимым после убоя животных.[1]

Бронхоальвеолярный лаваж проводили по методике в модификации О.В.Крячко (1992).

В лаважной жидкости (100 мл) определяли общее число лейкоцитов, для этого осаждали клетки центрифугированием и в сборной пробе подсчитывали количество лейкоцитов в камере Горяева.

Из клеточного осадка готовили мазки, окрашивали по методу Романовского-Гимзы и определяли процентное соотношение клеток в лаважной жидкости.

Полученный цифровой материал обрабатывали статистически.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований представлены в таблице 1.

В результате исследований установили, что приток лейкоцитов в легочное пространство у опытных животных был различным и варьировал в пределах от

Таблица 1  
Общее число лейкоцитов в лаважной жидкости

Показатели	M±m	p
Э, %	0,2±0,1	< 0,05
ПяНф, %	8,5±1,2	< 0,001
СяНф, %	68,4±1,3	< 0,001
Лим, %	17,8±1,6	< 0,001
Мон, %	5,1±0,7	< 0,001
Общий цитоз, x 10 <sup>9</sup> /л	6,6± 0,7	< 0,001

4,75 x 10<sup>9</sup>/л до 12,2 x 10<sup>9</sup>/л, что в среднем составило 6,64 ± 0,68 x 10<sup>9</sup>/л. Среди клеток преобладали сегментоядерные нейтрофилы, их число колебалось от 60 до 73 % (68,4± 1,3 %) (Рис. 1). Палочкоядерные нейтрофилы были представлены в меньшем количестве: от 1 до 13 % (8,5 ± 1,27 %). Притекали в альвеолярное пространство лимфоциты (колебания 14-29%, в среднем - 17,8± 1,55%) и макрофаги (колебания 3-10%, в среднем - 5,1 ± 0,69%). В единичных случаях определяли в лаважной жидкости и эозинофилы.

В литературе имеются данные о повышении абсолютных значений количества нейтрофилов в составе бронхоальвеолярной жидкости у поросят при бронхопневмонии, а также их процентного содержания в соотношении с другими клетками. [1,2,3].

Впервые бронхоальвеолярный лаваж был разработан [16] на модели легких кролика. В дальнейшем на основе предложенной техники были разработаны различные модификации для мелких [13,14]

и крупных животных [6,7,8,9,11,12,15,20], а также человека [5,10,17,18,19,]. Указанные авторы сообщают, что в результате прижизненного лаважа воздушных путей возможно получить  $5,0-15,0 \times 10^6$  клеток от одного здорового индивидуума. [1]

Крячко О.В. (1992) проводила бронхоальвеолярный лаваж тотчас после убоя животных, что позволило получить гораздо больше клеток в расчете на одно животное, чем другим исследователям. При проведении бронхоальвеолярного лаважа легких от здоровых животных удалось получить  $3,13 \pm 0,69 \times 10^8$  клеток на 100 мл лаважной жидкости. В результате бронхоальвеолярного лаважа легких от больных поросят было получено  $11,88 \pm 0,59 \times 10^8$  клеток на 100 мл лаважной жидкости. Причем, среди клеток у здоровых животных преобладали макрофаги, а у больных было отмечено почти 8-кратное увеличение содержания нейтрофилов в лаважной жидкости по сравнению со здоровыми. [1]

В целом полученные результаты согласуются с данными литературы, характеризующими клеточный состав бронхоальвеолярной лаважной жидкости у других видов сельскохозяйственных животных. Нейтрофилы обеспечивают первичную линию защиты в очаге воспаления, лимфоциты участвуют в реализации реакций специфического иммунитета. О благоприятном исходе воспалительной реакции свидетельствует преобладание макрофагальных клеток.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, в результате проведенных цитологических исследований установлено, что у бычков, больных неспецифической бронхопневмонией, клеточные характеристики бронхоальвеолярной лаважной жидкости подтверждают наличие остро воспалительного процесса в легких: общий цитоз составил  $6,64 \pm 0,68 \times 10^9$ /л. По отношению к содержанию в лаважной жидкости преобладали

сегментоядерные нейтрофилы – 60-73%, определяли также 1-13% палочкоядерных нейтрофилов, 14-29% лимфоцитов и 3-10% макрофагов.

**Cytological characteristics of bronchoalveolar lavage fluid in bulls which are ill with nonspecific bronchopneumonia.**

**O.V. Kryachko, D.A. Agapiev.**

#### **ABSTRACTS**

The purpose of our work is to examine the local immunity in the lungs of bulls which are ill with nonspecific bronchopneumonia. For the investigation it was selected a group of bulls which had an age 15 month and clinical signs of lung disfunction: coughing and serous expiration from the nose. Cough was getting stronger during physical activity. Bulls were slaughtered in slaughterhouse. In order to receive and estimate the quantitative and qualitative indicators of cellular link of local protection in lungs the bronchoalveolar lavage in modification of O.V.Kryachko (1992) was used. In lavage fluid (100 ml) it was determined the total number of leukocytes and the percentage of cells. The studies shown that the influx of leukocytes in lung space of the experimental animals was varied and ranged from  $4,75 \times 10^9$ /l to  $12,2 \times 10^9$ /l, in average  $6,64 \pm 0,68 \times 10^9$ /l. Among cells predominated segmented neutrophils, their number ranged from 60 to 73 % ( $68,4 \pm 1,3\%$ ). There were less stab neutrophils which were presented from 1 to 13% ( $8,5 \pm 1,27\%$ ). Lymphocytes (range 14-29%, in average -  $17,8 \pm 1,55\%$ ) and macrophages (range 3-10%, in average -  $5,1 \pm 0,69\%$ ) flown into the alveolar space. In some cases eosinophils were determined in the lavage fluid. Due to cytological investigation It was shown that cellular characteristics of bronchoalveolar lavage fluid of bulls which are ill with nonspecific bronchopneumonia confirm the presence of acute inflammation in the lungs.

**Key words:** bronchoalveolar lavage, macrophages, neutrophils, lymphocytes, pneumonia, local immunity, bulls, lavage

fluid.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Крячко О.В. Использование пептидных биорегуляторов для коррекции иммунодефицита у поросят при бронхопневмонии: Дис. ... канд.вет.наук. – Санкт-Петербург, 1992. - 152 с.
2. Крячко О.В. Характеристика клеточного состава бронхоальвеолярной лаважной жидкости при бронхопневмониях поросят различной этиологии// Материалы научно-производственной конференции посвященной 190-летию высшего вет. образования в России и 100 летию вет. науки, Санкт-Петербург, 1998. - Часть 1. – С. 107-108.
3. Лютинский С.И., Крячко О.В., Хавинсон В.Х., Кожемякин А.Л. Влияние пептидных биорегуляторов на местный иммунитет при бронхопневмонии// Ветеринария, 1993. - № 1. – С. 44-47.
4. Никулина Н.Б. Научно-обоснованные методы лечения и профилактики неспецифической бронхопневмонии телят в Пермском крае: Автореф.дис. ... д.в.н. – Троицк, 2012. - С. 1-12.
5. Daniele R.P., Altose M.D., Rowlands D.T.J. Immunocompetent cells from the lower respiratory tract of normal human lungs // J. Clin. Invest. – 1975. – Vol. 56. – P. 986-995.
6. Dyer R.M., Denny Liggitt H., Wes Leid R. Isolation and partial characterization of equine alveolar macrophages//Am. J. Vet. Res. – 1983. – Vol. – 44. – N 12. – P. 2379-2384.
7. Finley T.N., Swenson E.W., Curran W.S. et al. Bronchopulmonary lavage in normal subjects and patients with obstructive lung disease//Ann. Int. Med. – 1967. – Vol. 66. – p. 651-658.
8. Harmsen A.G., Birmingham J.R., Engen R.L. et al. A method for obtaining swine alveolar macrophages by segmental pulmonary lavage // J. Immunol. Methods, - 1979. – Vol. 27. – P. 199-202.
9. Harris J.O., Swenson E.W., Jonson J.E. III: Human alveolar macrophages: comparison of phagocytic ability glucose utilization, and ultrastructure in smokers and nonsmokers//J. Clin. Invest. – 1970. – Vol. 49. – P. 2086-2096.
10. Haslem R.L., Torton C.W.G., Lukoszek A. et al. Bronchoalveolar lavage fluid cell counts in cryptogenic fibrosing alveolitis and their reaction to therapy//Thorax. – 1980. – Vol. 35. – P. 328-339.
11. Kastello M.D., Emmert A.D., Denson R.F. et al. Recovery of alveolar macrophages from rhesus and cynomolgus macaques by lung lavage//Am. J. Vet. Res. – 1979. – Vol. 40. – P. 271-273.
12. Markam R.J.F., Wilkie B.N. Interaction between Pasteurella haemolytica and bovine alveolar macrophages: cytotoxic effect on macrophages and impaired phagocytes //Am. J. Vet. Res. – 1980. – Vol. 41. – P. 18-22.
13. Mauderly J.L. Bronchopulmonary lavage of small laboratory animals // Lab. Anim. Sci. – 1977. – Vol. 27. – P. 261-266.
14. Medin N.I., Osebold J.W., Zee Y.S. Procedure for pulmonary lavage in mice//Am. J. Vet. Res. – 1976. – Vol. 37. – P. 237-238.
15. Muggenburg B.A., Mauderly J.L. Lung lavage using a single-lumen endotracheal tube // J. Appl. Physiol. – 1975. – Vol. 38. – P. 922-926.
16. Myrvik Q.N., Leake E.S., Farris B. Studies on pulmonary alveolar macrophages from normal rabbit: A technique to procure them in a high state of purity//J. Immunol. – 1961. – Vol. 86. – P. 128-132.
17. Reynolds H.Y., Atkinson J.P., Newball H.H. et al. Receptors for immunoglobulin and complement on human alveolar macrophages // J. Immunol. – 1975. – Vol. 114. – P.1813-1819.
18. Reynolds H.Y., Newball H.H. Analysis of proteins and respiratory cells obtained from human lungs by bronchial lavages//J. Lab. Clin. Med. – 1974. – Vol. 84. – P. 559-573.
19. Whitecomb M.E. Characterization of antibody-dependent cytotoxicity mediated by

human alveolar macrophages// Am. Rev. Resp. Dis. – 1979. – Vol. 120. – P. 1269-1274.  
20. Williams P.P. Collection and cultivation

of and Phagocytosis by Pulmonary Macrophages Obtained from Hystectomy Derived Pigs // Am. J. Vet. Res. – 1978. – Vol. 39. – N 3. – P. 485-489.



## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК-57089:59

### ЭТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ОБРАЩЕНИЯ С ЖИВОТНЫМИ В РОССИИ

Селезнева А.И.– научный сотрудник, Макарова М.Н - д.м.н., профессор.  
Санкт-Петербургский институт фармации



#### РЕФЕРАТ

Отсутствие в России согласованных и актуальных документов, регламентирующих этические принципы обращения с животными, затрудняет международные отношения в разных отраслях науки и животноводства. Вопрос нравственного отношения к животным актуален во всем мире и характеризует уровень цивилизованности страны. С целью обоснования необходимости разработки и внедрения на территории России документальных этических баз нами был составлен исторический обзор возникновения и развития этических канонов в мире и в России. В результате проведенного литературного поиска нами было установлено, что за всю историю в России существовало лишь 5 нормативных документов, регулирующих этику при обращении с животными, а закон о защите животных в РФ так и не был принят. Уровень, на котором находится Россия в этом вопросе, возможно, служит причиной низкой авторитетности, как научных исследований, так и страны в целом. Таким образом, создание в России нормативно-правовой базы этических принципов обращения с животными является на наш взгляд необходимым.

**Ключевые слова:** этика, животные, эксперимент, лабораторная практика

Развитие современной науки и техники, стремление человека познать окружающий его мир непрерывно нуждается в проведении биомедицинских исследований. В России многие подобные исследования не имеют под собой базы регламентирующих этических стандартов. Огромное количество конфликтов на почве исследований с привлечением животных возникает в виду отсутствия актуальных, согласованных, ясных и «прозрачных» документов, регламентирующих этиче-

ские нормы обращения с животными. Затруднительным по этой же причине является также представление результатов отечественных работ на международном уровне.

Большинство ученых и борцов за этические принципы на сегодняшний день единогласно пришли к выводу необходимости исследований *in vivo* [1]. Практически все достижения в медицине XX века каким-либо образом зависели от опытов на животных [2]. Несмотря на масштабы

экспериментальных исследований на животных, регулярный контроль за использованием и учет их количества ни в одной из стран мира не проводится [3]. Исключение составляет Великобритания, где данные о числе экспериментов на животных публикуются ежегодно, начиная с 1878 г.

Опыт экспериментальной деятельности насчитывает более тысячи лет. Самые ранние упоминания об опытах на животных встречаются в сочинениях древних греков II и I века до н. э. - Аристотель (384—322 до н. э.) и Эразистрат (304—258 до н. э.), которые одними из первых провели опыты на живых животных [4]. Древнеримский врач II века нашей эры Гален, известный, как «отец вивисекции», практиковал вскрытия свиней и коз [5]. Арабский врач Ибн Зухр в XII веке отработывал методы хирургии на животных [6].

Многие исследования XIX века, предвосхитившие величайшие открытия в медицине и биологии, сопровождались тяжелыми страданиями животных. В 1910 г. И.П.Павлов писал: "Нельзя не упомянуть о психических свойствах животного. Приходится с болью сознаться, что лучшее домашнее животное человека - собака - как раз благодаря своему высокому умственному развитию, чаще всего становится жертвой физиологического эксперимента". Естественно, что при проведении операций одним из основных правил он считал применение наркоза [7]. Необходимость сострадания, сопереживания любому живому существу, осознание грани жестокости и необходимости проведения опыта будоражили умы естествоиспытателей с древних времен, однако понятие биоэтики и правил обращения с животными возникло относительно недавно, а в России и по сей день является не до конца сформированным.

Биоэтика — учение о нравственной стороне деятельности человека в медици-

не и биологии. Впервые термин «Bioethics» был использован Fritz Jahr в 1927 году [8]. В ветеринарном журнале этические нормы обращения с животными впервые были упомянуты в 1941 году [9], а первое упоминание о правах и благополучии животных было зарегистрировано в 1979 году [10]. В 1981 году в журнале «Journal of the American Association for Laboratory Animal Science» впервые был поставлен вопрос о критериях необходимости исследования на животных и отбора животных в эксперимент с учетом этических аспектов [11].

Первые в мире размышления о боли и страданиях животных были направлены на болезненные процедуры в сельском хозяйстве и азартных играх с участием животных (петушиные бои, коррида, скачки). Ричард Райдер пишет, что первые законы в англоговорящем мире о защите животных были приняты в Ирландии в 1635 году. Они запрещали выдергивать шерсть из овец и крепить плуг к хвостам лошадей, так как «это причиняет им страдание» [12].

1641 год знаменуется одним из пиков научной революции, лидером которого явился Рене Декарт, Декарт утверждал, что к животным следует относиться «как к механизмам», без всякого сострадания. Подобные рассуждения вызвали волнение среди общественности мира. В ответ на размышления Декарта был принят первый кодекс о защите сельскохозяйственных животных в Северной Америке в колонии Массачусетского залива [13]. В 1654 году законы, касающиеся защиты животных также были приняты пуританами в Англии. Правитель Англии Кромвель не любил кровавые виды спорта, особенно петушиные бои, закидывание петуха палками, собачьи бои, а также. Однако запреты пуритан вызывали недовольство. Поэтому уже с 1660 годы законы о защите животных были отменены. Травля быков оставалась законной в Анг-

ли ещё 162 года до её запрета законом об обращении с животными 1822 года.

Родоначальником этических принципов обращения с животными по праву можно назвать Великобританию. В 1822 году в Великобритании Ричард Мартин, получивший от короля Георга Георга IV прозвище «Человечный Дик» добился принятия своего закона «Об обращении с лошадьми и крупным рогатым скотом». «Закон Мартина» получил королевскую санкцию и стал первым из известных законов в защиту животных [14]. В 1824 году было организовано первое в мире общество по защите животных. Уже к концу 19 века подобные общества образовались в Германии, Франции, Швейцарии, США.

Первый этический закон об опытах на животных был издан в 1876 году в Лондоне [15]. Закон предусматривал преследование за жестокость обращения с животными, а также за проведение исследований, сопровождающихся болезненными процедурами без абсолютной необходимости в них. Несмотря на первый шаг законодательного урегулирования этических споров, закон 1876 года подвергся критике со стороны Национального антививисекционного общества. Апогеем споров стало «Дело о коричневой собаке». В 1903 году один из профессоров Университетского Колледжа Лондона, первооткрыватель гормонов У. Бейлис провел перед аудиторией из 60 студентов вивисекционный опыт на живой собаке. Произошел общественный скандал, сторонники запрета вивисекции возвели собаке памятник, который был позже снесен и воссоздан в 1985 г. (рисунок 1). «Дело о коричневой собаке» явилось переломным моментом в развитии этического регулирования опытов над животными [16]. Тем не менее, закон 1876 года оставался в силе на протяжении 110 лет, пока в 1986 году не был заменен на Закон об обращении с животными, используемыми для



Рис. 1. Оригинальная статуя коричневой собаки (Дж. Вайтхед, 1906 г.).

научных процедур.

В США оппозиция к опытам на животных возникла в 1860-х, когда Генри Берг основал «Американское общество по предотвращению жестокости к животным» (ASPCA)

и Американское общество против вивисекции (AAVS) в 1883 году. Наибольшего успеха эти организации достигли в 1966-м году, когда в США был принят закон о благополучии животных [17]. Этот закон и «Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных» указывают, что над животными возможны любые эксперименты, если доказана их научная необходимость. Учёные обязуются консультироваться с экспертами «Комитетов по содержанию и использованию животных» (IACUC), которые с 1966 года были организованы при всех финансируемых из бюджета научно-исследовательских центрах [18]. Однако опубликованное в журнале Science 27 июля 2001 года трёхлетнее исследование при финансовой поддержке Национального научного фонда (National Science Foundation) указало на низкую эффективность работы IACUC [19].

Для того, чтобы достигнуть международного компромисса и согласия между исследователями и защитниками прав животных была необходима постановка единой концепции, удовлетворяющей все стороны. Прорыв в этом вопросе был осуществлен в 1959 году. У. Расселом и Р. Берчем в 1959 г. был издан труд «Принципы гуманной экспериментальной техники», который получил название концепции трех «R» [20]. В ее основе три главных положения: усовершенствова-

ние, сокращение, замена (Refinement, Reduction, Replacement). Эти принципы до сих пор являются основополагающими и позволяют примирить острые вопросы биоэтики, получая при этом необходимые и достоверные результаты научных исследований во всем мире.

Сейчас в разных странах разработано большое количество документов, регламентирующих этические нормы обращения с животными [21]. По мнению современных исследователей наиболее совершенный контроль над экспериментальными исследованиями налажен в Швеции [22].

С 1986 года Европейским Союзом была принята Директива ЕС 1986 86/609/ЕЕС [23], которая стала объединяющей законодательной основой для проведения биомедицинских исследований с участием животных в странах Евросоюза. В 2010 году эта Директива была обновлена Директивой ЕС 2010/63/EU [24].

В 1985 году Совет международных научных медицинских организаций — Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) утвердил «Международные руководящие принципы биомедицинских исследований на животных» [25], так называемый «Этический кодекс». Однако основные положения этого документа позволяют очень вольно трактовать их и могут явиться основанием для еще большей разрозненности международных этических понятий.

В контексте биомедицинских исследований необходимо также отметить особой вехой появление в 1976 году системы Good Laboratory Practice (GLP), которая была разработана FDA (Food and Drug Administration), в 2008 году утверждена Всемирной Организацией Здравоохранения и является утвержденным национальным стандартом РФ с 1 марта 2010 года. Согласно системе GLP все пищевые добавки и лекарственные средства обяза-

тельно должны проходить испытания на животных.

В России обращение с животными и опыты на животных долгое время никак не регламентировались, хотя как описано выше, многие великие русские ученые активно и сердечно высказывались в пользу создания подобных законов и нормативных документов еще в 18-20 веках. Движение в защиту животных в нашей стране началось значительно позднее, чем в других странах. Только в 1954 г. преподаватель одного из московских вузов Е.



Рис. 2. Картина художника В.А. Ватагина «Больной Ганс» (1934), выполненная в Московском зоопарке за несколько дней до смерти обезьяны.

А. Антонова, поддерживаемая известным художником-анималистом

В.А.Ватагиным (рисунок 2), добилась создания секции охраны животных при Московском отделении Всероссийского общества охраны природы. Статья "Жестокое обращение с животными" была введена в Уголовный Кодекс РСФСР в марте 1988 года.

В настоящее время в России закона о защите животных от жестокого обращения нет, его проект был снят с рассмотрения в 1999 году. В настоящее время в России действует только закон «О животном мире» [26].

Первые попытки принятия регламентирующих этических стандартов были



предприняты в 1977 году – был издан приказ министерства здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» [27]. К великому сожалению, этот документ до сих пор не обновлялся.

Таким образом, из регламентирующих документов о защите животных и этических нормах биомедицинских исследований, действовавших за всю историю России, можно выделить:

Приказ министерства здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» [27];

International guiding principles for biomedical research involving animals. Geneva. 1985 (международные рекомендации, переведенные на русский язык, принятые Советом международных научных медицинских организаций) [25].

Федеральный закон от 24 апреля 1995 г. № 52-ФЗ «О животном мире» [28].

Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» [29];

Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н "Об утверждении Правил лабораторной практики" [30];

При этом последние 2 документа имеют лишь косвенное упоминание об этических нормах обращения с животными и не способны обеспечить соответствие деятельности научно-исследовательских и других организаций требованиям мировых этических норм в отношении животных. Не удивительно, что большинство туристов, посещая нашу Родину, искренне боятся встретить на улице медведя. Многие как отечественные, так и зарубежные исследователи, и защитники прав

животных не без основания считают, что в России законодательное регулирование опытов на животных в настоящее время отсутствует.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Резюмируя все выше сказанное, можно сделать вывод о том, что регламентирующий базис этических принципов обращения с животными в России отсутствует, а в большинстве развитых стран продолжает развиваться и совершенствоваться. Следует учитывать тонкую грань условий, при соблюдении которых мероприятия с участием животных могут быть и эффективными, и нравственными одновременно. Для того, чтобы биомедицинские исследования приносили неопровержимую пользу миру, необходимо опираться на концептуальные основы современной биомедицинской этики, помогающие уравновесить «чаши весов нравственности и эффективности». Таких основ в современном мире крайне мало ввиду относительно недавней постановки вопроса об этических принципах обращения с животными. В России вопрос законодательного урегулирования нравственных понятий обращения с животными стоит особенно остро. Необходимо приложить все усилия для создания мощной государственной документальной базы в соответствии с духовными, научными и правовыми ориентирами, принятыми во всем мире. Это во многом определит не только успех и признанность научных исследований, но и явится следствием духовной зрелости и цивилизованности России.

### **Ethical principles for the treatment of animals in Russia.**

**A. Selezneva, M. Makarova.**

### **ABSTRACTS**

Russia's lack of documents regulating the ethical principles of the treatment of animals is the cause of the difficulties of international relations in various fields of science and animal husbandry. Matter of moral attitudes to animals is relevant throughout the

world and characterizes the level of civilization of the country. In order to justify the need for the development and implementation on the territory of Russian documentary ethical bases world was made a historical overview of the emergence and development of ethical canons in the world and in Russia. As a result of literature search we have found that in the history of Russia there were only 5 regulations governing ethics in dealing with animals, and the law on the protection of animals in Russia and was not adopted. The level at which Russia is in this matter, perhaps resulting in the low credibility as scientific research, and the country as a whole. Thus, the creation of the Russian legal framework ethical treatment of animals is necessary in our opinion.

**Key words:** ethics, animal experiment laboratory practice.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Гусейнов А.А. Этика // Новая философская энциклопедия / Ин-т философии РАН . М.: Мысль. -2010.
2. Копаладзе Р.А. Регламентация экспериментов на животных—этика, законодательства, альтернативы // Успехи физиол. наук. 1998. Т. 29. № 4. С. 74–92.
3. Курзанов А. Н. Экспериментальные исследования в ракурсе биоэтики // Вестник межд. Акад. наук. 2007. № 1. С. 7 - 13
4. Пр. Мин. здравоохранения СССР № 755 от 12.08.1977 "О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных".
5. Нац. стандарт РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».
6. Пр. Мин. здрав. и соц. развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н "Об утверждении Правил лабораторной практики".
7. Фед. закон от 24 апреля 1995 г. № 52-ФЗ «О животном мире».
8. Johnston EF. Etics in Veterinary Practice // Can J Comp Med Vet Sci. 1941. -Vol. 5, -N9. -P. 254-258.
9. Orlans F.B.. Animal rights and animal welfare // Hasting Cent. Rep. -1979. - Vol. 9, -N5. -P. 45-48.
10. Dodds WJ, Abelseth MK. Criteria for selecting the animal to meet the research need // Lab Anim Sci. 1980. Vol. 30. P. 460-465.
11. Richard. Animal Revolution: Changing Attitudes Towards Speciesism. Berg. 2000. P. 49.
12. Francione Gary. Rain Without Thunder: The Ideology of the Animal Rights Movement. Temple University Press. 1996. P. 7.
13. Ward Nathaniel. The Earliest New England Code of Laws. 1641. A Lovell & Company. Massachusetts, Nathaniel Ward. - 1896. -28 p.
14. K. Kathleen. "Animals and Ideology: The Politics of Animal Protection in Europe" In Representing Animals, edited by Nigel Rothfels. Bloomington and Indianapolis: Indiana University Press. -2002.
15. An Act to Amend the Law Relating to Cruelty to Animals. -L. -1876. -P. 459-464.
16. The Life and Letters of Chares Darwin? Vol. 2 / Francis Darwin. -1887. 804 p.
17. Draft guidance on the Operation of the Animals 1 (Scientific Procedures) Act 1986 (as amended).
18. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Of. J. of the European Union. 2010. P. 33 – 79/
19. Buettinger, Craig. Antivivisection and the charge of zoophile-psychosis in the early twentieth century // The Historian. -1993.
20. Plous S., Herzog H. Reliability of Protocol Reviews for Animal Research // Science Magazine. -2001. -Vol. 293 (5530). -P. 608-609/
21. Office of Laboratory Animal Welfare. Public Health Service Policy on Humane Care and Use of Lab. An.. Policies governing IACUCs. <http://grants.nih.gov/grants/olaw/references>

22. Russell W.M.S. and Burch R.L. The Principles of Humane Experimental Technique. Methuen. 1959. London.
23. Ethical principles and guidelines for scientific experiments on animals // Experimentia. 1992. Vol. 48. P. 1—3.
24. The use of non-human animals in research a guide for scientists The Royal Society. -2004. -P. 1.
25. Vivisection FAQ, British Union for the Abolition of Vivisection; «The Ethics of research involving animals», Nuffield Council on Bioethics, section 1.6.
26. Carbone, Larry. "What Animal Want: Expertise and Advocacy in Laboratory Animal Welfare Policy" // Oxford University Press. 2004. P. 26-69.
27. Laboratory animal medicine / edited by James G. Fox, Bennett J. Cohen, Franklin M. Loew. 1984. Orlando, Fla.: Academic Press.
28. «History of non-human animal research» Laboratory Primate Advocacy Group. -2005.
29. Rabie E. Abdel-Halim. «Contributions of Ibn Zuhr (Avenzoar) to the progress of surgery: A study and translations from his book Al-Taisir» // Saudi Medical Journal. -2005. -Vol.26. -N9. -P. 1333—1339.
30. Rabie E. Abdel-Halim. «Contributions of Muhadhdhab Al-Deen Al-Baghdadi to the progress of medicine and urology» // Saudi Medical Journal. Vol. 27. -N11. -P. 1631—1641.

УДК:59.089+619

## ОСОБЕННОСТИ ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ГРУППЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Мужикян А.А. - младший научный сотрудник, Макарова М.Н. – профессор, д.м.н.,  
Гущин Я.А.- младший научный сотрудник, Санкт-Петербургский Институт Фармации



### РЕФЕРАТ

Патологоанатомическое исследование умерших или подвергнутых эвтаназии животных является одним из наиболее показательных и достоверных методов обнаружения патологических изменений органов и тканей. Описание макроскопических изменений у группы экспериментальных животных представляет особую сложность. При этом решающее значение имеют не индивидуальные особенности или единичные повреждения, а комплекс патологических изменений у животных, вызванных, в частности, токсическим действием исследуемого препарата. Так, с целью оптимизации и повышения достоверности получаемых данных, нами была разработана и внедрена в практическую деятельность схема патологоанатомического исследования группы экспериментальных животных, с использованием протокола макроскопического исследования. При составлении данного протокола, мы руководствовались основными принципами, наиболее ценными для любой первичной документации: возможность заполнения от руки во время эксперимента, максимальная информативность, удобство заполнения и чтения. В то же время, предложенная схема позволяет патоморфологу, несмотря на большой объем исследуемого материала, своевременно обозначать и систематизировать выявленные морфологические изменения. На основании данного протокола, по итогам макроскопического исследования группы экспериментальных животных дается патологоанатомическое заключение. В нем, в отличие от классического

заклучения, не указываются причины смерти, т.к. при запланированной эвтаназии они очевидны, а дается полный перечень патологоанатомических изменений, обнаруженных при исследовании всех групп одного эксперимента. Указывается количество животных обоих полов, у которых эти изменения найдены. Разработанная нами схема патологоанатомического заключения позволяет видеть половые и групповые различия в эксперименте, а также обнаружить на их основе статистические различия.

**Ключевые слова:** вскрытие, некропсия, патологоанатомическое исследование.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Известно, что патологоанатомическое исследование умерших или подвергнутых эвтаназии животных является одним из наиболее показательных и достоверных методов обнаружения патологических изменений органов и тканей, не всегда выявляемых даже прижизненно общепринятыми лабораторно-диагностическими методами. Особенности вскрытия и планы описания обнаруженных во время некропсии патологий у человека и некоторых животных известны и хорошо описаны в литературе [4, 5]. Вместе с тем, представляет особую сложность описание макроскопических изменений у группы экспериментальных животных, когда решающее значение имеют не индивидуальные особенности или единичные повреждения, а комплекс патологических изменений, вызванных, к примеру, токсическим действием исследуемого препарата. В то же время остаются весьма значимыми любые даже единичные и редкие для данного эксперимента патологии, отражающиеся, безусловно, на прижизненных показателях состояния здоровья конкретных животных. Для решения поставленных задач, с целью оптимизации и повышения достоверности получаемых данных, нами была разработана первичная схема макроскопического исследования группы экспериментальных животных и формы патологоанатомического заключения к ним.

В современной патологоанатомической практике некропсия (или вскрытие) животных сопровождается составлением протокола вскрытия, который заполняет-

ся от руки патологоанатомом или его помощником. В этом разделе дается макроскопическое описание обнаруженных изменений без постановки диагноза. На основании протокола вскрытия врач патологоанатом дает заключение о причинах смерти с перечислением болезней, приведших к гибели или патологий, сопровождающих основную причину смерти [2, 6].

Данный подход, однако, не всегда применим в научно-исследовательской деятельности, когда животное или группа животных подвергаются плановой эвтаназии. О причинах смерти в патологоанатомическом заключении здесь можно говорить, только если больное животное подвергли эвтаназии из гуманных соображений [1, 3]. Также нужно иметь ввиду, что при одновременном забое большого количества животных, когда их число превышает 100 или 200, врач патологоанатом не всегда в состоянии самостоятельно провести вскрытие трупов. Его основной задачей остается максимально емкое описание обнаруженных патологических изменений, или их отсутствие, что должно найти отражение в протоколе вскрытия. Разработанный с этой целью протокол макроскопического исследования группы лабораторных животных позволяет патоморфологу, проводящему вскрытие, внести достаточное количество сведений по каждому животному, и в то же время не упустить возможность обобщения полученных данных. При составлении данного протокола, мы руководствовались основными принципами, наиболее ценными для любой первичной документации: воз-

## Пример протокола макроскопического исследования

Порядковый № животного в группе, пол ♂/♀	Основные патологоанатомические изменения у одного или нескольких животных
Изменения в месте введения препарата (внутрижелудочно)	
Результаты внешнего осмотра	
1♂, 4♂, 2♀	Геморрагические выделения из носа
Результаты осмотра полостей	
Грудная полость	
4♂, 2♀	Кровянистая жидкость 1-2 мл (гемоторакс)
Брюшная полость	
4♂, 3♀	Серозная жидкость 3-4 мл
Результаты осмотра систем органов	
Дыхательная система	
1♂, 3♂, 2♀, 2♂, 4♂, 3♀	Отек легких
2♂, 4♂, 3♀	Очаговые геморрагии в легких
Сердечно-сосудистая система	
1♂, 4♂, 2♀	Инфаркты миокарда
4♂, 2♀	Гипертрофия миокарда
Пищеварительная система	
1♂, 3♂, 2♀	Расширение желудка
2♂, 4♂, 3♀	Венозное полнокровие печени
2♂, 4♂, 3♀	Гиперемия слизистой желудка
Мочеполовая система	
2♀, 2♂	Ишемия коркового вещества почек
Эндокринная и иммунная системы	
4♂, 3♀	Кровоизлияние в тимус
Нервная система	
1♂, 3♂, 2♀, 2♂, 4♂, 3♀	Отек головного мозга
3♂, 2♀,	Кровоизлияние в эпидуральную оболочку головного мозга
Врач патологоанатом	дата/подпись

возможность заполнения от руки во время эксперимента, максимальная информативность, удобство заполнения и чтения.

Протокол макроскопического исследования группы лабораторных животных (табл. 1) составляется в виде таблицы, на каждую экспериментальную группу, включает 4 основных раздела: изменения в месте введения препарата, результаты внешнего осмотра, результаты осмотра полостей (грудной и брюшной), результаты осмотра систем органов (дыхательной, сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочеполовой, эндокринной, иммунной и

нервной). Обнаруженные во время эвтаназии патоморфологические изменения вписываются патологоанатомом в раздел «Основные патологоанатомические изменения у одного или нескольких животных» (справа). В левой части протокола указываются порядковый номер животного, у которого обнаружены эти изменения, и его пол. Если эти же патоморфологические изменения встречаются в той же группе вновь, то к предыдущему номеру животного приписывается еще один также с указанием пола. После завершения вскрытия трупов животных одной груп-

Таблица 2  
Пример патоморфологического заключения

Характерные патоморфологические изменения	Количество животных в группе имеющих/не имеющих данный признак							
	Гр. №1		Гр. №2		Гр. №3		Гр. №4	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Геморрагические выделения из носа	2/6	1/6	1/6	-	2/6	4/6	1/6	2/6
Отек легких	4/6	2/6	4/6	2/6	5/6	3/6	3/6	2/6
Очаговые геморрагии в легких	2/6	1/6	-	1/6	3/6	3/6	-	2/6
Расширение желудка	2/6	1/6	2/6	1/6	2/6	4/6	-	1/6
Гиперемия слизистой желудка	2/6	1/6	2/6	1/6	-	-	2/6	-
Очаговые геморрагии слизистой желудка	-	-	1/6	-	-	-	2/6	-
Инфаркты миокарда	2/6	1/6	3/6	2/6	2/6	1/6	2/6	1/6
Венозное полнокровие печени	2/6	1/6	1/6	2/6	-	-	2/6	1/6
Отек головного мозга	4/6	2/6	5/6	4/6	4/6	2/6	3/6	4/6
Кровянистая жидкость 1-2 мл (гемоторакс)	1/6	1/6	-	2/6	1/6	1/6	-	-
Фибриновые наложения на брюшине	-	-	2/6	2/6	-	1/6	-	-
Серозная жидкость в брюшной полости 3-4 мл	1/6	1/6	3/6	3/6	1/6	2/6	-	-
Гипертрофия миокарда	1/6	1/6	1/6	-	-	-	3/6	2/6
Ишемия коркового вещества почек	1/6	1/6	-	1/6	1/6	1/6	2/6	2/6
Кровоизлияние в тимус	1/6	1/6	-	2/6	-	-	-	-
Кровоизлияние в эпидуральную оболочку головного мозга	1/6	1/6	1/6	-	-	-	2/6	-
<b>Примечание:</b>								
Врач патологоанатом						дата/подпись		

пы, если патологоанатомические изменения не обнаружены, в пустые графы ставятся прочерки. Затем переходят к этапам и некропсии следующей группы экспериментальных животных. В таком случае патологоанатом не имеет возможность подробно описать каждое изменение, как это принято в классическом протоколе вскрытия, и вынужден давать краткое, но емкое описание той или иной патологии, иногда с указанием патологоанатомического диагноза. Однако он может зафиксировать эти изменения в фото и видеоматериалах, чтобы использовать

их в заключительном патоморфологическом отчете. Данное обстоятельство, отчасти противоречит установленным принципам патологоанатомической диагностики, применяемым в частных случаях, при исследовании отдельных трупов человека или животных. Но вместе с тем, предложенная схема позволяет патоморфологу несмотря на большой объем исследуемого материала своевременно обозначать и систематизировать выявленные морфологические изменения.

На основании данного протокола, по итогам макроскопического исследования

группы экспериментальных животных дается патологоанатомическое заключение (табл. 2). В нем, в отличие от классического заключения, не указываются причины смерти, т.к. они очевидны, а дается полный перечень патологоанатомических изменений, обнаруженных при исследовании всех групп одного эксперимента, с указанием количества животных обоих полов, у которых эти изменения найдены, от общего количества животных в группе. В примечания при необходимости вносятся характерные особенности, степень выраженности патологии.

Протоколы макроскопического исследования, заключение, фото и видеоматериалы и иные документы подвергаются тщательному анализу и статистической обработке, после чего, на их основании, составляется заключительный отчет, в котором дается подробное описание существенных и наиболее значимых патологоанатомических изменений, обнаруженных у животных в эксперименте.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Разработанный нами протокол макроскопического исследования позволяет наиболее полно охватить спектр характерных патологоанатомических изменений в группе экспериментальных животных, и в то же время не упустить индивидуальные патоморфологические изменения. Приведенная нами форма патологоанатомического заключения позволяет наглядно видеть половые и групповые различия в эксперименте, а также обнаружить на их основе статистические различия.

**Features autopsy report of the experimental group of animals.**

**A. Muzhikyan, M. Makarova,  
Y. Gushin.**

#### **ABSTRACTS**

Pathomorphological examination of laboratory animals is one of the most reliable methods for detection of organ and tissues abnormalities. Description of pathomor-

phological changes in tissues and organs in the group of experimental animals is difficult and time-consuming task due to individual variability. To determine the cause of death, especially when the death occurred during the toxicological experiment, it is very important to consider the multiplicity of observed abnormalities. To improve the reliability of the data and to optimize data classification we have developed raw data recording forms for autopsy report. These forms allow collecting original recordings made during the course of the pathomorphological examination of the group of animals. Effective form design makes it easy to complete these forms and analyze data. Final autopsy report is based upon these forms. In contrast to traditional autopsy report, here all observed abnormalities are summarized and calculated within group of animals. These forms for raw data recordings can be successfully used in general macroscopic pathomorphological diagnostics of animals. Using these forms group differences can be easily detected. Samples of the forms for raw data recordings can be applied not only in the practice of pathology, but also in the general animal health diagnostics.

**Key words:** autopsy, necropsy, pathological examination.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Директива N 2010/63/ЕС Европейского парламента и Совета Европейского Союза "По охране животных, используемых в научных целях" от 22.09.2010 (г. Страсбург)
2. Зайратьянц О.В., Кактурский Л.В., Автандилов Г.Г. Правила построения патологоанатомического диагноза, оформления медицинского свидетельства о смерти, сопоставления клинического и патологоанатомического диагнозов в соответствии с требованиями МКБ-10, Методические рекомендации. М 2001- 5с.
3. Каркищенко Н.Н., Грачева С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицине

ских технологиях. Москва, 2010 – 344с.  
4. Кудряшов А.А. патогенез и патологическая анатомия инфекционных болезней собак и кошек. – СПб, 1997 – 122с.  
5. Солохин А.А., Солохин Ю.А. Руководство по судебно-медицинской эксперти-

зе трупа. - М.: РМАПО. 1997 – 264 с.  
6. Федеральный закон «О государственной судебно-экспертной деятельности в Российской Федерации» № 73-ФЗ от 31.05.2001 г. (с изменениями от 30.12.2001 г.)

УДК 615.324

## МЕХАНИЗМ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ПЕЧЕНИ ТРЕСКИ. ИНГИБИРОВАНИЕ ЦОГ-2 И 5-ЛОГ. (СООБЩЕНИЕ №2)

Крышень К.Л.– младший научный сотрудник, Фаустова Н.М.– к.х.н., Пожарицкая О.Н. - к.ф.н., Шиков А.Н.- д.ф.н., профессор, Макарова М.Н.– д.м.н., профессор, Макаров В.Г - д.м.н., профессор, Санкт-Петербургский институт фармации



### РЕФЕРАТ

Химическое и биологическое разнообразие морской среды обитания неосцимемо и потому является уникальным источником для поиска новых фармакологических субстанций. Последние достижения в области технологии и биологического анализа привели к открытию целого ряда соединений, обладающих широким спектром биологической активности. Целью исследования явился анализ взаимодействия пептидно-фосфолипидного комплекса (ПФК), выделенного из печени трески, с ферментами каскада арахидоновой кислоты (АК) циклооксигеназой-1 и 2 (ЦОГ1/2) и 5-липооксигеназой (5-ЛОГ). Ферменты ЦОГ1/2 и 5-ЛОГ катализируют реакции оксигенации полиненасыщенных жирных кислот, главным образом АК, с образованием класса липидных соединений простаноидов, ответственных за инициацию, пролонгацию и завершение воспалительного процесса. Используя коммерческие тест-системы (Cayman Chemicals, USA) было показано, что ПФК ингибировал энзиматическую активность 5-ЛОГ с EC50, равной 16,2 мкг/мл, и ЦОГ2 с EC50, равной 9,8 мкг/мл. При этом, ЦОГ1 ПФК не ингибировал, являясь, таким образом, природным двойным селективным ингибитором ферментов 5-ЛОГ и ЦОГ-2.

**Ключевые слова:** циклооксигеназа-2, 5-липооксигеназа, ω-3 полиненасыщенные жирные кислоты, печень трески.

### ВВЕДЕНИЕ

Ранее показано выраженное противовоспалительное и противоаллергическое действие ветеринарного препарата Афлогилекс, выпускаемого компанией ООО «НПК «Фармасофт», применяемого в лечении в лечении таких заболеваний как эндометриты и маститы у коров [3, 4], контактный дерматит [1] и адьювантный

артрит [2].

Препарат Афлогилекс содержит в своем составе пептидно-фосфолипидный комплекс (ПФК), полученный по оригинальной технологии в соответствии с патентом РФ 2420213 из печени трески (*Gadus morrhua L*). На модели каррагенинового воздушного мешочка у крыс подтверждено антиэкссудативное и противо-



воспалительное действие ПФК, при этом снижение инфильтрации лейкоцитов и уровня простагландина PGF<sub>2α</sub> связано с биологической активностью липидов комплекса.

Одним из возможных механизмов противовоспалительного действия ПФК может быть снижение синтеза простагландинов и лейкотриенов. Простагландины образуются из арахидоновой кислоты под действием ферментов циклооксигеназы 1 и 2 (ЦОГ1 и ЦОГ2), обладают широким биологическим действием, участвуют в нормальном гомеостазе, являются ключевыми медиаторами в развитии воспалительного процесса. В результате действия ЦОГ из арахидоновой кислоты образуется нестабильный простагландин (PG) PGH<sub>2</sub>, который под воздействием различных эндопероксидаз превращается в конечные продукты каскада - PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub> (простациклин) и TXA<sub>2</sub> (тромбоксан A<sub>2</sub>) [12].

Липооксигеназная ферментная система относится к растворимым цитозольным ферментам, она обнаружена в цитоплазме альвеолярных макрофагов, тромбоцитах, тучных клетках и лейкоцитах. Наиболее важным среди ферментов этой системы является 5-липооксигеназа (5-ЛОГ). Конечные метаболиты включают в себя 6 типов лейкотриенов (LT) LTA<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>, LTF<sub>4</sub>. LTB<sub>4</sub> является важным стимулятором активации лейкоцитов (нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов и лимфоцитов), адгезии к эндотелию сосудов и хемотаксиса клеток в зону воспаления, увеличивает проницаемость сосудов. Лейкотриены LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub> и LTF<sub>4</sub> образуются из нестабильного LTA<sub>4</sub> и при воспалении усиливают хемотаксис лимфоцитов и эозинофилов [11].

Ферменты ЦОГ1, ЦОГ2 и 5-ЛОГ, по-прежнему, являются перспективными мишенями для поиска новых противовоспалительных средств. Целью работы яви-

лась оценка влияния ПФК на энзиматическую активность двух изоформ циклооксигеназы (ЦОГ-1 и ЦОГ-2), что имеет важное значение с точки зрения селективности, а также на активность фермента 5-липооксигеназы.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

#### *Оценка влияния на энзиматическую активность 5-ЛОГ*

Исследование влияния ПФК на энзиматическую активность 5-ЛОГ проводили в конечных концентрациях 100; 50; 25; 12,5; 6,75; 3,375 и 1,69 мкг/мл с использованием набора Lipoxygenase Inhibitor Screening Assay Kit (Cayman Chemical, USA) и очищенной 5-ЛОГ картофеля (Cayman Chemical, USA). В качестве позитивного контроля использовали неселективный ингибитор 5-ЛОГ – NDGA (Nordihydroguaiaretic acid, Cayman Chemicals, USA) в конечной концентрации 15 мкМ (IC<sub>50</sub> по данным производителя тест-системы Cayman Chemicals). В качестве отрицательного контроля использовали растворитель 5% диметилсульфоксид.

С помощью тест-системы оценивали количество гидропероксидов, продуцируемых в реакции липооксигенации. Образцы исследовали в четырех повторностях. Реакцию проводили при комнатной температуре на орбитальном шейкере (Immochem 1100, USA). Время инкубации неселективного ингибитора NDGA/ПФКа с 5-ЛОГ (фермент) и линоленовой кислотой (субстрат) составляло 10 минут. Энзиматический катализ останавливали внесением хромогена. Через 5 минут инкубации проводили измерение оптической плотности при длине волны 490 нм на планшетном спектрофотометре xMark (BioRad, США). После регистрации оптической плотности вычисляли % ингибирования фермента.

#### *Оценка влияния на энзиматическую активность циклооксигеназы 1 и 2*

Исследование влияния ПФК на энзи-

матическую активность ЦОГ1 и ЦОГ2 проводили с использованием набора COX inhibitor screening assay kit (Cayman Chemicals, USA) в соответствии с инструкцией производителя. Тест-система включает телячью ЦОГ1 и человеческую рекомбинантную ЦОГ2, позволяя тем самым определять активность тестируемых субстанций в отношении обоих ферментов.

В отношении ЦОГ1 ПФК изучали в концентрациях 20, 10, 5 мкг/мл, в отношении ЦОГ2 в концентрациях 25, 20, 15, 10 и 1 мкг/мл. В качестве позитивного контроля для фермента ЦОГ1 использовали селективный ингибитор - SC-560 (Cayman Chemicals, USA) в концентрации 0,1 мкМ. Для ЦОГ2 использовали селективный ингибитор нифлумовую кислоту (Cayman Chemicals, USA) в концентрации 0,1 мкМ. В качестве отрицательного контроля использовали растворитель 5% диметилсульфоксид. В ходе ферментативной реакции циклооксигеназы и арахидоновой кислоты формируется нестабильный продукт PGH<sub>2</sub>. С помощью иммуноферментного анализа определяли количество простагландина F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), который образуется после редукции хлоридом олова (SnCl<sub>2</sub>) нестабильного простагландина PGH<sub>2</sub>. Оптическую плотность образцов измеряли при длине волны 405 нм на планшетном спектрофотометре xMark (BioRad, США). После снятия оптической плотности вычисляли % ингибирования фермента.

#### Статистическая обработка результатов

Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Статистика 6.0 (StatSoft, США). Вычисление EC<sub>50</sub> и аппроксимацию графиков производили при помощи программы ORIGIN 4.1 (OriginLab Corporation, USA).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Оценка влияния ПФК на ферментативную активность 5-липооксигеназы

На рисунке 1 приведен график зависимости % ингибирования фермента 5-липооксигеназы от концентрации ПФК.

Ингибитор NDGA в концентрации 15 мкМ проявил ингибирующую активность в отношении 5-ЛОГ на 71%. В минимальной концентрации 1,69 мкг/мл ПФК обладал нулевой ингибирующей активностью. С увеличением концентрации процент ингибирования повышался дозозависимо и выходил на плато на уровне 64% ингибирования. Вычисленное EC<sub>50</sub> (50% ингибирующей активности) составило 16,2 мкг/мл.

### Оценка влияния ПФК на ферментативную активность циклооксигеназы-1

Селективный ингибитор SC-560 в конечной концентрации 0,1 мкМ подавлял активность ЦОГ1 на 32%. В концентрациях ПФКа 5, 10 и 20 мкг/мл ингибирования ЦОГ1 обнаружено не было.

### Оценка влияния ПФК на ферментативную активность циклооксигеназы-2

В ходе эксперимента определяли количество простагландина PGF<sub>2α</sub>, образовавшегося из простагландина H<sub>2</sub>, продуцируемого в ходе каталитической реак-

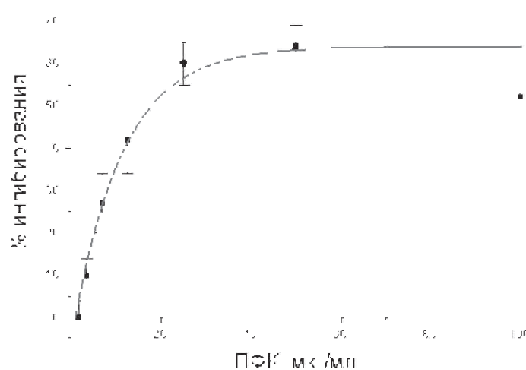


Рис. 1. Ингибирование 5-ЛОГ в зависимости от концентрации ПФК

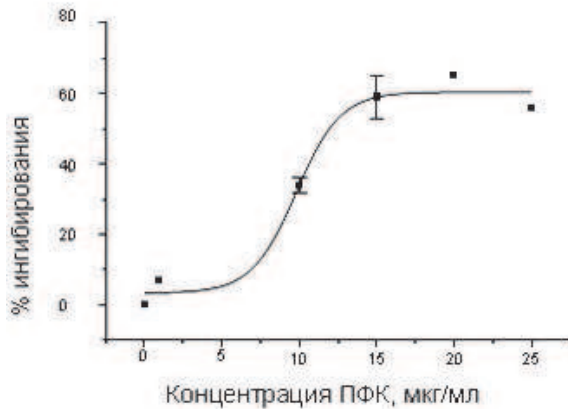


Рис. 2. Ингибирование фермента ЦОГ2 в зависимости от концентрации ПФК

ции с участием ЦОГ2, и вычисляли энзиматическую активность фермента ЦОГ2 в исследуемых образцах. Вычисляли процент активности ЦОГ2 в образцах по сравнению с контролем (интактная ЦОГ2). Результаты эксперимента приведены на рисунке 2.

ПФК ингибировал активность фермента ЦОГ2 дозозависимо, при этом полного ингибирования фермента достигнуто не было. Кривая имела сигмоидный вид с выходом на плато на уровне 60% ингибирования в концентрациях 15-25 мкг/мл. По уровню аппроксимирующей кривой вычисляли EC50 (50% ингибирующей активности), равное 9,8 мкг/мл.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Классические НПВС, такие как аспирин, индометацин, диклофенак, ассоциируются с высокой частотой побочных эффектов за счет неселективного угнетения ЦОГ-1. Наиболее часто побочные эффекты классических НПВС развиваются со стороны желудочно-кишечного тракта - гастропатии и желудочно-кишечные расстройства. Это связано с тормозящим действием НПВС на ЦОГ1 в слизистой оболочке и снижением синтеза гастропротективных простагландинов (в

частности PGE<sub>2</sub>), что приводит к уменьшению секреции слизи, повышению кислотности желудочного содержимого и увеличению проницаемости клеточных мембран [13; 7]. Ингибирование ЦОГ классическими НПВС сдвигает баланс в сторону биосинтеза лейкотриенов, что может приводить к сокращению гладкой мускулатуры и бронхоспазму [9;10].

Перспективы использования двойных ингибиторов 5-ЛОГ и ЦОГ2 обсуждают с конца 90-х годов. Показано, что двойное ингибирование 5-ЛОГ и ЦОГ приводит к усилению и расширению противовоспалительных эффектов, связанных с выработкой основных форм лейкотриенов и простагландинов, а также снижению побочных эффектов [8,9]. В настоящее время двойные ингибиторы наравне с остальными НПВС широко используются для лечения воспалительных заболеваний. К ним относится препарат ликофелон (licofelone), предназначенный для лечения остеоартрита [6].

Результаты проведенного исследования демонстрируют, что пептидно-фосфолипидный комплекс, выделенный из печени трески, ингибировал энзиматическую активность 5-ЛОГ с EC50, равной 16,2 мкг/мл, и ЦОГ2 с EC50, равной 9,8 мкг/мл. При этом, ЦОГ1 ПФК не ингибировал, являясь, таким образом, двойным селективным ингибитором ферментов 5-ЛОГ и ЦОГ2.

#### **Anti-inflammatory mechanisms of complex derived from the Cod liver. 5-LOX and COX-2 inhibition.**

Kryshen K.L., Faustova N.M., Pozharitskaya O.N., Shikov A.N., Makarova M.N., Makarov V.G.

#### **ABSTRACT**

The chemical and biological diversity of the marine environment is immeasurable and therefore is an extraordinary resource for the

discovery of new drugs. Recent technological and methodologic advances in structure elucidation, organic synthesis, and biological assay have resulted in the isolation and clinical evaluation of various novel agents with various activities. The aim of the study was to evaluate the inhibitory potential of peptide-phospholipid complex (ППНС) obtained from the cod liver with enzymes of arachidonic acid (AA) cascade. Cyclooxygenase (COX) and lipoxygenase (LOX) are lipid metabolising enzymes that catalyse the oxygenation of polyunsaturated fatty acids, referably AA, to form the prostanoids, which are potent cell-signalling molecules associated with the initiation, maintenance and resolution of inflammatory processes. Using the commercial COX and LOX inhibitor screening assay kits (Cayman Chemicals, USA ) it was shown that lipid extract inhibited the COX-2 with IC<sub>50</sub> = 9,8 µg/ml and 5-LOX with IC<sub>50</sub> = 16,2 µg/ml. Thus the PPHC is a new natural dual inhibitor of COX-2 and 5-LOX enzymes.

**Key words:** cyclooxygenase-2, 5-lipoxygenase, ω-3 polyunsaturated fatty acids, cod liver.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Крышень К.Л., Демченко Д.В., Рыбакова А.В., Дадали В.А., Рыдловская А.В., Пожарицкая О.Н., Макарова М.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г. Оценка противоаллергенных свойств нового полипептидного препарата из печени тресковых // Эксперим. и клин. дерматокосметология. 2012. № 2. С. 38-42.
2. Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Соколов В.Д. Изучение противовоспалительной активности нового ветеринарного препарата афлогилекс на модели экспериментального адьювантного артрита // Международный вестник ветеринарии. 2012. №1. С. 39-43.
3. Рыбакова А.В., Демченко Д.В., Макарова М.Н., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г., Забозлаев А.А., Романов М.Г. Применение Афлогилекса для лечения коров с маститами различной этиологии // Ветеринария. 2012. № 1. С. 35-38.
4. Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Макарова М.Н., Соколов В.Д. Сравнительная оценка эффективности полипептидного препарата при эндометритах коров // Межд. вестник ветеринарии. 2012. № 4. С. 38-41.
5. Шиков А.Н., Пожарицкая О.Н., Уракова И.Н., Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Макаров, В.Г. Новые технологии переработки гидробионтов // Фарм. и мед. биотех. Биотехнология: состояние и перспективы развития. Москва. 2012. С. 385.
6. Alvaro-Gracia J.M. Licofelone--clinical update on a novel LOX/COX inhibitor for the treatment of osteoarthritis // Rheumatology. 2004. Vol.43. p.21-25;
7. Bertolini A. et al. Dual acting anti-inflammatory drugs: a reappraisal pharmacological research // Pharm. Res. 2001. Vol. 44. p.437-450;
8. Celotti F., Laufer S. Anti-inflammatory drugs: new multitarget compounds to face an old problem. The dual inhibition concept // Phar. Res. 2001. Vol.43. p.429-436;
9. Charlier C., Michaux C. Dual inhibition of COX-2 and 5-LOX as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs // Eur. J. of Med. Chem. 2003. Vol.38. p.645-659;
10. Gilroy D.W. et al. Differential effects of inhibitors of cyclooxygenase in acute inflammation // Eur. J. Pharm. 1998. Vol. 355. p. 211-217.
11. Holgate S.T. et al. Roles of cysteinyl leukotrienes in airway inflammation, smooth muscle function, and remodeling // J. Allergy Clin Immunol. 2003. Vol.111 p.18-34;
12. Funk C.D. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology / Science. 2001. Vol.294. p.1871-1875;
13. Kumar K.A. High-through screening assays for COX-2 and 5-LOX, the targets for inflammatory disorders// In. J. of Biochem. and Bioph. 2011. Vol.48. p.256-261.

## РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОЦЕНКЕ ИММУНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ. ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ

Касторнова А.Е. - младший научный сотрудник, Коротченко Е.С. - младший научный сотрудник, Крышень К.Л. - младший научный сотрудник, Ацапкина А.А. - младший научный сотрудник, Бекетова Д.Д. - младший научный сотрудник, Макарова М.Н. - д.м.н., профессор, Санкт-Петербургский институт фармации



### РЕФЕРАТ

Одним из этапов изучения иммунотоксических свойств новых лекарственных средств является оценка влияния на неспецифическое звено иммунного ответа, где макрофаги играют первостепенную роль. Целью проведенного исследования явилась отработка условий проведения анализа фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мыши с использованием флуоресцентных частиц латекса. Для выделения максимального количества макрофагов использовали внутрибрюшинное введение 3% тиогликолевой среды. Через 5 суток производили забор экссудата, макрофаги выделяли, используя их способность к адгезии. Фагоцитоз проводили с частицами латекса диаметром 1 мкм, конъюгированных с FITC в условиях разного времени инкубации от 30 до 150 минут. В ходе исследования было установлено, что оптимальное время экспозиции с частицами латекса составляет 120-150 минут. Рассчитанный индекс фагоцитоза был равен 1,14-1,26. В проведенном исследовании цитохалазин D снижал индекс фагоцитоза практически до 0. Таким образом, представленная методология в дальнейшем может быть использована для оценки фагоцитарной активности макрофагов при изучении неспецифического звена иммунного ответа и иммунотоксических или иммуномодулирующих свойств новых лекарственных средств и субстанций.

**Ключевые слова:** перитонеальные макрофаги, фагоцитарная активность, фагоцитоз, латексные частицы, цитохалазин D.

### ВВЕДЕНИЕ

Под иммунотоксическим действием традиционно понимают модифицирующее влияние ксенобиотиков и лекарственных средств на иммуногенез, включая иммуносупрессию и гиперстимуляцию иммунитета, способное привести к снижению резистентности организма к инфекции, повышению риска онкологических заболеваний, развитию аутоиммунной патологии и аллергизации организма. Одним из этапов оценки иммунотоксических свойств является оценка влияния

лекарственных средств на неспецифическое звено иммунного ответа [1].

Макрофаги играют первостепенную роль в развитии неспецифического иммунитета. Способность макрофагов к фагоцитозу чужеродных агентов является их основным свойством и показателем активности. Так, противоопухолевые препараты могут подавлять фагоцитоз макрофагов, а иммуностимуляторы повышать [2,3,4].

Процесс поглощения включает в себя несколько событий — опсонизация

(мечение антигена белками комплемента или антителами сыворотки), клеточное узнавание и адгезия частиц на поверхности клеток через рецепторный аппарат и рецептор-опосредованный захват частицы [5].

Существуют множество способов для оценки фагоцитарной активности, где в качестве чужеродных агентов выступают эритроциты барана [6], частицы латекса [7], частицы зимозана [8], дрожжи [9] и бактерии [10].

Современные методы исследования основаны на поглощении макрофагами чужеродных агентов, конъюгированных с флуоресцентной меткой, и анализом с использованием проточной цитометрии [11], спектрофлуориметрии [12] и флуоресцентной микроскопии [13].

Целью исследования явилась отработка условий проведения анализа фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мыши с использованием флуоресцентных частиц латекса.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

### *Животные*

Исследование проводили на самцах аутбредных мышей из питомника лабораторных животных «Рапполово». Масса животных к началу исследования составляла 20-22г. Период акклиматизации составлял 14 дней. Животных в течение всего эксперимента кормили комбикормом ПК-120-1, приготовленным по ГОСТ Р 50258-92. Животные получали воду и корм *ad libitum*. Световой режим составлял 12 часов света и 12 часов темноты, температура и влажность соответствовала нормам для вивария.

### *Выделение макрофагов*

Из перитонеальной области мыши можно выделить 0,5-1 миллиона резидентных макрофагов, составляющих порядка 50-70% всей клеточной популяции, постоянно присутствующих в брюшной полости [15].

Поскольку для проведения исследова-

ний функциональной активности фагоцитов требуется большое количество клеток, в экспериментальной фармакологии чаще используют макрофаги, полученные после введения раздражителя 3% тиогликолевой среды [23,24].

В задачи исследования входило определить количество клеток в экссудате после внутрибрюшинного введения мышам 3% тиогликолевой среды в сравнении с внутрибрюшинным введением физиологического раствора. Для этого было сформировано две группы животных по 6 голов. 1 группе произвели однократное внутрибрюшинное введение 3 мл 3% тиогликолевой среды; 2 группе - однократное внутрибрюшинное введение 3 мл физ. раствора. Забор экссудата выполнялся на 5 сутки.

В исследовании использовали 3% тиогликолевую среду (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Россия) со сроком хранения более трех месяцев. Обусловлено это тем, что при длительном хранении образуется больше продуктов гликирования, которые вызывают воспаление брюшной полости [14].

Мышам вводили внутрибрюшинно 3% тиогликолевую среду и физиологический раствор (Мосфарм, Россия) в объеме 3 мл. Через 5 суток проводили забор перитонеального экссудата в стерильных условиях в соответствии с методикой Naworth et al. [15] с некоторыми модификациями.

Брюшную стенку животного смачивали 70% этанолом, затем аккуратно срезали кожу и вводили 15 мл физиологического раствора. После лёгкого массажа брюшной полости собирали перитонеальный экссудат в стерильные пробирки и центрифугировали в течение 10 минут при 300g и комнатной температуре (рисунок 1).

Супернант сливали, а осадок ресуспензировали в полной среде (ПС) RPMI-1640 (БиоЛот, Россия), содержащей 10%



Рис. 1. Забор перитонеального экссудата

сыворотки эмбрионов коров (HyClone, США), 50 мкг стрептомицина и 50IU пенициллина (Биолот, Россия). Общее количество лейкоцитов определяли в камере Горяева. Процентное соотношение макрофагов, гранулоцитов и лимфоцитов оценивали в мазках, приготовленных по Романовскому-Гимза.

Для выделения макрофагов из общей суспензии клеток использовали их способность к адгезии [16]. Так, суспензию клеток в ПС инкубировали в чашках Петри диаметром 9 см (JetBiofil, Китай) с помещёнными на дно покровными стёклами 24x32 мм 0.13-0.16 мм (Biovitrum, Россия) в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °C и 5% CO<sub>2</sub> в течение 2 часов.

После процедуры культуральная среда с неадгезированными клетками сливалась, а чашки Петри тщательно промывали в стерильных условиях физиологическим раствором.

Таким образом, на покровных стеклах получали чистую популяцию клеток, состоящую из 100% перитонеальных макро-

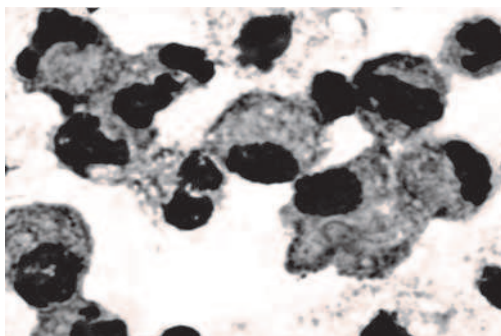


Рис. 2. Макрофаги мыши после проведения адгезии. Окраска Гематоксилин-Эозином. Увеличение 100x

фагов (рисунок 2).

#### Проведение анализа фагоцитарной активности

В качестве частиц для фагоцитоза использовали частицы латекса, диаметром 1 мкм и конъюгированных с FITC (Fluorescein Isothiocyanate, Sigma-Aldrich, США).

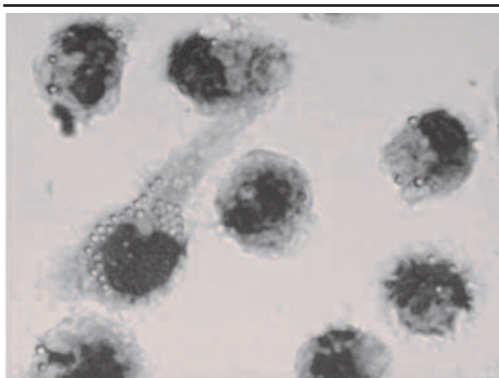
Для облегчения рецептор-опосредованного фагоцитоза проводили опсонизацию в соответствии с методом, описанным Shiratsuchi et al. [17]. Так, 50 мкл раствора частиц латекса ( $\approx 1 \times 10^{10}$  / мл) добавляли к 950 мкл неинактивированной сыворотки эмбрионов коров и инкубировали в течение 60 минут при температуре 37° C.

Готовили среду (ПС2), содержащую RPMI-1640, 10% сыворотки, 50 мкг стрептомицина и 50 IU пенициллина, коллоидный раствор частиц латекса. Частицы латекса добавляли в объеме из расчета, что на каждую чашку Петри приходится  $10^9$  частиц.

Адгезированные макрофаги инкубировали в ПС2 с частицами латекса в течение 30, 60, 90, 120 и 150 минут при 37° C и 5% CO<sub>2</sub>. После окончания инкубации культуральную среду сливали и несколько раз тщательно промывали чашки Петри. После этого высушивали покровные стекла.

Для подтверждения достоверности проведения анализа использовали ингибитор фагоцитарной активности макрофагов цитохалазин D (Sigma-Aldrich, США), который добавляли в соответствующие чашки Петри в концентрации 10 мкМ [18].

Подсчет количества поглощенных частиц осуществляли с использованием флуоресцентного микроскопа AxuoS-core.A1 с фильтрами Filter set 09 (Carl Zeiss, Германия). Фагоцитарную активность выражали в виде индекса (Иф), равного процентному соотношению количества поглощенных частиц на 100 макрофагов (рисунок 3).



В проходящем свете, увеличение 1000х



В режиме флуоресценции (поглощение 495 нм, испускание 517 нм), увеличение 1000х

Рис. 3. Латексные частицы, поглощенные макрофагами после 150 минут инкубации

Перед анализом для устранения флуоресценции частиц, оказавшихся не внутри, а снаружи клеток, в чашки Петри добавляли раствор трипанового синего (0,8 мг/мл) на 1 минуту.

Поскольку трипановый синий поглощает свет на длинах волн от 475-675 нм, а FITC на 517 нм, частицы, не поглощенные макрофагами, перестают испускать свет соответствующей длины волны [19].

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

У животных интактной группы из брюшной полости выделили  $0,5 \pm 0,1$  млн клеток/мл. При этом, 44% клеточной популяции экссудата составляли резидентные макрофаги.

У животных, которым за пять суток до забора экссудата была введена внутривентриально 3% тиогликолевая среда, общее количество лейкоцитов было в 6,6 раза больше ( $3,3 \pm 0,8$  млн/мл), а содержание макрофагов 64%.

Объем забираемого экссудата составлял 15 мл. Таким образом, общее количество клеток, выделяемых у интактной группы составляло 7,5 млн, из них 3,3 млн макрофаги. В то же время, после введения тиогликолевой среды общее количество клеток составило в среднем 49,5 млн., из них 32 млн. макрофаги (таблица 2).

Оценка фагоцитарной активности макрофагов в условиях разного времени инкубирования с латексными частицами показала, что на сроках от 30-60 минут количество поглощенных частиц составляет 4-18 на 100 макрофагов (Иф=0,04-0,18) (рисунок 4).

На этих сроках встречаются отдельные макрофаги, поглотившие от 1-2 частиц. При 90 минутах инкубации количество частиц составило в среднем 59 на 100 макрофагов (Иф=0,59). На сроках от 120 до 150 минут количество частиц составило 114-126 частиц (Иф=1,14-1,26), при этом отдельные макрофаги поглощали от 5-15 частиц латекса (рисунок 3).

При дальнейшей постановке экспериментов нужно учитывать, что индекс фагоцитоза в зависимости от действия препарата может быть как снижен, так и увеличен (ингибирование или активация фагоцитарной функции). Так, из диаграммы на рисунке 4 видно, что ингибитор сборки микротрубочек цитохалазин D в концентрации 10 мкМ ингибировал индекс фагоцитоза практически до 0. Таким образом, время инкубирования с частицами латекса должно быть не менее 120 минут.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Для увеличения количества выделяемых макрофагов использовали индуктор



Таблица 2

Результаты выделения макрофагов

Группа	Животное №	Общее количество лейкоцитов (млн/мл)	Лимфоциты (%)	Моноциты (%)	Нейтрофилы (%)
Физиологический раствор	1	0,6	41	54	5
	2	0,3	56	43	1
	3	0,5	45	48	7
	4	0,2	66	29	5
	5	0,8	35	60	5
	6	0,5	64	29	7
M±m		0,5 ± 0,1	51,2 ± 5,2	43,8 ± 5,2	5,0 ± 0,9
3% тиогликолевая среда	1	4,3	8	70	22
	2	2,5	10	55	35
	3	1,8	24	64	9
	4	6,7	20	70	8
	5	3,4	22	68	10
	6	1,3	19	57	24
M±m		3,3 ± 0,8	17,2 ± 2,7	64,0 ± 2,7	18,0 ± 4,4

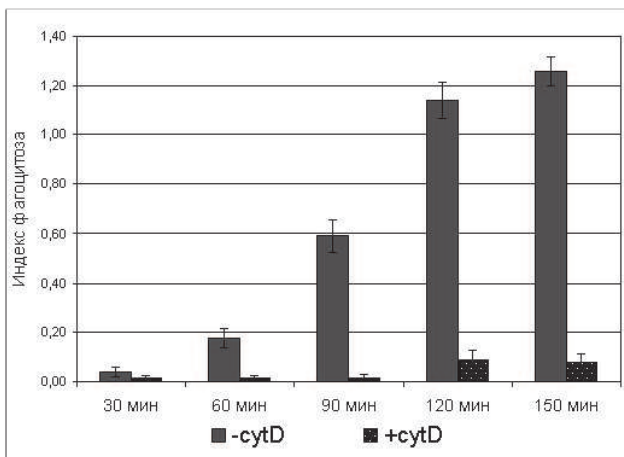


Рис. 4. Индекс фагоцитоза в зависимости от времени экспозиции с латексными частицами.

перитонеального воспаления 3% тиогликолевую микробиологическую среду. После внутрибрюшинного введения среды общее количество лейкоцитов в экссудате через 5 суток составило в среднем 49,5 млн., из них 32 млн. макрофаги, что в 10 раз больше, чем после введения физиологического раствора.

По фенотипу выделенные макрофаги

отличаются от резидентных, которые постоянно присутствуют в брюшной полости. В частности, у них более выражены фагоцитарная активность, респираторный взрыв, синтез и секреция цитокинов в ответ на воспалительные агенты [16].

Использование способности макрофагов к адгезии позволило выделить чистую популяцию клеток из перитонеального экссудата. Далее изучали фагоцитарную активность макрофагов по поглощению частиц латекса диаметром 1 мкм, конъюгированных с FITC.

При выборе частиц латекса для анализа особое внимание необходимо обращать на размер частиц и их влияние на визуализацию флуоресценции. Так, частицы латекса диаметром 1-3 мкм будут хорошо различимы при микроскопии, а если использовать частицы с большим диаметром, то визуализация отдельных частиц внутри фагоцита будет затруднена или вообще невозможна [5]. В зарубеж-

ной литературе для оценки фагоцитарной активности чаще всего используются частицы диаметром 1 мкм [21] и 2 мкм [22].

Одним из ключевых моментов при проведении анализа является время инкубирования с латексными частицами. В ходе исследования было установлено, что оптимальное время экспозиции с частицами латекса составляет 120-150 минут. Рассчитанный индекс фагоцитоза был равен 1,14-1,26.

Для подтверждения применимости выбранной методологии в исследованиях иммуотоксических свойств использовали ингибитор фагоцитарной активности цитохалазин D в концентрации 10 мкМ, который широко используется в экспериментах по изучению фагоцитоза [18]. В проведенном исследовании цитохалазин D снижал индекс практически до 0.

Таким образом, представленная методология в дальнейшем может быть использована для оценки фагоцитарной активности макрофагов при изучении неспецифического звена иммунного ответа и иммуотоксических или иммуномодулирующих свойств новых лекарственных средств и субстанций.

**Practical guidance for immunotoxicity of new medications. Phagocytic activity of peritoneal macrophages.**

**A.E. Kastornova, E.S. Korotchenko, K.L. Kryshen, A.A. Atsapkina, D.D. Beke-tova, M.N. Makarova.**

#### **ABSTRACT**

Innate immune response evaluation is one of the immunotoxicity studies of new medications. Macrophages play the key role in the innate immunity. Aim of the present study was to determine the experiment parameters of mice peritoneal macrophage phagocytosis with fluorescent latex beads. Intraperitoneal injection of 3% thyoglycollate medium was used to isolate a maximal count of macrophages. The lavage was harvested in 5 days after the stimulation. The macrophages were elicited using the adhesion. To

evaluate phagocytic activity, we used latex beads, diameter 1  $\mu\text{m}$  and conjugated with FITC. The incubation time periods were from 30 to 150 minutes. Calculated phagocytosis index varied from 1,14 to 1,26 and it averaged almost 0 with the use of cytochalasin D in 10  $\mu\text{M}$ . So, the present methodology could be further applied to evaluation of peritoneal macrophages phagocytosis activity to study non-specific immune response and immunomodulating properties of new medicines (drugs) and substances.

**Key words:** peritoneal macrophages, phagocytic activity, phagocytosis, latex beads, cytochalasin D.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К. 2012. С. 944.
2. Daemen T. et al. Liposomal doxorubicin-induced toxicity: Depletion and impairment of phagocytic activity of liver macrophages // Intern. J. of Cancer. 1995. Vol. 61. P. 716-721;
3. Lu Y. et al. Immunomodulatory activity of aqueous extract of *Actinidia macrosperma* // Asia Pac J Clin Nutr. 2007. Vol. 16. P. 261-265;
4. Harvath L., Terle D.A. Assay for Phagocytosis // Humana Press Inc., Methods in Molecular Biology: Immunocytochemical Meth. and Protocols. 1999. p.281-290;
5. Steinkamp J. A. et al. Phagocytosis: flow cytometric quantitation with fluorescent microspheres // Sc. 1981. Vol.215. p.64-66;
6. Kim J. et al. A Regulates Binding and Phagocytosis of Serum Opsonized Zymosan Particles in Macrophages // Kor. J. Gerontol. 2005. Vol. 15. p.23-28;
7. Cash J. et al. peptides promote phag. in a ChemR23- and Syk-Dependent Manner // The J. of Immun. 2010. Vol.184. p.5315-5324;
8. Li Y. et al. Glycation products in aged thioglycollate medium enhance the elicitation of peritoneal macrophages // J. of Im-

- mun. Meth.. 1997. Vol.201. p.183–188;
9. Haworth R. Isolation and measuring the function of professional phagocytes: murine macrophages, in Meth. in Microbiol.// Acad., L., 1998. Vol. 25, pp. 287-311;
10. John Q., Gordon S. Isolation and Culture of Murine Macrophages // Meth. in Molec. Biol., vol. 290. 1997. p.91 -103;
11. Shiratsuchi H. et al. Extracellular pressure stimulates macrophage phagocytosis by inhibiting a pathway involving FAK and ERK // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2004. Vol.286. p.1358–1366;
12. Beletskii A. High-throughput phagocytosis assay utilizing a pH-sensitive fluorescent dye // BioTech. 2005. Vol. 39(6). p.894-897;
13. Wang R. et al. Exogenous heat shock protein 70 binds macrophage lipid raft microdomain and stimulates phagocytosis, processing, and MHC-II presentation of antigens // Blood. 2006. Vol.107. p.1636-1642;
14. Drevets D.A. et al. Macrophage phagocytosis: use of fluorescence microscopy to distinguish between extracellular and intracellular bacteria // J. of Immun. Meth. 1991.Vol.142. p.31-38;
15. Silverpil E. et al. Impact of Interleukin-17 on Macrophage Phagocytosis of Apoptotic Neutrophils and Particles // Inflamm. 2011. Vol. 34. p.1-9;
16. Seyrantepe V. et al. Regulation of Phagocytosis in Macrophages by Neuraminidase // The j. of boil. chem. 2010. Vol.285 (1). p.206–215.
17. Kang N.S. et al. Modulation of macrophage function activity by ethanolic extract of larvae of *Holotrichia diomphalia* // J. of Ethnopharm. Vol. 79. 2002. P. 89–94 .

УДК 615.324

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СОСТОЯНИЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА

Ацапкина А.А. - младший научный сотрудник, Крышень К.Л. - младший научный сотрудник, Касторнова А.Е. - младший научный сотрудник, Макарова М.Н. - д.м.н., профессор, Макаров В.Г. - д.м.н., профессор, Санкт-Петербургский институт фармации



### РЕФЕРАТ

Реакция гиперчувствительности немедленного типа индуцируется специфическими антигенами (аллергенами), имеет все признаки нормального гуморального ответа и часто характеризуется обструкцией дыхательных путей. Наличие воспаления дыхательных путей и гиперреактивность является еще одним проявлением этого заболевания. Широко используются модели гиперчувствительности немедленного типа на лабораторных животных, позволяющие воспроизводить острые спастические ответы дыхательных путей, гиперреактивность дыхательных путей, позднюю и раннюю фазу иммунологического ответа. Для экспериментальной постановки реакции наиболее часто используют лабораторных мышей, крыс и морских свинок. Многочисленные параметры могут быть определены у лабораторных животных, включая иммуноглобулин Е (IgE), легочную эозинофилию, сокращение диафрагмы. Следует отметить, что для подтверждения развития гиперчувствительности немедленного типа необходима комбинация соответствующих параметров. Модели на морских свинках применяют более 90 лет, что внесло большой вклад в представление о физиологических и иммунологических процессах аллергии. В обзоре рассматриваются иммунологические особенности разных видов

лабораторных животных, преимущества и недостатки их использования при моделировании патологии гиперчувствительности немедленного типа.

**Ключевые слова:** гиперчувствительность немедленного типа, бронхиальная астма, лабораторные животные, морские свинки, мыши, крысы.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Гиперчувствительность немедленного типа лежит в основе развития анафилактического шока, бронхиальной астмы, лекарственной аллергии и других патологических реакций иммунной системы человека.

Классическое развитие реакции гиперчувствительности немедленного типа соответствует механизму развития гуморальной иммунной реакции и включает этапы распознавания аллергена, его процессинг и презентацию, кооперацию Т- и В-лимфоцитов, закономерным итогом которых является формирование клона антителообразующих клеток иммунной «памяти» [Попов Н.Н., Куринная Е.Г., 2002].

Единственным отличием этого типа реакций от гуморальных реакций других типов является продукция специфических иммуноглобулинов класса Е. Особенностью этого класса иммуноглобулинов является их высокая аффинность к Fc рецепторам тучных клеток и базофилов крови [Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А. Иммунология, 1999]

Бронхиальная астма (БА), основным патогенетическим механизмом которой является гиперчувствительность немедленного типа, проявляется гиперреактивностью бронхов с последующим бронхоспазмом, гиперсекрецией и отёком слизистой оболочки бронхов [Денисов, 2004].

Для оценки эффективности новых фармакологических средств широко используются модели бронхиальной астмы с использованием лабораторных животных, позволяющие воспроизводить острые спастические ответы дыхательных путей, гиперреактивность дыхательных путей, позднюю и раннюю фазу иммунологического ответа [Karol MN et al.,

1987].

В обзоре рассматриваются иммунологические особенности разных видов лабораторных животных, преимущества и недостатки их использования при моделировании патологии гиперчувствительности немедленного типа.

### **Иммунные механизмы развития бронхиальной астмы**

В развитии бронхиальной астмы выделяют три стадии – стадия сенсибилизации, ранняя и поздняя фазы аллергического ответа. При первичном контакте организма с аллергеном (стадия сенсибилизация) последний контактирует с дендритными клетками (антиген-презентирующие клетки), образуя комплекс, который мигрирует в региональные лимфатические узлы, где в паракортикальной зоне происходит дифференцировка и пролиферация Т-хелперов-2 с последующим образованием В-клеток памяти, синтезирующих антиген-специфические IgE (рис. 1) [Larche M., 2006].

Синтезируемые В-лимфоцитами специфические IgE-антитела путем взаимодействия с высокоаффинными рецепторами (FcεRI) тучных клеток и базофилов фиксируются на их поверхности, что приводит к дегрануляции тучных клеток и базофилов с выбросом химических медиаторов гистамина, брадикинина, лейкотриенов, простагландинов и др. [Larche M., 2006].

Так, выделяемый тучными клетками гистамин через H1-рецепторы вызывает бронхоспазм, повышение проницаемости сосудов, отек слизистой оболочки дыхательных путей, стимулирует секрецию слизи. Наряду с гистамином в развитии ранней фазы аллергического ответа принимают участие липидные медиаторы (LTC4, LTD4, LTE4, LTB4), синтезируе-

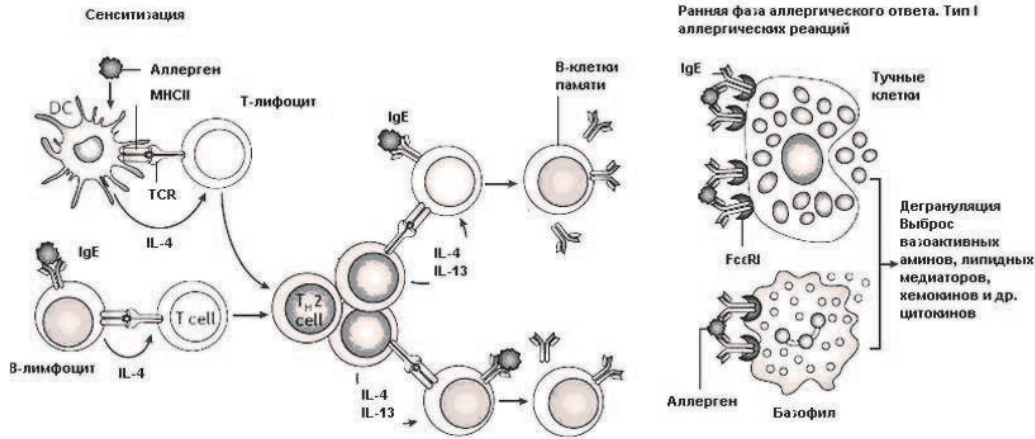


Рис. 1. Иммунологические механизмы развития бронхиальной астмы в соответствии с Larche M. 2006. Сенсибилизация и ранняя фаза аллергического ответа

мые из арахидоновой кислоты под действием фермента липооксигеназы. Лейкотриены LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub> повышают проницаемость капилляров, увеличивают адгезию нейтрофилов к эндотелию сосудов, вызывают бронхоконстрикцию, оказывают хемотаксический эффект на эозинофилы и нейтрофилы. Липидные медиаторы, секретируемые тучными клетками и базофилами, индуцируют развитие ранней фазы аллергического ответа в виде острого воспаления бронхов, проявляемого возникновением симптомов бронхиальной астмы (бронхоспазма, отека слизистой оболочки, гиперсекреции слизи) [Балаболкин И.И. и др., 2006].

Поздняя фаза аллергического ответа связана с аллергическим воспалением, которое достигает пика через 6-9 часов после встречи с антигеном (рис. 2) [Larche M., 2006].

Отличительным признаком аллергического воспаления является наличие инфильтрации поражаемой ткани эозинофилами, базофилами и лимфоцитами. В развитии аллергического воспаления участвуют макрофаги, моноциты, тучные и эпителиальные клетки, тромбоциты, нейтрофилы, фибробласты. Миграция провоспалительных клеток из сосудистого

русла в межклеточное пространство осуществляется под воздействием хемотаксических факторов (IL-5, IL-8, RANTES, LTB<sub>4</sub>) [Larche M., 2006; ссылка].

#### Модели с использованием лабораторных животных

##### Морские свинки

Морские свинки используются в качестве модели легочной гиперчувствительности более 90 лет [Ratner B et al., 1927]. Трахея и бронхи у данного вида животных крайне чувствительны к гистамину, серотонину и медленно реагирующей субстанции анафилаксии [Блаттнер и др., 1983]. На холинергических терминалах в бронхах морских свинок и человека имеются идентичные m2-холинорецепторы, чувствительные к пилокарпину, активация которых тормозит секрецию ацетилхолина [Minette P.A., Barnes P.J., 1988]. Также как у человека у морских свинок активация гистаминовых H<sub>1</sub>-рецепторов вызывает спазм гладких мышц трахеи и бронхов, увеличивает сосудистую проницаемость [Бережная Н. М. и др., 1986]. Поэтому морские свинки используются как традиционная модель для изучения патологии дыхательных путей.

Кроме того, аллергическое воспаление легких у морских свинок соответствует

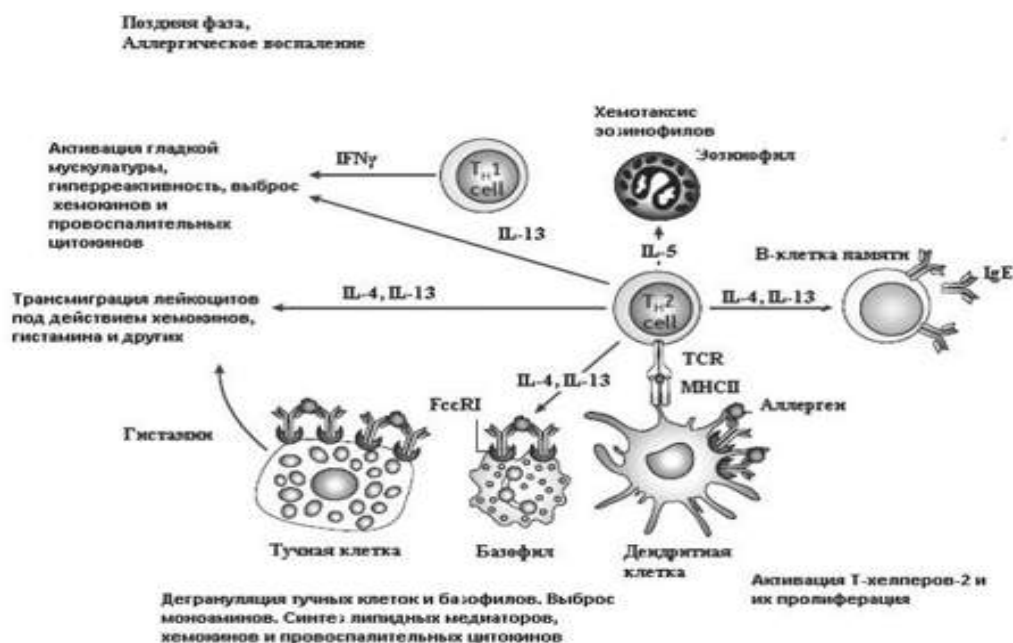


Рис. 2. Иммунологические механизмы развития бронхиальной астмы в соответствии с Larche M. 2006. Поздняя фаза аллергического ответа. Аллергическое воспаление

астматическому состоянию у человека с наличием эозинофильных и нейтрофильных моноцитов [Karol M.H., 1995]. При этом эозинофилия в бронхоальвеолярном лаваже является характерной чертой поздней фазы иммунологического ответа [Chand N et al., 1992; Gulbenkian AR et al., 1992].

Например, широко используется модель для оценки аллергенности [Botham PA et al., 1989; Hayes JP et al., 1992; Sarlo K, Karol M.H., 1994], где оценивается способность химических соединений оказывать влияние на развитие гиперчувствительности, вызванной ингаляцией аллергена. При этом сенсибилизация морских свинок происходит без применения анестетиков, что исключает их влияние на характер дыхания животных. Также естественный путь экспозиции, обеспечивает оптимальный доступ потенциального аллергена к соответствующим антиген-презентирующим клеткам [Karol M.H.,

1994].

Мощный бронхоспазм, эозинофилия и гиперреактивность дыхательных путей позволяют рекомендовать морских свинок в качестве модели для исследований влияния лекарственных препаратов на раннюю и позднюю фазу аллергической реакции и гиперреактивности бронхов.

Тем не менее, существенным недостатком морских свинок при моделировании гиперчувствительности немедленного типа является преобладание в качестве основного класса анафилактических антител IgG1, а не IgE как у человека, что затрудняет адекватную оценку гуморального иммунного ответа [Karol M.H., 1983]. Некоторым ограничением в широком использовании морских свинок в отличие от мышей и крыс в экспериментальной фармакологии является незначительное количество видоспецифических реагентов для определения цитокинов, хемокинов, антител для определения различных субпопу-

Таблица 1

**Титр сывороточных иммуноглобулинов у мышей линий C57BL/6 и BALB/c (M±SD)  
в соответствии с Herz U., Braun A, 1998**

Антитела	C57BL/6		BALB/c	
	контроль	сенсibilизация	контроль	сенсibilизация
Общий IgE (нг/мл)	26±13	277±153	23±11	1170±56*
Анти-OVA IgE (ЕД/мл)	≤20	210±140	≤20	1047±596*

Примечание :

- 1) \* - статистические отличия при  $p \leq 0,05$  между OVA-сенсibilизированными C57BL/6 и BALB/c мышами;
- 2) # - уровень общего и аллерген-специфического иммуноглобулина был определен методом ИФА в образцах сыворотки у несенсibilизированных (контроль) и сенсibilизированных овалбумином (сенсibilизация) C57BL/6 и BALB/c мышей

ляций лейкоцитов.

#### *Мыши*

Лабораторные мыши занимают ключевое место в исследованиях состояний гиперчувствительности немедленного типа. Широко используются линии C57BL/6, BALB/c, CBA и гибриды (CBA×C57BL/6) при моделировании бронхиальной астмы, а также в изучении Т-клеток [Nurieva R. et al. 2008], В-лимфоцитов [Barenett B. et al. 2012], механизмов воспаления [Lightfield et al. 2008] и адаптивного иммунитета [Sanders et al. 2009], презентации антигенов [Thaunat et al. 2012].

При выборе линий мышей необходимо учитывать их иммунологические особенности. Например, при моделировании бронхиальной астмы у мышей линии BALB/c по сравнению с мышами C57BL/6 преобладает продукция IgE (таблица 1) [Herz U., Braun A, 1998], что делает эту линию мышей наиболее удобной для экспериментального изучения гиперчувствительности немедленного типа.

Кроме того у мышей линии BALB/c, сенсibilизированных овалбумином, значительно увеличивается количество лимфоцитов, эозинофилов и нейтрофилов в бронхоальвеолярном лаваже, а также повышается продукция IL-4, IL-5, и TNF $\alpha$  в легких. В противоположность, у линии

C57BL/6, также сенсibilизированных овалбумином, воспалительный ИММУН-ный ответ в легких значительно слабее (рисунок 3) [Herz U. Et al., 1998].

Тем не менее, основной мишенью анафилактического ответа у мышей является сосудистая система, а не легкие, что является главным недостатком при моделировании астмы с использованием мышей разных линий. Эта особенность затрудняет развитие физиологической модели легочного ответа на мышах [Karol M.H., 1994].

#### *Крысы*

Основным классом анафилактических антител у крыс являются IgE, что позволяет изучать продукцию аллерген-специфических антител и их роль в развитии бронхиальной астмы [Watanabe A, Hayashi H., 1990]. На крысах возможно моделирование длительной (до нескольких дней) гиперреактивности дыхательных путей [Kips J.C. et al., 1992].

Однако значимым недостатком является необходимость применения адьювантов для эффективной сенсibilизации, что затрудняет оценку аллергического потенциала тестируемых соединений [Eidelman DH et al., 1988]. Особое внимание при выборе вида лабораторных животных следует уделять иммунологическому статусу животных [Pabst R, Gehrke

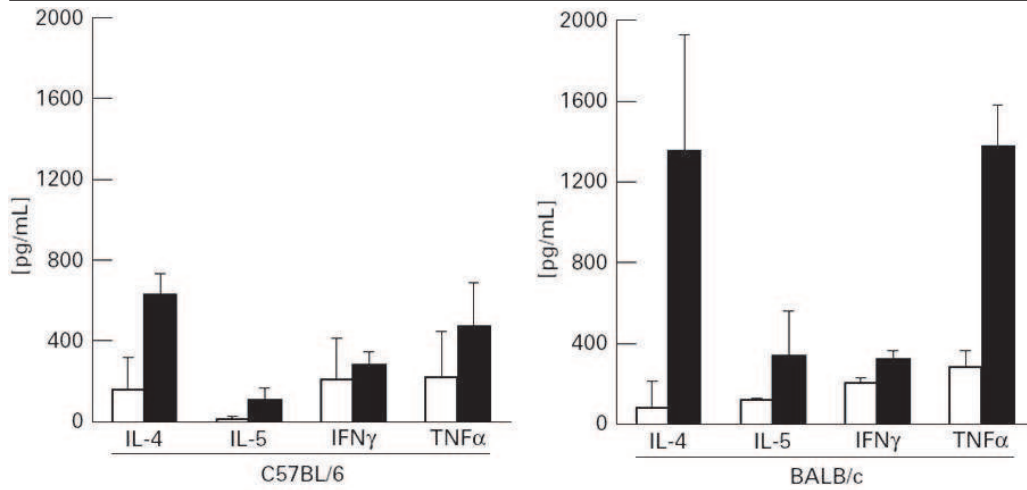


Рис. 3. Уровни провоспалительных цитокинов у мышей линий C57BL/6 и BALB/c при сенсibilизации овальбумином. На диаграммах черным цветом выделены уровни цитокинов при сенсibilизации, белым цветом – без сенсibilизации овальбумином. В соответствии с Herz U. Et al., 1998.

I., 1990; Haley PJ., 1993], включая такие параметры как повышенный уровень иммуноглобулинов класса E и других анафилактических антител, повышенное соотношение цитокинов IL-4 и IFN $\gamma$ , повышенное содержание тучных клеток и эозинофилов в бронхиальной слизи и бронхоальвеолярном лаваже, гипертрофия гладких мышц дыхательных путей [Karol MH et al., 1987].

В настоящее время непрерывно разрабатываются модели с использованием трансгенных мышей. Так, например, трансгенные мыши с более выраженной продукцией IL-4 более мощно реагируют на потенциальные аллергены, так как продукция IgE опосредуется IL-4. Выведены трансгенные мыши с гиперэозинофилией, обусловленной продукцией IL-5, что также способствует прогнозированию гиперчувствительных реакций [Adkinson Jr NF et al., 2002].

Несмотря на широкий спектр различных видов и линий лабораторных животных, подходящих для моделирования гиперчувствительности немедленного типа, в том числе гиперреактивности дыхатель-

ных путей, каждый из них обладает определенными преимуществами и недостатками при экспериментальном изучении бронхиальной астмы (табл. 2) [Karol M.H., 1994].

#### Immunological status of laboratory animals under conditions simulating immediate hypersensitivity.

A. Atsapkina, K. Kryshen, A. Kastornova, M. Makarova, V. Makarov.

#### ABSTRACT

A type I hypersensitive reaction is induced by certain types of antigens referred to as allergens, and has all the hallmarks of a normal humoral response, often characterized by variable airflow obstruction. The presence of airways inflammation and hyperreactivity provides further evidence for the disease. Model of immediate hypersensitivity in laboratory animals are used widely and allow to study spastic acute airway responses, airway hyperreactivity, late and early phase immunological response. Animal species selected for study have included: mice, rats and guinea-pigs. Numerous parameters can be measured in animal systems, including specific and total immunoglobulin



Таблица 2

Преимущества и недостатки разных видов животных для моделирования астмы

Преимущества	Недостатки
<b>Мыши</b>	
Маленькие, недорогие животные	Сосудистая система мишень для анафилаксии
Большая выборка инбредных линий	Недостаточно развита гладкая мускулатура дыхательных путей
Наличие большого количества видоспецифичных реагентов	Низкая чувствительность к гистамину
IgE-основной класс анафилактических антител	
Наличие гиперчувствительности дыхательных путей	
<b>Крысы</b>	
Маленькие, недорогие животные	Для сенсibilизации требуются адьюванты (Алюминий, Bordetella pertussis)
IgE-основной класс анафилактических антител	Низкий иммунологический ответ на гистамин
Проявляет ранний ответ дыхательных путей и поздний ответ дыхательных путей	Гладкие мышцы трахеи плохо реагируют на лейкотриены
Проявляет стойкую гиперчувствительность дыхательных путей в течение нескольких дней	
Реагирует на метахолин	
<b>Морские свинки</b>	
Маленькие, относительно недорогие животные	Малая выборка инбредных линий
Возможна сенсibilизация путем ингаляции	Небольшое количество видоспецифичных реагентов
Легкие основной шоковый орган	IgG1 – основной класс анафилактических антител
Наличие гиперчувствительности дыхательных путей	
Хороший ранний и поздний иммунологический ответ дыхательных путей	
Эозинофильное воспаление в позднюю фазу иммунологического ответа дыхательных путей	
Высокий иммунологический ответ гладкой мускулатуры дыхательных путей на гистамин	

E (IgE), pulmonary eosinophilia and diaphragm contractions. It is recognized that no single factor is sufficient to lead to a conclusion of hypersensitivity immediately type, but rather that a selected combination of parameters is most fitting. A guinea-pig system has been utilized for more than 90 yrs and has contributed to the basic understanding of physiological and immunological

processes involved in allergic respiratory sensitization. The benefits as well as the disadvantages to be derived from each of the animal systems have been enumerated in this review. Attention must always be given to identifying differences which exist between animal and human systems, including morphological, physiological and immunological factors. The immunological characteristics

of different species of laboratory animals, the advantages and disadvantages of their use in modeling the pathology of immediate hypersensitivity are reviewed in this paper.

**Key words:** hypersensitivity immediate-type, bronchial asthma, laboratory animals, guinea pigs, mice, rats.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин И.И. и соав. Современная концепция патогенеза бронхиальной астмы у детей // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2006, №1. С. 26-35.
2. Бережная Н. М. и соав. Аллергология. К.: Наукова думка, 1986. 447 с.
3. Блаттнер Р., и соав. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц: Пер. с англ., 1983.
4. Денисов И.Н., Шевченко Ю.Л. Клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. 390. 309–325.
5. Каркищенко В.Н., и соав. Исследователи предпочитают мышей BALB/C// Биомедицина. 2007. № 6. с.57-70.
6. Потапова О.В. и соав. Морфофункциональные особенности легочных макрофагов у мышей оппозитных линий СВА и С57BL/6 // Фунд. иссл-ния. 2010. № 10. с. 34-39.
7. Adkinson Jr N.F. et al. Task force report: future research needs for the prevention and management of immune-mediated drug hypersensitivity reactions // J Allergy Clin Immunol 2002; Vol. 109. pp. 461-478.
8. Andrew K.K., et al. Physiological and immunological effects of chronic antigen exposure in immunized guinea-pigs // Inter. Archives of All. and Ap. Imm.1984. Vol. 75. pp. 208–213.
9. Barnett B. et al. Asymmetric B cell division in the germinal center reaction // Science. 2012. Vol. 335. p. 342-4.
10. Bellofiore S., Martin JG. Antigen challenge of sensitized rats increases airway responsiveness to methacholine // J. of Ap. Phys. 1988. Vol. 65. pp. 1642–1646.
11. Botham P.A. et al. The induction of respiratory allergy in guinea pigs following intradermal injection of trimellitic anhydride: a comparison with the response to 2,4-dinitrochlorobenzene// Tox. Let. 1989. Vol. 47. pp. 25–39.
12. Brusselle G. et al. Allergen-induced airway inflammation and bronchial responsiveness in wild-type and interleukin-4-deficient mice // Am. J. of Respir. Cell and Molec. Biol. 1995. Vol. 12. pp. 254–259.
13. Chand N. et al. Anti-IL-5 monoclonal antibody inhibits allergic late-phase bronchial eosinophilia in guinea-pigs: a therapeutic approach // Eur. J. of Pharm. 1992. Vol. 211. pp. 121–123.
14. Corry D. et al. Interleukin-4, but not interleukin-5 or eosinophilis, is required in a murine model of acute airway hyperreactivity // J.of Exper. Med. 1996. Vol. 183. pp. 109-117.
15. Coyle A.J. et al. Interleukin-4 is required for the induction of lung Th2 mucosal immunity // Am. J. of Respir. Cell and Molec. Biol. 1995. Vol. 13. pp. 54-59.
16. Eidelman D.H. et al. Late airway responses to antigen challenge in sensitized inbred rats // Am. Rev. of Respir. Dis. 1988. Vol. 137. pp. 1033–1037.
17. Griffiths-Johnson D. et al. The role of purified IgG1 in pulmonary hypersensitivity responses of the guinea-pig // J. of Tox. And Envir. Health. 1993. Vol. 40. pp. 117–127.
18. Gulbenkian A.R. et al. Interleukin-5 modulates eosinophilia accumulation in allergic guinea-pig lung // Am. Rev. of Respir. Dis. 1992. Vol. 146. pp. 263–265.
19. Haley P.J. Immunological responses within the lung after inhalation of airborne chemicals // Tox. of the Lung. 2nd edn. NY, 1993; pp. 389–416.
20. Hayes J.P. et al. Bronchoconstriction and airway microvascular leakage in guinea-pigs sensitized with trimellitic anhydride //Am. Rev. of Respir. Dis. 1992. Vol. 146. pp. 1306–1310.
21. Herz U. et al. Various immunological phenotypes are associated with increased airway responsiveness // Clin. And Exper.

- Aller. 1998. Vol. 28. pp. 625-634.
22. Karol M.H. Haptenspecific hypersensitivity in guinea-pigs // *Am. Indus. Hyg. Ass.*. 1978. Vol. 39. pp. 546–556.
23. Karol M.H. Concentration-dependent immunologic response to toluene diisocyanate (TDI) following inhalation exposure // *Tox. And Ap. Pharm.* 1983. Vol. 68. pp. 229–241.
24. Karol M.H. et al. The immune response as a biological indicator of exposure // *Occup. and Envir. Chem. Hazards*. Chichester, Ellis Horwood Ltd, 1987. pp. 86–89.
25. Karol M.H. The development of an animal model for TDI asthma // *Bull Eur Physi. Respir.* 1988. Vol. 23. pp. 571–576.
26. Karol M.H. Animal models of occupational asthma // *Eur. Resp. J.* 1994. Vol. 7. Pp. 555–568.
27. Karol M.H. Assays to evaluate pulmonary hypersensitivity // *Modern Meth. in Im.tox.* Vol. 2. 1995. NY, Wiley-Liss Publishers. P. 401.
28. Kips J.C., Tumor necrosis factor causes bronchial hyperresponsiveness in rats // *Am. Rev. of Respir. Dis.* 1992. Vol. 145. pp. 332–336.
29. Lightfield K. et al. Critical function for Naip5 in inflammasome activation by a conserved carboxy-terminal domain of flagellin // *Nat. Immunol.* 2008. Vol. 9. p. 1171-1178.
30. Minette P.A. et al. Prejunctional inhibitory muscarinic receptors on cholinergic nerves in human and guinea pig airways // *J. of ap. phys.* 1988. Jun;64(6). pp. 2532-2537.
31. Nurieva R. et al. Generation of T follicular helper cells is mediated by interleukin-21 but independent of T helper 1, 2, or 17 cell lineages // *Immunity.* 2008. Vol. 29. p. 138-149.
32. Pabst R, Gehrke I. Is the bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) an integral structure of the lung in normal mammals, including humans? // *Am. J. of Resp. Cell and Mol. Biol.* 1990. Vol. 3. pp. 131–135.
33. Ratner B., Jackson H.C., Gruehl H.L. Respiratory anaphylaxis. Sensitization, shock, bronchial asthma and death induced in the guinea-pig by the nasal inhalation of dry horse dander // *Am. J. of Dis. Of Child.* . 1927. Vol. 34. pp. 23–47.
34. Sarlo K., Clark E.D. A tier approach for evaluating the ANIMAL MODELS OF OCCUPATIONAL ASTHMA 567 respiratory allergenicity of low molecular weight chemicals // *Fund. and Appl. Tox.* 1992. Vol. 18. pp. 107–114.
35. Sarlo K., Karol M.H. Guinea pig predictive tests for respiratory allergy. In: Dean J.H., Luster M.I., Munson A.E., Kimber I. *Immunotoxicology and Immunopharmacology*. 2nd ed. 1994. pp. 703-720 Raven Press, New York.
36. Sanders C., Franchi L. et al. Induction of adaptive immunity by flagellin does not require robust activation of innate immunity // *Eur. J. of Immun.* 2009. Vol. 39. pp. 359-371.
37. Thauinat O., Granja A. et al. Asymmetric segregation of polarized antigen on B cell division shapes presentation capacity // *Science.* 2012. Vol. 335. pp. 475-477.
38. Van Oosterhout et al. Effect of anti-IL-5 and IL-5 on airway hyperreactivity and eosinophils in guinea-pigs // *Am. J. of Resp. Cell and Mol. Biol.* 1993. Vol. 147. pp. 548–552.
39. Watanabe A., Hayashi H. Allergen-induced biphasic bronchoconstriction in rats // *Int. Arch. Of Alleg. And Immun.* 1990. Vol. 93. pp. 26–34.

## ИНДИВИДУАЛЬНО ВЕНТИЛИРУЕМЫЕ КЛЕТКИ – ЛИШНИЕ ФИНАНСОВЫЕ ВЛОЖЕНИЯ ИЛИ ОПТИМАЛЬНАЯ ЗАЩИТА ПЕРСОНАЛА И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ?

Тращенко Д, Ковалева М.  
Инновационные лабораторные технологии, Москва



### РЕФЕРАТ

Технологии содержания и разведения лабораторных животных в ИВК системах позволяют максимально оптимизировать технологический процесс. Улучшить условия содержания лабораторных животных, за счет снижения стрессорных влияний (уменьшение шума, вибрации при передвижении животных внутри клетки), создания постоянных условий окружающей среды. Грамотное использование ИВК систем позволяет оператору больше времени тратить на решение научных задач. Снизить затраты, связанные с покупкой средств индивидуальной защиты для операторов и подстилочного материала для животных. А также максимально защитить оператора от действия аллергенов, как со стороны животных, так и со стороны исследуемых объектов.

**Ключевые слова:** индивидуально вентилируемые клетки, фильтр HEPA-класса, виварий, доклинический центр.

### ВВЕДЕНИЕ

Как известно, немаловажным фактором выполнения научно-исследовательской работы является оптимальный баланс постоянства условий проводимого исследования, защита оператора (сотрудника, выполняющего манипуляцию), а также рационализация финансовых вложений, затрачиваемых на исследование.

На сегодняшний день, в России все большее распространение получили центры, проводящие доклинические исследования. Происходит как реструктуризация имеющихся центров, в том числе государственных, так и строительство новых. Так же все большее внимание уделяется реконструкции вивариев, с целью улучшения качества лабораторных животных.

На протяжении долгих лет советские и российские виварии были спланированы по «открытому» типу содержания конвен-

циональных животных. То есть животные содержались в пластиковых клетках, покрытых металлическими решетками. Клетки при этом располагались на стеллажах. Данное размещение животных имело ряд недостатков: во-первых, при нарушении системы вентиляции появлялся запах выделений животных, что изменяло как условия содержания животных, так и увеличивало аллергенную нагрузку на оператора. Во-вторых, приводило к необходимости более частой смены подстила, а значит повышению трудозатрат и расходов на содержание животных.

Со временем возникла потребность изучать новые фармакологические активности препаратов, такие как иммуномодулирующие, иммуностимулирующие и перед генетиками была поставлена задача выведения новых линий животных с определенными признаками. После выведения животных с SPF статусом (specified

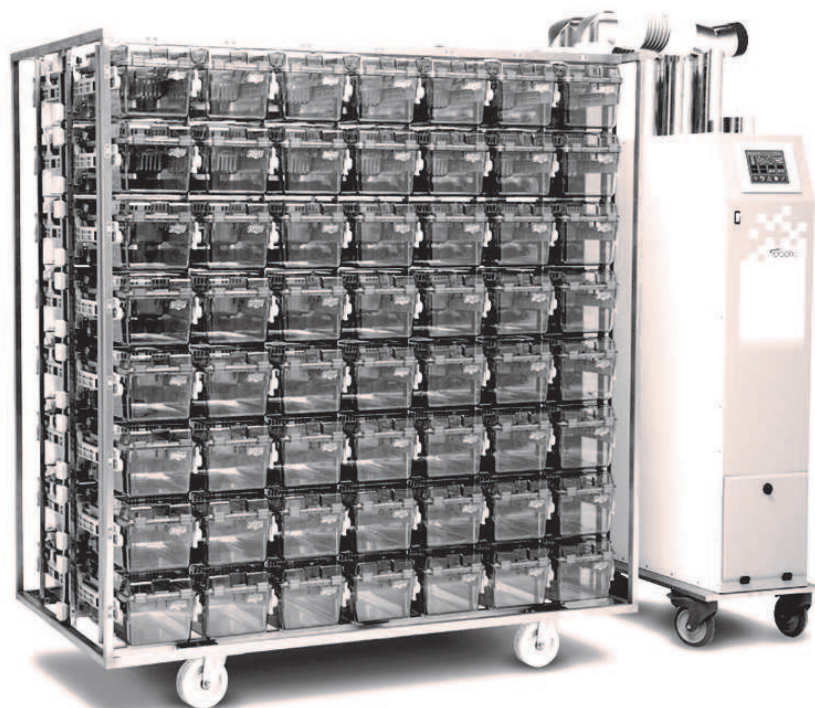


Рис. 1. Пример ИВК системы. Система NexGen (Allentown Inc., США)

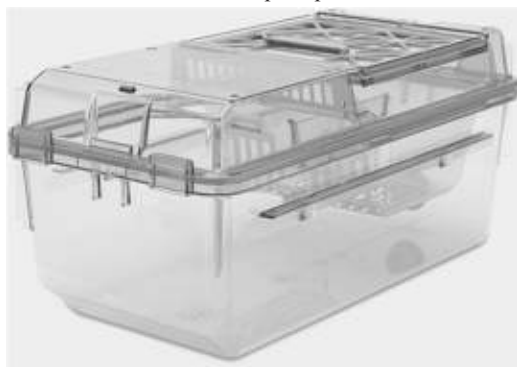


Рис. 2. Пример ИВК клетки для содержания мышей. К системе NexGen (Allentown Inc., США)

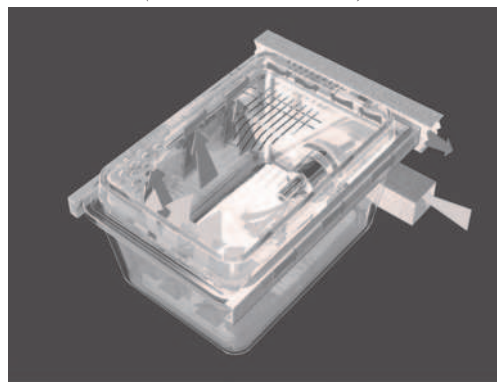


Рис. 3. Схема обеспечения воздухообмена в системе Positive Ventilated (Allentown Inc., США)

pathogen free), что означает отсутствие видоспецифичных патогенных микроорганизмов, вызывающих различные инфекционные заболевания у грызунов, начали меняться и общие тенденции оснащения вивариев.

Следует отметить, что выбор технологии содержания и разведения лабораторных животных, а именно выбор между содержанием животных в «открытых» клетках (условия конвенционального вивария) или же в индивидуально вентили-

руемых клетках (ИВК) определяется с одной стороны микробиологическим статусом последних и классом помещений, в которых последние будут содержаться. С другой стороны задачами, которые необходимо решить при проведении исследования. К тому же содержание животных в ИВК клетках приводит к улучшению условий труда оператора, за счет уменьшения действия аллергических веществ. В помещении содержания животных полностью отсутствуют неприятные запахи.

В последние 10 – 15 лет, современные центры доклинических исследований, а так же виварии все чаще делают выбор в пользу индивидуально вентилируемых клеток для содержания животных различного микробиологического статуса (конвенциональных, SPF и так далее).

Что же собой представляют ИВК системы? Под ИВК системой принято понимать стеллаж, оснащенный клетками определенной конструкции (рис. 1), системой вентиляции и возможным подведением воды.

Основными отличиями ИВК клетки от клетки открытого типа является то, что ИВК клетка имеет за счет фильтра HEPA-класса полузамкнутый контур (рис. 2), препятствующий контакту животных, а так же их выделений и частиц подстилки с окружающей средой и оператором.

Следует отметить, что данное технологическое решение (наличие фильтра HEPA-класса в крышке клетке) в случае отключения центрального электроснабжения позволяет осуществлять газообмен внутри клетки автономно без ущерба здоровью оператора и лабораторных животных.

Строго говоря, вышеописанная барьерная функция ИВК клеток, за счет динамической изоляции, и позволяет решать основные проблемы токсикологических и фармакологических исследований, позволяя добиться обеспечения защиты от летучих химических соединений и аллерге-

нов, выделяемых грызунами.

Динамическая изоляция достигается следующими технологическими решениями:

- наличием в верхней части клетки (крышке) HEPA (High Efficiency Particulate Air) фильтров с целью высокоэффективного удержания частиц;
- наличием силиконовых прокладок для притирания крышки к основанию клетки;
- установкой подготовки воздуха (УПВ) для регулирования потока воздуха возможно создания избыточного давления или разряжения.

Данные технологические решения позволяют создать ламинарный ток воздуха внутри клетки (рис. 3). Когда оператор приступает к манипуляциям с животными, данный ток воздуха предотвращает выход аллергенов и метаболитов за пределы клетки и их воздействие на персонал.

Наличие ИВК систем в виварии позволяет снизить затраты на подстилку, так оптимальный воздушный поток в клетке способствует быстрой сушке подстилки, что позволяет содержать животных 7-14 дней без замены подстилки. При этом концентрация аммиака в клетке проживания не увеличивается. Таким образом, в виварии больше не требуются: изоляторы и костюмы с фильтрами HEPA, изоляторы из пластиковой пленки и перчаточные боксы. В итоге, продолжительность процедур уменьшается, и операторы могут уделять большее время на решение научных задач. Снижаются затраты электроэнергии (так например, одна клетка в системе NexGen (Allentown Inc., США) потребляет 0,15 кВт).

В случае отключения систем центрального энергообеспечения в помещениях ИВК система может автономно работать до 5 дней. При этом концентрация CO<sub>2</sub> и NH<sub>3</sub> в клетке находятся ниже допустимых значений, прописанных в рос-

сийских рекомендациях по содержанию лабораторных животных (не более CO<sub>2</sub> 0,1%, NH<sub>3</sub> 0,001 мг/м<sup>3</sup>).

Внедрение и грамотное использование ИВК систем позволяет повысить эргономику и непрерывность процесса при работе с животными. Уменьшается физическая нагрузка на оператора, за счет удобного доступа персонала к клетке с животными повышается эффективность работы. Современные ИВК клетки и стеллажи могут быть дезинфицированы как путем автоклавирования, так и с использованием моющих дезинфектантов.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, внедрение ИВК систем для содержания животных является грамотным вложением финансовых средств, направленных на оптимизацию рабочего процесса и получение достоверных данных в эксперименте. Следует отметить, что в среднем окупаемость ИВК систем составляет 1 – 2 года.

**Individual cells ventilated extra investments or optimal protection of personnel and laboratory animals?**

**D. Trashchenko, M. Kovaleva.**

### **ABSTRACTS**

Technology of maintenance and breeding of laboratory animals using the IVC systems allows optimizing the process. Using of this system improves the life conditions of laboratory animals by reducing stress effects (reduction of noise, vibration when moving animals inside the cage) and thereby contributes to the creation of environmental conditions constant.

Competent use of the IVC system allows the researcher to optimize the scientific process, and reduce the price associated with the purchase of personal protective equipment for operators and bedding material for animals. Also using of system the operator is protected from the action of allergens of animals and investigated objects.

**Key words:** individually ventilated cage, HEPA-filter, vivarium, preclinical research

<p>Форма ПД4</p> <p>ООО «Научно-исследовательский институт ветеринарной фармации»ЭВРИКА» (Наименование получателя платежа) ИНН 7810288164 / КПП 781001001 Р/с № 40702810250103000270 (ИНН, КПП и номер счёта получателя платежа) Банк: ОАО «Рускобанк» г. Всеволожск БИК 044106725 к/с 30101810200000000725 Наименование банка и банковские реквизиты Подписка на журнал «Международный вестник ветеринарии» (4 номера) (наименование платежа) Дата Сумма платежа: 2000руб.00 коп. (в цену включена доставка) Информация о плателъщике: _____ Адрес доставки: _____</p> <p>Плателъщик _____ (ФИО, индекс, адрес, телефон)</p> <p>Форма ПД4</p> <p>ООО «Научно-исследовательский институт ветеринарной фармации»ЭВРИКА» (Наименование получателя платежа) ИНН 7810288164 / КПП 781001001 № 40702810250103000270 (ИНН и номер счёта получателя платежа) Банк: ОАО «Рускобанк» г. Всеволожск БИК 044106725 к/с 30101810200000000725 Наименование банка и банковские реквизиты Подписка на журнал «Международный вестник ветеринарии» (4 номера) (наименование платежа) Дата Сумма платежа: 2000руб.00 коп. (в цену включена доставка) Информация о плателъщике: _____ Адрес доставки: _____</p> <p>Плателъщик _____ (ФИО, индекс, адрес, телефон)</p> <p>(подпись, расшифровка подписи)(подпись, расшифровка подписи)</p>	<p><b>БЛАНК ЗАКАЗА</b> на журнал <b>«МЕЖДУНАРОДНЫЙ ВЕСТНИК ВЕТЕ- РИНАРИИ»</b> На 2014 год</p> <p>Ф.И.О. / название организации _____ _____</p> <p>Телефон _____</p> <p>Индекс _____</p> <p>Область, район _____</p> <p>Город _____</p> <p>Улица _____</p> <p>Дом _____ квартира _____</p> <p>Организация _____</p> <p>Квартира/офис _____</p>
--	---



The logo for Allentown, featuring the word "Allentown" in a bold, blue, sans-serif font, flanked by stylized blue horizontal bars on both sides. The background of the entire advertisement is a photograph of a laboratory facility. On the left, there are rows of metal cages on a cart, each with a red label. On the right, there is a piece of laboratory equipment with blue flexible hoses. In the center, there is an inset photograph of a brown mouse being held by a person wearing blue nitrile gloves.

# Allentown

Иновационные  
Лабораторные  
Технологии

Оптимальные решения  
для содержания животных  
AllenTown Inc.

[www.inlabtech.ru](http://www.inlabtech.ru)

Профилактика и лечение нарушений  
репродуктивной функции у животных

## КАРОФЕРТИН®

Эффективен для:

- Стимуляции клинических признаков охоты за счет повышения уровня эстрогенов;
- Стимуляции овуляции;
- Предотвращения образования кист яичника;
- Сохранения/поддержания беременности за счет увеличения уровня прогестерона;
- Нормализации процесса имплантации зародыша за счет усиления активности желез эндометрия;
- Снижения индекса осеменения и увеличения уровня оплодотворяемости;
- Повышения количества жизнеспособного приплода у свиней;
- Ускорения инволюции матки в послеродовой период;
- Снижения вероятности задержания последа и риска развития эндометритов;
- Повышения иммунитета новорожденных животных за счет повышения концентрации бета-каротина в молозиве.



Состав:  
β-каротин 10 мг/мл  
Витамин Е



Форма выпуска: флаконы по 100 мл  
Производитель: ALVETRA u. WERFFT GmbH, Австрия.  
Reg. № ПВИ-2-10.9/02984

ALVETRA WERFFT AG

Эксклюзивный дистрибьютор:

"НЕВА-ВЕТ" ГК, Санкт-Петербург, Кантемировская ул. д. 33,  
тел./факс: (812) 596-37-75, [www.vetapteka.ru](http://www.vetapteka.ru)

# МВВ

Редакция журнала  
«Международный вестник  
ветеринарии»  
196084, Санкт-Петербург,  
Черниговская 5, СПбГАВМ.  
Телефон/факс (812) 387-11-58  
Mail to: [farm07@mail.ru](mailto:farm07@mail.ru)