

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

1.2015

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 20.04.2015

Подписано к печати 20.04.2015

Формат 70×100 1/16.

Бумага глянцева № 1. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 5,2+1,63 цв. вкл.

Усл. Кр.-отг. 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 расположено: Варшавский университет естественных наук - занимает первое место в рейтинге вузов естественных наук и входит в десятку лучших государственных университетов Польши. Истоки университета восходят к 1816 году, с созданием Института Агрономии в Магумонт, первого сельскохозяйственного вуза в Польше и только четвертого в Европе. Британский журнал «Таймс» включил университет в число 200 лучших университетов мира.

**НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ
ЖУРНАЛ**

Номер госрегистрации 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

- Опыт, проблемы, перспективы**
- Применение препарата «Эльвита» при воспалительных и опухолевых процессах у животных. *Кондаков С.Э., Кузьмин В.А., Фогель Л.С., Нуднов Д.А., Волкова Е.А., Полазюк С.В.* 7
- Терапия**
- Этиология, распространение и экономический ущерб при заболеваниях печени у коров. *Кириллов А.А., Юшманов П.Н., Батраков А.Я.* 12
- Хирургия**
- Диагностика и лечение эндогенных увеитов передней камеры глаза у собак. *Усольцева И.Б., Стекольников А.А.* 18
- Акушерство, гинекология**
- Современный способ профилактики гипокальциемии высокопродуктивных коров в послелетельный период. *Корочкина Е.А., Племяшов К.В., Виденин В.Н.* 21
- Фармакология, токсикология, фармация**
- Влияние препарата «Мастинол» на иммунологический статус лактирующих коров. *Барышев В.А., Соколов В.Д., Племяшов К.В.* 25
 - Определение остаточных количеств мирамистина в молоке и тканях коров с маститом и эндометритом. *Крутяков Ю.А., Кузьмин В.А., Лунегов А.М., Савенков К.С., Полякова О.Р., Нуднов Д.А.* 29
 - Токсикологическая оценка комплексного антибактериального препарата Ципроветтор. *Енгашев С.В., Филимонов Д.Н., Павленко Г.И.* 34
 - Эффективность антиоксидантного препарата Эмидонол при болезнях кошек и собак. *Енгашев С.В., Новак М.Д., Мазитова О. Ю.* 40
- Зоогигиена, Санитария, Кормление**
- Влияние цеолитсодержащей добавки на яичную продуктивность и инкубационные свойства яиц. *Жилочкина Т.И.* 44
 - Формирование состава воды, используемой для поения животных в северо-восточной биогеохимической зоне Украины. *Соколюк В.М.* 50
- Биохимия, анатомия, физиология**
- Клеточный состав периферической крови каспийского тюленя (*Phocascaspica*, Gmelin, 1788). *Володина В.В., Грушко М.П., Федорова Н.Н.* 57
 - Влияние сухого солевого аэрозоля на функциональную активность нейтрофилов лошадей при хронических обструктивных болезнях легких. *Романова О.В., Крячко О.В., Червинская А.В.* 61
 - Изучение сорбционных свойств полисахаридов растительного происхождения. *Красочко П.А., Капуцкий Ф.Н., Красочко П.П., Зубец О.В., Аладьева Т.А.* 65
- Экспериментальная фармакология**
- Приобретение лабораторных животных: как выбрать питомник, исходя из российских реалий. Сообщение 2. Требования к поставщикам. *Фатеева Е.И.* 70
 - Выбор оптимального метода индукции острой патологии печени у крыс. *Селезнева А.И., Столаицук Н.В., Макарова М.Н.* 75
 - Габапентин устраняет проявления депрессивноподобного поведения, индуцированные снижением уровня половых гормонов на фоне овариэктомии у крыс. *Шекунова Е.В., Белозерцева И.В.* 84
 - Комплексная оценка степени развития патологии при моделировании адьювант-индуцированного артрита у крыс. *Кашкин В.А., Шекунова Е.В., Мужикян А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.* 92
 - Гармонизация исследований по проведению острой токсичности в соответствии с российскими и зарубежными требованиями. *Авдеева О.И., Макаренко И.Е., Макарова М.Н., Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макаров В.Г.* 103

CONTENTS

Experience, problems, perspectives	• <i>Use of the drug "ELVITA" in inflammatory and the tumor process animals. S. Kondakov, V. Kuzmin, L. Fogel, D. Nudnov, E. Volkova, S. Palazyuk.</i>	7
Therapy	• <i>Etiology, prevalence and economic damage at liver disease in cows. A. Kirillov, P. Jushmanov, A. Batrakov.</i>	12
Surgery	• <i>Diagnosis and treatment of endogenous uveitis anterior chamber dogs. I. Usoltseva, A. Stekolnikov.</i>	18
	• <i>New method of hypocalcemia' prevention of high-productive cows in postpartum period. E. Korochkina, K. Plemashov, V. Videnin.</i>	21
Pharmacology, toxicology, pharmacy	• <i>Effect of preparation "MASTINOL" the immunological status of lactating cows. V. Baryshev, V. Sokolov, K. Plemashov.</i>	25
	• <i>Determination of residues of miramistina in milk and tissues of cows with mastitis and endometritis. V. Kuzmin, A. Lunegov, A. Kudryavtseva, K. Savenkov, D. Nudnov, Yu. Krutyakov.</i>	29
	• <i>Toxicological assessment of a complex antibacterial preparation Tsiproventor. S. Engashev, D. Filimonov, G. Pavlenko.</i>	34
	• <i>Clinical study of efficiency of a preparation Emidonol. S. Engashev, E. Daulgalieva, M. Novak.</i>	40
Zoohygiene, Sanitation, Feeding	• <i>The influence of zeolite supplements on egg production and hatching properties of eggs. T. Zhilochkina.</i>	44
	• <i>Formation of water used for watering the animals in the northeastern biogeochemical zone of Ukraine. V. Sokolyuk.</i>	50
Biochemistry, anatomy, physiology	• <i>Cell composition of peripheral blood of the Caspian seal (<i>Phocacaspica</i>, Gmelin, 1788). V. Volodina., M. Grushko, N. Fedorova.</i>	57
	• <i>The influence of dry salt aerosol on the functional activity of horses neutrophils in chronic obstructive pulmonary diseases. O. Romanova, O. Kriachko, A. Chervinskaya.</i>	61
	• <i>Studying of sorption properties of polysaccharides of the phytogenesis. P. Krasochko, F. Kaputsky, P. Krasochko, O. Zubets, T. Aladyeva.</i>	65
Experimental pharmacology	• <i>Purchase of laboratory animals. How can you choose a breeding center in Russia. Information 2. The requirements to suppliers. E. Fateeva</i>	70
	• <i>Selecting optimal method by induction of acute experimental liver pathology in rats. A. Selezneva, N. Stolashuk, M. Makarova.</i>	75
	• <i>Gabapentine restores social deficit induced by ovariectomy in female rats. E. Shekunova, I. Belozertseva.</i>	84
	• <i>Estimation of disease severity in the model of adjuvant-induced arthritis. V. Kashkin, E. Shekunova, A. Muzikjan, M. Makarova, V. Makarov.</i>	92
	• <i>Harmonization studies of the acute toxicity in accordance with Russian and international requirements. O. Avdeeva, I. Makarenko, M. Makarova, E. Shekunova, V. Kashkin, V. Makarov.</i>	103



ЭТИОЛОГИЯ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ЭКОНОМИЧЕСКИЙ УЩЕРБ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ У КОРОВ

Кириллов А.А. - к.в.н., Юшманов П.Н. - к.в.н., Батраков А.Я. - профессор
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В последние годы наблюдается все более возрастающая тенденция к большему повышению продуктивности и интенсивности использования животных, что ведет к увеличению нарушения метаболических процессов в организме и снижению резистентности, на фоне которых развиваются многие патологические процессы, среди которых доминируют болезни печени. Среди специфических факторов необходимо отметить нарушение рациона кормления, технологий содержания, отсутствие моциона, действие стресс-факторов и д.р., которые в свою очередь приводят к снижению резистентности и повышению процента заболеваемости незаразной этиологии [20], что приводит к нарушению углеводного, жирового, белкового, минерального обменов в которых основную роль играют клетки печени – гепатоциты [13].

Снижение резистентности в организме высокопродуктивных коров протекает скрыто, но различные дистрофические изменения в органах иммунной системы и эндокринных органах приводят к необратимым последствиям, вызывающим преждевременную выбраковку коров [10].

Ключевые слова: печень, кровь, обмен веществ, экономический ущерб.

Патология обмена веществ наносит большой экономический ущерб молочным хозяйствам, который складывается из снижения роста и развития животных, продуктивности и срока жизни, адаптации к внешней среде, иммунитета против инфекций и инвазий, нарушения воспроизводства и жизнеспособности приплода, выход которого составляет около 75%. [23,11]. Возникновение и развитие заболеваний печени у высокопродуктивных животных в основном связано с кормлением животных рационом несоответствующем их продуктивности [19].

По литературным сообщениям [1] у обследованного поголовья коров отечественной и зарубежной селекции на 37 мо-

лочных комплексах Белгородской, Липецкой, Орловской, Воронежской, Московской, Тверской и Тульской областей показали, что болезни печени имеются у 47,8% животных. Отмечена зависимость между уровнем заболеваемости и продуктивностью. У 570 коров с молочной продуктивностью 7000-8500 кг/год уровень заболеваемости составил 52,4%, в то время как среди 725 животных с удоем 4500-5200 кг/год он составил 20,7%. Основанием для предположения наличия у животных нарушений функций печени послужили дисбаланс в рационе питательных и биологически активных веществ, и скармливание недоброкачественного корма, длительное применение лекарственных

препаратов, обладающих гепатотоксическим действием. У жвачных животных уже до отела [24,6,7,8] за счет отложения в печени липидов наблюдается её поражение и в последующем развивает жировое перерождение печени. Такое заболевание отмечается у хорошо упитанных коров, в первые 20 дней после отела, в редких случаях – за 5-15 дней до родов, когда животные лишены активного моциона, у сухостойных высокопродуктивных коров задолго до отела отмечено жировое перерождение печени. А это сопровождается снижением живой массы, удоев, болезненностью суставов, нарушением функционального состояния нервной и сердечно-сосудистой систем, расстройством пищеварения [22].

Патологическое ожирение печени может развиваться на фоне дефицита энергии вызванного низкой энергетической питательностью потребляемого корма, а так же снижением аппетита животного обусловленное иными заболеваниями. Возникновению этого заболевания способствуют: слишком высокая упитанность коровы перед отелом; после отела, энергетические потребности животного не покрываются съеденной кормовой смесью (низкая энергетическая питательность корма, либо животное по какой-либо причине не съедает достаточное количество кормовой смеси), возникает высокий дефицит энергии; нарушение функции печени (некачественный корм, интоксикация из-за некачественной кормовой смеси, заболевания других органов и т.д.), нарушение липидного обмена в печени; возросшее количество аммиака, поступающего в печень (нарушение азотного обмена) [15].

Острая форма болезни может вызывать падеж скота или вынужденный убой. У животных, перенёсших острую форму заболевания, часто возникают воспалительные процессы, такие как воспаление вымени, матки, конечностей. Уменьшает-

ся молочная продуктивность, возникают задержание последа, увеличение межотельного интервала, отсутствие признаков охоты, как следствие это приводит к значительным экономическим потерям [16]. Высокая молочная продуктивность по данным авторов [14, 4, 3] на 60% обусловлена кормлением, на 20% уровнем племенной работы и остальной процент приходится на условия содержания. Кроме этого, высокопродуктивные животные намного требовательны к рациону кормления, в отличие от животных со средней продуктивностью. Дисбаланс витаминных и минеральных веществ, приводит к метаболическим нарушениям в организме, и как следствие этого происходит снижение продуктивности, качества получаемой продукции, ухудшению их воспроизводительной способности и преждевременной выбраковки, что главным образом негативно влияет на экономику животноводческих предприятий.

Исследование животных в возрасте 3-6 лет с продуктивностью 3,0-3,5 тыс. кг в год одного хозяйств Троицкого района Челябинской области показало, что у 63% животных отмечено понижение функциональной активности печени [21]. При исследовании причин были выявлены нарушения зоогигиенических нормативов: недостаточная освещенность на 50%, повышенная влажность 80% и низкая температура воздуха 6-8°C, содержание в нем вредных газов аммиака 35 мг/м³, углекислого газа 0,3%, сероводорода 25 мг/м³, отсутствие моциона в зимнее время. Нарушения в технологии кормления превышали нормативы по количеству обменной энергии на 23%, переваримого протеина на 64%, сырой клетчатки на 25%, кальция в 2 раза, магния на 39%, калия в 3,6 раза, каротина в 2,4 раза, недостаток сахара на 40%, фосфора на 19%, витамина D на 54%, низкое сахаропротеиновое отношение 0,3:1, неудовлетворительное качество сенажа, что свидетельствовало о белко-

вом перекорме коров.

Основная роль в диагностике заболеваний печени сводится к лабораторным и инструментальным методам.

Что касается лабораторных методов, а в частности биохимических исследований крови, то здесь можно наблюдать следующую картину.

У высокопродуктивных коров с удоем 5625 кг за 305 дней лактации одного из хозяйств Приозерского района Лен. обл. отмечены изменения некоторых показателей крови. Так уровень альбумина составил $30,6 \pm 0,1$ г/л, что указывает на нарушение функции печени. Уровень глобулинов превышал норму и составил $64,6 \pm 3,4$ г/л. Концентрация глюкозы, уровень мочевины, содержание креатинина находились в пределах нормы.

Вместе с тем у животных наблюдалось нарушение пигментного обмена веществ. Так уровень билирубина был выше нормы и составил $10,9 \pm 1,0$ мкмоль/л.

Активность АЛТ в крови животных находилась выше нормы $14,5 \pm 1,9$ МЕ/л, так же была выше верхней границы АСТ $29,3 \pm 4,1$ МЕ/л. Высокий уровень билирубина указывает на нарушение оттока желчи и повреждение печени, повышенная активность АСТ – на повреждение сердечной мышцы. Уровень щелочной фосфотазы составлял $90,4 \pm 10,5$ МЕ/л, что превышало норму. Содержание макро и микроэлементов в сыворотке крови животных было в пределах нормы [14].

Отмечено, что при силосно-сенажно-концентратном типе кормления в зимний период у коров с удоем 9368-9330 кг за 305 дней лактации белковый, углеводно-жировой и минеральный обмены были в пределах физиологической нормы. В следствии низкого содержания каротина в рационе (43,5 – 45,0% от нормы) его уровень в сыворотке крови был значительно ниже физиологической нормы (0,28 – 0,24 мг%, при норме не ниже 0,40мг%) [5].

У коров с молочной продуктивностью

5265-6176 кг за 305 дней лактации в одном из хозяйств Волосовского района Ленинградской области концентрация общего белка находилась в пределах нормы 85,134,94 г/л. Тогда как глобулиновая фракция превышала норму, но показатели фракции альбуминов были в её пределах. [2]. Следует учитывать, что на концентрацию мочевины и азота мочевины в крови молочных коров помимо выделительной функции почек влияют также содержание в рационе протеина и наличие процессов распада белка [12]. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии уремии у коров, так как концентрация креатинина ($64,49-81,98$ мкмоль/л) была значительно ниже верхней границы нормы (120 мкмоль/л).

Содержание билирубина в крови у коров в пределах нормы свидетельствует, что кормление в хозяйстве предотвращает условия для развития гепатоза, но не предотвращает гипогликемию при наивысшей лактации.

Концентрация холестерина в сыворотке крови находилась между нижним и верхним её пределами. Учитывая, что синтез холестерина осуществляется из молекул ацетилкоэнзима А, можно считать, что в организме коров нет их избытка. Это свидетельствует о низкой вероятности избыточного кетогенеза или недостаточной калорийности рационов.

У коров отмечали при нормальном содержании кальция устойчивое увеличение концентрации фосфора и, как следствие, снижение их соотношения. Подобное состояние у животных возникает, когда при дефиците кальция в кормах активируется выработка паратиреоидного гормона, который в свою очередь усиливает резорбтивные процессы и вызывают высвобождение неорганического фосфора и кальция из костной ткани в кровь, приводя к деминерализации костей.

Концентрация железа в сыворотке крови была ниже физиологической нор-

мы. Снижение уровня железа подтверждалось недостаточным содержанием элемента в кормах. В то время концентрация калия у коров была в пределах нормы. Это указывает на благоприятное состояние водно-электролитного обмена, а также является косвенным признаком отсутствия ацидоза.

При исследовании сыворотки крови животных больных жировым гепатозом по данным [21] было установлено, что в результате угнетения белковосинтезирующей функции гепатоцитов изменено содержание общего белка, которое было повышено до $87,5 \pm 0,0$ г/л (в основном за счет увеличения количества глобулинов), а уровень альбуминов уменьшен до $30,4 \pm 1,6$ %. Изменения в белковом составе крови подтверждались коллоидно-осадочной пробой с серноокислой медью.

Высокое содержание белка приводило к увеличению уровня креатинина – конечного азотистого продукта обмена белков.

На фоне угнетения белковосинтезирующей функции печени у больных животных снижалось содержание бета – липопротеидов до $108,0 \pm 85,1$ мг%, что было ниже нормы.

В результате угнетения процесса мочевинообразования количество мочевины было ниже нормы в 2 раза $3,0 \pm 0,1$ ммоль/л, нарушалась основная роль печени в углеводном обмене – обеспечение постоянной концентрации глюкозы в крови. В результате изменения глюконеогенеза отмечена гипогликемия: концентрация глюкозы в крови была ниже в 2 раза по сравнению с физиологической нормой.

Уровень щелочной резерва плазмы крови у больных коров был ниже в 1,5 раза по сравнению с нормой. Это свидетельствует об ацидотическом состоянии организма вследствие накопления недоокисленных продуктов метаболизма.

Уровень общего кальция у больных животных был 29% ниже, а уровень неорганического фосфора – на 40% выше нор-

мы. Концентрация магния в крови больных животных была на 50% меньше нормы. Активность АЛТ и АСТ у больных животных была выше в среднем на 37% по сравнению с физиологической нормой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как видно из выше изложенных литературных данных все более возрастающая тенденция к большему повышению продуктивности и интенсивности использования животных главным образом ведет к нарушению обмена веществ и болезням печени, наносящим значительный экономический ущерб, который складывается из снижения продуктивности, развития и срока жизни животных, нарушения воспроизводства и жизнеспособности приплода, преждевременного убоя животных.

Исследование показателей крови при различном типе кормления показывают значительные их изменения, что главным образом отражается на общем состоянии организма, а это напрямую ведет к экономическим потерям. Анализируя показатели лабораторных исследований крови, в первую очередь, необходимо учитывать состояние функции печени и основываясь на них предпринимать соответствующие меры профилактики и лечения.

Принимая во внимание всё вышеизложенное, проблема заболеваний печени на сегодняшний день остается открытой и актуальной, требующей изыскания новых способов её решения.

Etiology, prevalence and economic damage at liver disease in cows.

A. Kirillov, P. Jushmanov, A. Batrakov.

ABSTRACT

As can be seen from the above data in the literature increasingly growing trend towards greater increase in productivity and the intensity of the use of animals mainly leads to metabolic disorders and diseases of the liver, causing considerable economic damage, which consists of the loss of productivity,

development and life of animals, reproduction and viability of offspring, premature slaughter of animals.

Study of blood for various types of feeding them show significant changes that mainly affect the general condition of the body, and this leads directly to economic losses. Analyzing the performance of laboratory tests of blood in the first place, it is necessary to take into account the condition of the liver, and based on them to take appropriate preventive measures and treatment.

Taking into account all of the above, the problem of liver disease to date remains open and urgent, requiring the search for new ways to solve it.

Key words: liver, blood, metabolism, and economic damage.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алёхин Ю.Н. Болезни печени у высокопродуктивных коров (диагностика, профилактика и терапия) // Ветеринария. – 2011. -№6. – С.3.
2. Батраков А.Я. Показатели метаболизма у высокопродуктивных коров // Ветеринария. – 2012. -№6. – С.49.
3. Буряков Н.П. Кормление стельных сухостойных и дойных коров // РацВетИнформ. – 2005. - №11. – С. 28-29.
4. Васильков А. Основные концепции кормления и выращивания молодняка // Комбикорма. -2012. -№7. -С.80.
5. Волгин В.И. и др. Влияние рационов силосно-сенажно-концентратного типа на обменные процессы у высокопродуктивных коров // Генетика и разведение животных. -2014. -№1. –С.20.
6. Душкин Е.В. Содержание общих липидов и триацилглицеролов в зависимости от уровня кормления у новотельных ярославских коров // Молочное и мясное скотоводство. – 1989. - №10. – С.1.
7. Душкин Е.В. Особенности изменения НЭЖК и бета-липопротеидов в крови в зависимости от разного уровня кормления и связанного с ним содержания липидов в печени у новотельных коров яро-

славской породы // Молочное и мясное скотоводство. – 1990. – №3. – С. 4.

8. Душкин Е.В. Степень инфильтрации липидов в печени в новотельный период и проблемы воспроизводительного цикла // Мат. межд. науч.-пр. конф. «Актуальные проблемы воспроизводства животных». – Быково. –2007. –С. 182-184.
9. Емельяненко П.А. Иммунная система жвачных // Проблемы ветеринарной иммунологии .-М. -1985. –С. 40-46.
10. Жаров А.В., Жарова Ю.П. Патология обмена веществ у высокопродуктивных животных // Ветеринария. – 2012. -№9. – С.46.
11. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. -2003. - Т.1. -495с.
12. Кириллов А.А. Диагностика болезней печени у животных. – СПб. -2012. – 35с.
13. Корочкина Е.А. Обмен веществ у высокопродуктивных коров при введении витаминно-минеральных болюсов пролонгированного действия // Генетика и разведение животных. -2014. -№1. –С.29.
14. Костомахин Н.М. Скотоводство. - СПб. -2009. -432 с
15. Костомахин Н.М. Основы современного производства молока. - Венгрия. - 2011. - 62 с.
16. Самохин В.Т. Молекулярно-биохимические и структурно-функциональные основы адаптации организма животных к неблагоприятным факторам внешней среды. – Воронеж. -2000. – 121с.
17. Скопичев В.Г. Максимюк Н.Н. Физиолого-биохимические основы резистентности животных. -СПб. -2009. -352с.
18. Хазимухаметова И.Ф., Идрисова Р.Р. Лечение коров при гепатозе // Ветеринария. – 2008. -№5. – С.39.
19. Хохрин С.Н. Кормление сельскохозяйственных животных: – М.: Колос, – 2004. – 692 с.
20. Шабунин С.В. и др. Проблемы профилактики бесплодия высокопродуктивного молочного скота // Ветеринария. – 2011. -

№2. – С.3.

21. Reid I.M., Dew S.M., Collins R.A. The relation ship between fatty liver and fertility

in dairy cows: a farm investigation // J. Agric. Sci., Camb. – 1983. – Vol. 101. – N2. – P. 499-502.



ТЕРАПИЯ

УДК: 619:615.3.038:577.121.4

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ЭЛЬВИТА» ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССАХ У ЖИВОТНЫХ

Кондаков С.Э.¹ - д.фарм.н., ст.н.сотрудник кафедры химической кинетики
Кузьмин В.А.² - д.вет.н., профессор кафедры эпизоотологии,
Фогель Л.С.² - к.вет.н., доцент кафедры эпизоотологии, Нуднов Д.А.² - аспирант кафедры эпизоотологии, Волкова Е.А.² - аспирант кафедры эпизоотологии, Палазюк С.В.³ - к.вет.н., гл.ветеринарный врач, ¹ Московский государственный университет
² Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины
³ ООО «ПсковАгроИнвест»



РЕФЕРАТ

На основе кинетического подхода к использованию внутренних метаболитов побочных биохимических путей в фармации разработан препарат «Эльвита», который находится на испытании в ветеринарной медицине. В основе создания биологически активной композиции препарата «Эльвита» лежат продукты окисления глюкозы в цикле Кребса. Состав препарата запатентован. Препарат «Эльвита-Удивит» зарегистрирован (ПВР-2-10.8-3247) в качестве ветеринарного лекарственного средства, сертифицирован и производится в виде стерильного раствора для стимуляции неспецифической резистентности у животных и птиц. Препарат «Эльвита» является уникальным, безопасным в применении, полифункциональным препаратом, который имеет выраженные противоинфекционные, противовоспалительные, иммуномодулирующие, противотоксические, регенеративные свойства. Особенности препарата «Эльвита» являются чётко выраженная зависимость «доза - эффект» на единицу массы и порог срабатывания при подкожном введении. Препарат вводится животным подкожно не чаще 1 раза в 5 дн. Единовременная доза вводимого препарата зависит от массы животного и составляет: до 25 кг – до 4 мл, 25-50 кг – до 6 мл, 50 кг и более – до 8 мл. Испытания лабораторных партий препарата «Эльвита» в промышленном животноводстве, свиноводстве и ветеринарных клиниках показали его высокую эффективность и полную совместимость с любой классической схемой лечения продуктивных и домашних животных. Установлена совместимость препарата «Эльвита» с любой из медикаментозных терапий, применяемых при воспалительных и опухолевых процессах, уменьшение сроков ремиссии после операций по удалению опухолей, снижение интоксикации при проведении курса химиотерапии у домашних животных.

Ключевые слова: метаболизм глюкозы, метилглиоксаль, полифункциональный препарат «Эльвита», сельскохозяйственные, домашние, лабораторные животные.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в медицине наиболее перспективным является создание препаратов на основе аналогов естественных внутренних метаболитов, а также использование кинетических подходов в современной фармации. Кинетические подходы позволяют управлять биохимическими реакциями, изменяя их направления по нужному пути за счет создания избытка или дефицита того или иного промежуточного продукта на одном из этапов метаболизма например, глиоксаль, метилглиоксаль, малоновый диальдегид и др. [13,14]. В связи с тем, что любая клеточная патология сопровождается изменением баланса ферментативного и неферментативного метаболизма глюкозы, можно восстановить окисление глюкозы, изменяя концентрации тех или иных метаболитов или изменяя активность ферментов, обеспечивающих прохождение соответствующих реакций. В частности, поступление глиоксальных структур в кровь в микроконцентрациях выводит метаболизм больного организма на здоровый путь [7].

Концентрация метилглиоксала в случаях патологии возрастает непропорционально количеству других метаболитов. Такое биохимическое поведение характерно в основном для сигнальных молекул, например, для гормонов. На основании этого мы предположили, что использование в одной биологически активной композиции всех компонентов реакционной биохимической цепочки, предшествующей циклу Кребса, в оптимально подобранных концентрациях (глюкоза – субстрат, метилглиоксаль и аминокислота – конечные продукты побочной реакции) позволит создать фармацевтическую композицию, которая будет кинетически управлять процессом окисления глюкозы в организме. В основе создания композиции «Эльвита» находится цикл Кребса [4].

Анализ литературы по онкогенезу позволил выделить следующие, считающиеся доказанными, общие черты течения любого опухолевого процесса. Наличие нескольких стадий развития, устранение дифференциации опухолевых клеток по сравнению с исходными, упрощение метаболизма опухолевых клеток (уменьшение количества ферментных систем, гликолизный метаболизм), увеличение скорости деления клеток до нескольких порядков по сравнению с нормальными [9,13]. Исходя из предложенного Н.М. Эммануэлем кинетического подхода [6], нами были выделены вещества, которые образуются только при нарушении обычных путей метаболизма глюкозы в клетках. Применение данных веществ, класса оксалей, в виде конъюгатов с углеводородами в наноконцентрациях позволило создать малотоксичный препарат, обладающий иммуномодулирующей активностью, что в ряде случаев позволяет восстановить метаболизм опухолевых клеток [5]. На основе данного класса веществ был разработан фармацевтический препарат «Эльвита-Удивит», аттестованный и выпускающийся в настоящее время для ветеринарии. Проведенные испытания показывают совместимость данного препарата с любой из медикаментозных терапий, применяемых в онкологии, уменьшение сроков ремиссии после операций по удалению опухолей, снижение интоксикации при проведении курса химиотерапии облучения у домашних животных и в ряде случаев консервацию процессов метастазирования и опухолевого роста.

В лабораторных опытах установлено, что новый ветеринарный препарат «Эльвита» является полифункциональным препаратом, имеющим ярко выраженные противомикробные, противовоспалительные, иммуномодулирующие, регенеративные свойства. Бактериостатическая активность препарата «Эльвита» в отношении грамположительных и гра-

мортицательных микроорганизмов основана на трех механизмах: 1) нарушение проницаемости мембраны бактериальной клетки и последующего лизиса; 2) лишение бактерий железа, необходимого для их жизнедеятельности; 3) образование лактоферрина и лактоферрицинов. Лактоферрин принимает участие в системе неспецифического гуморального иммунитета, регулирует функции иммунокомпетентных клеток, является белком острой фазы воспаления; обладает антибактериальной, антивирусной, антипаразитарной, каталитической активностью, а также противоопухолевым, антиаллергическим, иммуномодулирующим и радиопротективными свойствами [10,11]. Сильное микробицидное действие лактоферрицинов объясняется выраженной основностью аминокислотной последовательности на концах молекул этих пептидов [1,3,8].

Противовирусное действие препарата «Эльвита» основано на: 1) ингибировании внедрения вируса в клетку путем его связывания с лактоферрином [12] или 2) блокировании рецепторных участков мембран клеток-мишеней, что не позволяет вирусу сорбироваться на клетке-субстрате.

Противовоспалительное действие препарата «Эльвита» связано с инактивацией бактериальных липополисахаридов или активацией синтеза интерлейкина-18 и гамма-интерферона, которые являются противовоспалительными цитокинами при системных воспалениях [8]. Антиоксидантные свойства препарата «Эльвита» связаны с тем, что он является мощным инактиватором ряда токсинов различной природы, включая свободные радикалы [7]. Регенеративные свойства препарата «Эльвита» можно объяснить активацией синтеза интерлейкина-18, который является ключевым цитокином на ранних этапах процесса заживления ран [10].

Цель работы - установить эффективность применения препарата «Эльвита»

при мастите, эндометрите, респираторных болезнях молодняка КРС, отечной болезни поросят, гнойных поражениях конечностей у дойных коров, опухолевых процессах у лабораторных и домашних животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фармацевтическая композиция «Эльвита» способна кинетически управлять процессом окисления глюкозы в организме. Препарат представляет собой стерильный раствор субстрата (глюкозы), к которому добавлены естественные метаболиты (метилглиоксаль), аминокислоты и другие вещества, участвующие в биохимических процессах окисления глюкозы. Состав препарата запатентован. Препарат «Эльвита-Удивит» зарегистрирован (ПВР-2-10.8-3247) в качестве ветеринарного лекарственного средства. Препарат сертифицирован и производится в виде стерильного раствора для стимуляции неспецифической резистентности у животных и птиц.

Концентрации веществ в данном препарате подобраны таким образом, что клетки с нарушенным метаболизмом (например, инфицированные вирусом или опухолевые) «метятся» и иммунная система их уничтожает. Особенности препарата «Эльвита» являются четко выраженная зависимость «доза - эффект» на единицу массы и порог срабатывания при подкожном введении. Препарат «Эльвита» не содержит каких-либо химических веществ, которых изначально нет в организме млекопитающего. Он может применяться для всех сельскохозяйственных а также для домашних и лабораторных животных.

Препарат вводится животным подкожно не чаще 1 раза в 5 дней. Единовременная доза вводимого препарата зависит от массы животного и составляет: до 25 кг – до 4 мл, 25-50 кг – до 6 мл, 50 кг и более – до 8 мл. Разовая действующая доза для собак мелких пород и взрослых кошек

составляет 1-2 мл, для молодняка и грызунов – 0,5-1 мл. Разовая действующая доза для взрослых собак крупных пород составляет 3-5 мл, для молодняка (более 4 кг) – 1-2 мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Испытания лабораторных партий препарата «Эльвита» в промышленном животноводстве и ветеринарных клиниках показали его высокую эффективность и полную совместимость с классическими схемами лечения продуктивных и домашних животных.

Во время производственных испытаний на сельскохозяйственных животных было показано, что применение препарата «Эльвита» высокоэффективно при бурсите, разных формах мастита и эндометрита, вирусных болезнях невыясненной этиологии и т.д.

В сельскохозяйственной практике особенно перспективна возможность применения препарата для лечения коров с маститом без применения антибиотиков в связи с введением новых правил сертификации молока. В частности, в одном животноводческом хозяйстве молочного направления Ленинградской области в группе дойных коров из 46 животных субклинический мастит был вылечен в течение 3 дн с помощью препарата «Эльвита» и электрохимически активированных растворов у 36 коров. Экономическая эффективность при этом на 1 рубль затрат составила 92,03 руб., при более длительном лечении – до 5 дн – 25,78 руб. [2]. При острых воспалительных процессах (мастит, эндометрит) для получения лечебного эффекта, как правило, достаточно одной-двух инъекций препарата «Эльвита».

Эксперимент по испытанию препарата «Эльвита» при отечной болезни поросят проводили в одном их хозяйств Псковской области. Наблюдение проводили за 31 гол. поросят периода дорашивания, возраста 45...55 дн (опыт) с клиническим

проявлением отечной болезни (выраженные отеки век, основания ушей, поражение ЦНС с судорогами, нарушением координации движения). Указанным животным препарат «Эльвита» назначали в/м, в дозировке 4 мл/гол, курсом 1...2 дня, одновременно с в/м введением амоксицилина 15% пролонгированного (согласно инструкции по применению). Препараты не смешивали друг с другом. При лечении отечной болезни у 9 поросят (29% наблюдаемых) однократное назначение препарата «Эльвита» в дозе 4 мл в/м приводило к исчезновению клинических признаков отечной болезни через 1 сутки. При лечении отечной болезни у 18 поросят (58% наблюдаемых) назначение препарата «Эльвита» в дозе 4 мл в/м 1 раз в день в течение 2 дн приводило к исчезновению клинических признаков через 2 суток. Препарата «Эльвита» при одновременном назначении с антибиотиками при отечной болезни поросят в период дорашивания показал положительный эффект. Побочного действия, противопоказаний при постановке эксперимента в данном хозяйстве не установлено. В контрольной группе поросят (35 гол.) периода дорашивания при отечной болезни поросят назначали лишь инъекционные антибиотики (амоксициллин 15% или окситетрацилин+спирамицин), согласно рекомендаций по применению. При этом положительный эффект наблюдали лишь у 10 животных (28,5% наблюдаемых), 9 гол. было вынужденно убито (25,7% наблюдаемых) и 16 гол. пало (45,7% наблюдаемых).

При вирусных респираторных болезнях телят (инфекционный ринотрахеит, адено-, коронавирусная инфекция) в хозяйствах Ленинградской области препарат «Эльвита» вводили подкожно в дозе 2 мл с интервалом 7 дн. По сравнению с традиционно применяемой схемой лечения в хозяйствах при лечении препаратом «Эльвита» срок выздоровления телят в

опыте уменьшается на 3...7 дн, среднесуточные приросты массы повысились на 30...70 г. Экономическая эффективность от применения препарата «Эльвита» составила 6...7,5 руб. на 1 руб. затрат. При инфекционных болезнях смешанной вирусной и бактериальной этиологии назначение препарата «Эльвита» сочетается с традиционными методами антибактериальной терапии, т.к. данный препарат совместим с иммуномодуляторами и иными лекарственными средствами, в том числе антибиотиками.

При лечении пододерматита у дойных коров по сравнению с традиционными схемами лечения в хозяйствах молочного направления Ленинградской области экономическая эффективность от применения препарата «Эльвита» в пересчете на получение дополнительной продукции (молоко, сохранение поголовья за счет снижения выбраковки и т.д.) составила 10...14 руб. на 1 руб. затрат. Наиболее целесообразно использовать данный препарат с профилактической целью, т.к. при осложненном течении болезни поражается костная ткань и развивается дегенеративный процесс, который практически не поддается лечению.

Исходя из полифункциональных свойств препарата «Эльвита», было сделано предположение, что он может превращать метаболизм опухолевых клеток в нормальный метаболизм, что, свою очередь, может обусловить эффективность его назначения при лечении опухолевых процессов и процессов метастазирования. С положительным эффектом препарат «Эльвита» испытан на морских свинках с метастазирующими опухолями в легких, а также на собаках и кошках с опухолями молочной железы и половых органов в двух ветеринарных клиниках г. Санкт-Петербурга. При лечении опухолевых процессов у собак и кошек (рак молочной железы) в схеме с цитостатиками (метастоп, лигфол, фитоэлита[®], цитостат)

препарат «Эльвита» обеспечивает лучшую переносимость курса лечения и снижает их токсичность. В случае применения радио- и химиотерапии при лечении злокачественных опухолей назначение данного препарата способно устранять вторичную интоксикацию организма. Для стимуляции неспецифической резистентности организма, повышения общего тонуса и укрепления здоровья продуктивных и домашних животных препарат «Эльвита» вводят однократно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основе создания биологически активной композиции препарата «Эльвита» лежат естественные метаболиты – продукты окисления глюкозы в цикле Кребса. Препарат «Эльвита» является уникальным, безопасным в применении, полифункциональным препаратом, который обладает бактериостатическими, противовоспалительными, иммуномодулирующими, противотоксическими, регенеративными свойствами. Эффективность использования при различных заболеваниях животных с проявлением воспалительного и опухолевого процессов и экономический эффект от использования препарата «Эльвита» в промышленном животноводстве, свиноводстве и в ветеринарных клиниках подтверждены многочисленными и независимыми испытаниями. Государственные испытания лабораторных партий препарата «Эльвита» в промышленном животноводстве, свиноводстве и в ветеринарных клиниках показали его полную совместимость с любой классической схемой лечения продуктивных и домашних животных.

Use of the drug "ELVITA" in inflammatory and the tumor process animals.

S. Kondakov, V. Kuzmin, L. Fogel, D. Nudnov, E. Volkova, S. Palazyuk.

ABSTRACT

On the basis of the kinetic approach to the internal side of metabolites biochemical pathways developed in pharmacy drug

"Elvita", which is on probation in veterinary medicine. At the heart of the creation of a biologically active composition of the drug "Elvita" are products of the oxidation of glucose in the Krebs cycle. The drug is patented. Drug "Elvita-Will surprise" was registered (PVR-2-10.8-3247) as a veterinary medicinal product is certified and made in the form of a sterile solution for stimulation of nonspecific resistance in animals and birds. Preparation "Elvita" is unique, safe in use, a polyfunctional preparation which has marked antiinfective, antiinflammatory, immunomodulating, antitoxic, regenerative properties. The features of the drug "Elvita" are clearly expressed dependence "dose - effect" per unit mass and threshold when administered subcutaneously. The drug is administered subcutaneously to animals is not more than 1 time in 5 days. Lump drug dose administered depends on the animal's weight and amounts: up to 25 kg - up to 4 ml, 25-50 kg - 6 ml, more than 50 kg, and - 8 mL. Laboratory test batches of the drug "Elvita" industrial farming, pig and veterinary clinics have shown its high performance and full compatibility with any classical regimen productive and pets. Set the compatibility of the drug "Elvita" with any of the medical therapy used in inflammatory and neoplastic processes, reducing the remission period after surgery to remove the tumor, reducing toxicity during the course of chemotherapy in pets.

Key words: the metabolism of glucose, methylglyoxal, multifunctional drug "Elvita", livestock, pets, laboratory animals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабина С.Е. Лактоферрин как полифункциональная гидролаза молока человека: Дис. канд. хим. наук. -Новосибирск. -2006. -132с.
2. Илларионов И.Н. Опыт лечения коров, больных маститом, без применения антибиотиков // Матер. междунар. вет. конф. «Балтийский форум». -СПб. -2009. -С. 75.
3. Кокряков В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения. -СПб: Изд-во Наука. -1999. -С. 5-16.
4. Кузьмин В.А. "Эльвита-Удивит" - новый отечественный препарат иммуномодулятор для ветеринарии // Ветеринарный доктор. -2009. -№3. -С. 18-20.
5. Швембергер И.Н. Нормализация опухолевых клеток // Л.: Наука. -1987. -141с.
6. Emanuel N.M. Chemical and biological kinetics // Russ.Chem.Rev. -1981. -Vol.50 (10). -P. 901-947.
7. Inoue Y. Methylglyoxal and regulation of its metabolism in microorganisms // Adv. Microb. Physiol. -1995. -Vol.37. -P.177-227.
8. Kuwata H. Bactericidal domain of lactoferrin: detection, quantitation, and characterization of lactoferrin in serum by SELDI affinity mass spectrometry // Biochem. Biophys. Res. Commun. -1998. -Vol.245. -P. 764-773.
9. Oehlert W. The kinetic mechanism of cell resistant // Cell Tissue Kinet. -1973. -Vol.6. -P.325-335.
10. O'Halloran F. Characterisation of single nucleotide polymorphisms identified in the bovine lactoferrin gene sequences across a range of dairy cow breeds // Biochimie. -2009. -Vol. 91. -№1. -P.68-75.
11. Okamoto T. Regulation of fungal infection by a combination of amphotericin B and peptide 2, a lactoferrin peptide that activates neutrophils. // Clin. Diagn. Lab. Immunol.-2004. -Vol.11. -№6. -P.1111-1119.
12. Puddu P. Antiviral effect of bovine lactoferrin saturated with metal ions on early steps of human immunodeficiency virus type 1 infection // Int. J. Biochem. Cell Biol.-1998. -Vol.30. -№9. -P.1055-1062.
13. Thorpe S.R. Maillard reaction products in tissue proteins: new products and new perspectives // Amino Acids. -2003. -Vol. 25. -P. 275-281.
14. Uchida K. Histidine and lysine as targets of oxidative modification // Amino Acids. -2003. -Vol.25. -P. 249-257.



ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЭНДОГЕННЫХ УВЕИТОВ ПЕРЕДНЕЙ КАМЕРЫ ГЛАЗА У СОБАК

Усольцева И.Б., Стекольников А.А.
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В данной статье описаны типичные клинические проявления, критерии диагностики, основные принципы и схемы лечения эндогенных увеитов собак. Представлена информация, по рациональному индивидуальному выбору лекарственных средств и схемы лечения. Ветеринарная офтальмология достигла больших вершин и продолжает расти и развиваться. Методы терапевтической и хирургической техники лечения глазных заболеваний совершенствуются с каждым годом. В арсенале ветеринарных врачей офтальмологов уже давно и прочно заняли свое место точнейшие микрохирургические инструменты, операционные микроскопы, новейшие приборы для диагностики и оперативного лечения заболеваний глаз. Тем не менее, диагностика и лечение такого заболевания как увеит остается серьезной задачей для ветеринарных офтальмологов. Так, например заболевания увеальной оболочки глаза у лошадей до сих пор является одной из фундаментальных проблем в коневодстве и приводит к огромному урону в животноводстве. Термин увеит охватывает целый ряд явлений, происходящих при воспалении сосудистой оболочки глаз и влияющих на все его внутренние структуры. К увеиту способны привести множество факторов, в процессе которых поражаются как сами глаза, так и другие органы и системы. К таковым факторам можно отнести, прежде всего, инфекции, включая вирусные, грибковые, бактериальные поражения и поражения паразитами.

Ключевые слова: офтальмология, увеит, иридоциклит, сосудистая оболочка глаза, диагностика, лечение.

ВВЕДЕНИЕ

Без точной диагностики лечение глаз редко бывает успешным. Офтальмологические заболевания наблюдаются у большинства животных различных пород и возрастов. Тем не менее, выявление такого заболевания как увеит остается серьезной задачей для ветеринарных офтальмологов и требует тщательной диагностики. Увеит (воспаление сосудистой оболочки глаза), является наиболее частой патологией. Большая частота увеитов обусловлена выраженным кровоснабжением кро-

веносных сосудов в глазу, и в связи с этим ток крови в сосудистой оболочке замедлен. Всё это способствует задержке микробов, вирусов, и других патологических агентов, которые при определенных условиях вызывают воспалительные процессы. Поэтому, как правило, увеит редко диагностируется как отдельное заболевание, и часто может являться симптомом различных системных болезней. Нельзя не отметить существование случаев первичного увеита. В последнее время всё большее значение в этиологии

увеитов придаётся генетическим факторам. Внимание уделяется породной предрасположенности, которую склонны наследовать животные определённых пород. Эндогенными увеитами, называют формы заболевания, обусловленные инфекциями, причина которых неизвестна. Передний эндогенный увеит является наиболее распространённой формой воспаления сосудистой оболочки глаза. Наиболее часто передний эндогенный увеит характеризуется наличием боли в глазу, снижением остроты зрения, наличием экссудата, образованием фибрина и гипопиона в передней камере, изменением цвета и структуры радужной оболочки глаза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При диагностике, увеитов использовались следующие методики: Сбор анамнеза, визуальный осмотр, осмотр в боковом и проходящем освещении, прямая и непрямая офтальмоскопия, тонометрия, гониоскопия, фундускопия, электроретинография и ультрасонографическое исследование глазного яблока. Внимание уделялось также на необходимость регулярного использования гематологического анализа на наличие различных воспалительных заболеваний и заболеваний системного характера. Эндогенные увеиты характеризуется появлением лейкоцитов и сегментоядерных нейтрофилов в передней, а зачастую и в задней камере глаза, отёком стромы, цилиарного тела, отслойкой хориоидеи от склеры, нередко происходит скопление фибринозного или геморрагического экссудата в передней камере глаза.

Таким образом, выявление изменений вышеперечисленных признаков указывают на клиническое проявление увеита и более того, являются подтверждением диагноза. Всего было обследовано 14 собак в возрасте от 1 до 8 лет. Группу - I (51 %) составили животные больные увеитами инфекционной этиологии. В

группу - II (49%) входили животные, у которых диагностированы заболевания внутренних органов, ревматические болезни, болезни, связанные с нарушением обмена веществ, заболевания зубов, носоглотки и придаточных полостей носа, системные заболевания и заболевания грибковой природы. Исследование органа зрения включало: осмотр в боковом и проходящем освещении, прямую и непрямую офтальмоскопию, тонометрию, гониоскопию, электроретинографию и ультрасонографическое исследование глазного яблока. Контрольную группу составили 8 голов клинически здоровых животных.

К сожалению, лечение эндогенного увеита затруднено, так как его этиология не выявлена, а значит, и терапия имеет некоторые затруднения. Поэтому лечение назначается строго по клиническим проявлениям заболевания. Офтальмологическую терапию начинали с закапывания в конъюнктивальный мешок 1% раствора атропина сульфата. В этом случае расширение зрачка помогает уменьшить образование синехий и расслабляет цилиарную мышцу, что приводит к созданию функционального покоя глаза. Необходимо постоянно контролировать внутриглазное давление. Назначалось закапывание антибактериальных капель тобрекс. При применении антибактериальных препаратов системного действия хорошие показатели выявлены при применении препарата Юнидокс солютаб. Противовоспалительные средства применялись местно, системно или с помощью субконъюнктивальных инъекций. При применении кортикостероидов были использованы глазные капли Преднизолон 1 %. Стоит учитывать тот факт, что при введении капель местно или субконъюнктивально на роговице не должны присутствовать остатки флуоресцеина. Препарат иммуносупрессорного действия Азатиоприн широко применяется не только в офтальмологии.

Таблица 1

Дифференциальная диагностика глазных воспалений

Параметры	Передний увеит	Конъюнктивит	Поверхностный кератит	Глаукома
Конъюнктивита	Незначительно уплотнена	Уплотнена	Незначительно уплотнена, шероховатая.	Не уплотнена
Сосуды конъюнктивы	Эписклеральные неподвижные конъюнктивальные часто разветвляются	Кровенаполнены	Разросшиеся	Эписклеральные неподвижные конъюнктивальные редко разветвляются
Выделения	Серозные от умеренных до обильных	От умеренных до обильных	От умеренных до обильных	Серозные
Боль	От умеренной до сильной особенно при касании	Наблюдается при гнойном	Наблюдается при серозном и гнойном	От умеренной до сильной
Светобоязнь	Умеренная	Отсутствует	Отсутствует	Незначительная
Роговица	Наличие преципитатов или мутная.	Ясная	Помутневшая	Мутная, принимает вид запятого стекла.
Размер зрачка	Миоз	Норма	Миоз	Расширен.
Реакция зрачка на свет	Вялая или отсутствует	Норма	Норма	Отсутствует
ВГД	Снижено	Норма	Норма	Высокое

Иммунодепрессивное действие азатиоприна обусловлено гипоплазией лимфоидной ткани, снижением количества Т-лимфоцитов, нарушением синтеза иммуноглобулинов, появлением в крови атипичных фагоцитов и, в конечном итоге, подавлением клеточно-опосредованных реакций гиперчувствительности.

При установлении причины заболевания проводилось специфическое лечение.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Факторами риска возникновения и развития эндогенного увеита, являлись заболевания внутренних органов, вирусные инфекции, протозойные, бактериальные, ревматические болезни. Болезни, связанные с нарушением обмена веществ, заболевания зубов, носоглотки и придаточных полостей носа, системные заболевания и заболевания грибковой природы. Рационально полезно использовались в исследовании животных биохимические, клинические, иммунологические анализы крови. Выявленные офтальмологические, обособленно-диагностические закономерности подтверждали наличие основных клинических форм течения эндогенных увеитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проблема эндогенных увеитов у животных, по сей день является актуальной. Для ее решения необходимо, в первую очередь, выявление особенностей увеитов, постувеальных осложнений и незамедлительной их коррек-

ции, а также тщательного адекватного подхода ко всему комплексу вопросов диагностики, профилактики и лечения.

Diagnosis and treatment of endogenous uveitis anterior chamber dogs.

I. Usoltseva, A. Stekolnikov.

ABSTRACT

This article describes the typical clinical presentation, diagnostic criteria, principles and treatment regimens endogenous uveitis dogs. Provides information on rational individual choice of drugs and treatment regimens. Veterinary ophthalmology reached great heights and continues to grow and develop. Methods of therapeutic and surgical treatment of eye diseases technique perfected every year. In the arsenal of Veterinary Ophthalmologist have firmly taken their exact microsurgical instruments, operating microscopes, modern devices for the diagnosis and surgical treatment of eye diseases. However the diagnosis and treatment of such diseases as uveitis remains a challenge for veterinary ophthalmologists. For example uveal layer of the eye disease in horses is still one of the fundamental problems in the horse breeding and leads to a huge loss in livestock. The

term uveitis covers a range of phenomena occurring during inflammation of the choroid and affecting all of its internal structure. By uveitis can cause a number of factors in the process which affects both the eyes themselves, as well as other organs and systems. To those factors are primarily infections including viral, fungal, bacterial, parasitic lesions and lesions.

Keywords: ophthalmology, uveitis, iridocyclitis, choroid, diagnosis and treatment.

ЛИТЕРАТУРА

1. Егоров Е.А. Офтальмологические проявления общих заболеваний. -М.: «ГЭОТАР-Медиа». -2006. - 590с.
2. Егоров Е.А. Рациональная фармакотерапия в офтальмологии // Руководство для практикующих врачей. —М. - 2006. -953с.
3. Копаева В.Г. Глазные болезни. -М. Медицина. -2002. -С. 340-349.
4. Катаргина Л.А. Эндогенные увеиты у детей и подростков. — М.:Медицина. - 2000.
5. Slatter D. Fundamentals of veterinary ophthalmology. -2008. -№4.



АКУШЕРСТВО, ГИНЕКОЛОГИЯ

УДК 616.391-084:636.2

**СОВРЕМЕННЫЙ СПОСОБ ПРОФИЛАКТИКИ
ГИПОКАЛЬЦИЕМИИ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ
КОРОВ В ПОСЛЕОТЕЛЬНЫЙ ПЕРИОД**

Корочкина Е.А. - ассистент кафедры акушерства и оперативной хирургии, Племяшов К.В. - зав.кафедрой акушерства и оперативной хирургии, Виденин В.Н. - профессор кафедры акушерства и оперативной хирургии, Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В статье приведены результаты интратекулярного введения кальция содержащих болюсов голландского и отечественного производства высокопродуктивным коровам. Основными компонентами минеральных болюсов явились биодоступный кальций, лактоза. Исследования были проведены на высокопродук-

тивных коровах голштинизированной черно-пестрой породы в транзитный период (3 недели до и 3 недели после отела) в возрасте от 3 до 7 лет. Введение первого болюса осуществлялось за 9-18 дней до отела, второго болюса - в день отела. Установлено, что интравенное введение минеральных болюсов обеспечивает организм высокопродуктивных коров в послеродовой период кальцием, предотвращает нарушение кальций-фосфорного обмена веществ. При этом отмечается увеличение уровня кальция на первые - вторые сутки после отела на 23 ($p < 0,05$) – 24 % у коров, получавших болюсы "Кальций-Интенсив» и на 25 – 12 % у коров, получавших болюсы «Кальций-Экстра» по сравнению с показателями контрольной группы. На основании результатов регулярного клинико-акушерского обследования животных установлено, что введение кальций содержащих болюсов исключает риск возникновения гипокальциемии в послеродовой период, а также является эффективным способом профилактики послеродовой патологии, этиологическим звеном которой является недостаток кальция.

Ключевые слова: высокопродуктивные коровы, минеральный обмен веществ, кальций-болюсы, профилактика гипокальциемии.

ВВЕДЕНИЕ

В странах с развитым промышленным молочным скотоводством родильный парез вместе с кетозом и гипомагниемией относят к наиболее серьезным нарушениям обмена веществ [5]. При этом последствиями гипокальциемии являются не только снижение молочной продуктивности, но и воспроизводительной способности животных. Конечным результатом является низкая рентабельность животноводческого хозяйства. К настоящему времени установлено около 30 теорий причин и развития гипокальциемии [2]. Однако, первостепенной этиологией данного заболевания является несбалансированность рациона животных по кальцию и фосфору. Несмотря на большой выбор предлагаемых традиционных способов минерального питания животных (корма, премиксы, инъекционные формы минеральных препаратов), проблема гипокальциемии остается актуальной и нерешенной.

Целью настоящих исследований явилось разработка нового способа профилактики гипокальциемии высокопродуктивных коров. Для достижения данной цели были поставлены такие задачи как: 1. установить влияние кальция содержащих болюсов (per os) на минеральный

обмен веществ; 2. определить нозологический профиль послеродового периода у коров, получавших болюсы, содержащие кальций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в хозяйстве, находящемся в Ленинградской области на 30 высокопродуктивных коровах (удой - 8115 кг) голштинизированной черно-пестрой породы в транзитный период (3 недели до и 3 недели после отела) в возрасте от 3 до 7 лет. Рацион кормления сухостойных коров (вторая половина, в расчете на голову) представлен сеном (1 кг), силосом (35 кг), зерном (2,5 кг), шротом соевым (0,4 кг), шротом подсолнечниковым (1,2 кг), жмыхом рапсовым (0,7 кг), кукурузой (1 кг), премиксом (0,2 кг), пропиленгликолем (0,2 кг), дрожжами (0,02 кг).

Было сформировано три группы. Животным первой подопытной группы ($n=10$) за 9-18 дней до отела был введен (per os) один болюс «Кальций-Интенсив» (производитель Россия, г. Санкт-Петербург, состав: кальций, лактоза), второй подопытной группы ($n=10$) в те же сроки – один болюс «Кальций-Экстра» (производитель «Holland Animal Care», Голландия, состав: кальций, целлюлозное волокно). Животным третьей

группы (контроль, n=10) болюсы не применяли. Повторное введение болюсов животным первой и второй групп осуществлялось в день отела.

Пробы крови брали за 9-18 дней до отела (первое введение болюсов), в день отела (второе введение болюсов), на вторые сутки после отела. В сыворотке крови определяли концентрацию общего белка по биуретовой реакции [3]; кальция – колориметрическим методом с применением диагностического набора НПФ «Абрис+» (в основе – реакция с реагентом Арсеназо III) [4]; фосфора – реакцией с молибдатом аммония, используя диагностический набор НПФ «Абрис+» [4]. Активность щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови определяли фотометрическим методом, основанным на гидролизе p-нитрофенилфосфата динатриевой соли, с использованием промышленных наборов фирмы «Мицар» [1].

На 3-8 сутки после отела проводили акушерское обследование (состояние слизистой оболочки преддверия влагалища, влагалища и влагалищной части шейки матки, степень раскрытия цервикального канала, наличие и характер выделений из него, определяли топографию половых органов, размеры, форму, консистенцию, тонус матки, состояние яичников и яйцепроводов).

Полученные данные обрабатывали статистически, используя программный пакет Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено, что применение болюсов «Кальций-Интенсив» и болюсов «Кальций-Экстра» положительно отражается на обмене кальция и фосфора у коров в послеродовой период.

При этом отмечается увеличение уровня кальция на первые - вторые сутки после отела на 23 (p<0,05)–24% в первой («Кальций-Интенсив») и на 25–12% во второй («Кальций-Экстра») подопытных группах по сравнению с показателями

контрольной группы. Содержание кальция на второй день после введения болюсов «Кальций-Интенсив» незначительно возросло с 2,4 до 2,4 ммоль/л, и напротив – снизилось с 2,5 до 2,2 ммоль/л после введения болюсов «Кальций-Экстра». На основании чего можно предположить, что болюсы «Кальций-Интенсив» имеют высокую биодоступность, по сравнению с болюсами «Кальций-Экстра». У животных контрольной группы в первые-вторые сутки после отела уровень кальция снизился на 39 % и находился ниже нормы, что свидетельствует о недостаточном обеспечении организма животного кальцием.

Необходимо также отметить тенденцию к снижению содержания кальция у коров второй подопытной (с 2,6 до 2,5) и контрольной (с 2,7 до 2,0) групп в послеродовой период по сравнению с последней декадой сухостоя, и напротив – увеличение уровня данного макроэлемента в крови коров первой подопытной группы (с 2,1 до 2,4).

Что же касается уровня фосфора, то данный макроэлемент находился в пределах нормы у подопытных животных. В первый-второй дни отела у животных первой группы регистрировали увеличение показателя на 18%–23% (p<0,05), второй группы – на 20%–18% (p<0,05) по сравнению с результатами контрольной группы. В крови животных контрольной группы на первые-вторые сутки после отела отмечалось снижение уровня фосфора на 12–8% по сравнению с нижней границей референтных значений. Соотношение Са:Р в первые-вторые сутки после отела в крови животных первой группы составляло 1,5:1, второй и контрольной группы - 1,5-1,6:1.

На основании результатов регулярно клинико-акушерского обследования животных экспериментальных и контрольных групп установлено, что у 26 исследуемых коров на 3-8 сутки после

отела матка располагалась в брюшной полости, размер рогов соответствовал 3-4-месячной беременности, стенка рогов матки утолщена, имела складчатую поверхность, у 14 исследуемых коров яичники были недоступны для исследований, у 16 - имели гладкую или мелкобугристую поверхность, со стороны рога плодовместилища - остатки желтых тел. При анализе структуры акушерско-гинекологических заболеваний, у трех животных первой группы регистрировали острый гнойно-катаральный эндометрит (на 5-7 сутки после отела), у одного животного - задержание последа (на первые сутки после отела); у четырех животных второй подопытной группы - острый гнойно-катаральный эндометрит (на 6-7 сутки после отела); у двух коров контрольной группы - задержание последа (на первые сутки после отела), у одной коровы - мертворождение (по причине слабых схваток и потуг), у одной коровы - субклинический мастит (на 6 день после отела). Случаев гипокальциемии зарегистрировано не было. Вместе с тем, можно предположить, что одной из основных причин слабых схваток и потуг у коровы контрольной группы явился недостаток уровня кальция, что отразилось на сократительной способности матки во время родов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований могут свидетельствовать о том, что интратретикальное введение минеральных болюсов отечественного («Кальций-Интенсив») и голландского («Кальций-Экстра») производства по следующей схеме: 1 болюс за 9-18 дней до отела, второй болюс – в день отела: 1. обеспечивает организм высокопродуктивных коров в послеродовой период кальцием; 2. предотвращает нарушение кальций-фосфорного обмена веществ; 3. является эффективным способом профилактики гипокальциемии высокопродуктивных коров.

New method of hypocalcemia' prevention of high-productive cows in postpartum period.

E. Korochkina, K. Plemyashov, V. Videnin.

ABSTRACT

The article includes results of intrareticulum administration of calcium boluses made by Holland and Russia to high-productive cows. The basic composition of mineral boluses were a bioavailable calcium and a lactose. The research has done on high-productive cows of Holstein black-and-white breed in transit period (3weeks before and 3 weeks after calving) in age from 3 to 7 years. The intrareticulum administration of first bolus has done in 9-18 days before calving, second bolus - in the day of calving. We have determined that the intrareticulum administration of Calcium boluses provide the organism of high-productive cows in postpartum period the calcium, prevent the disorder of calcium-phosphorus metabolism. In addition, there are the increase of calcium level in first-second days after calving on 23-24 % in cows which have got "Calcium-Intensiv" boluses and on 25-12% in cows which have got "Calcium-Extra" boluses compare to a data of control group. On the ground of results of regular clinical-obstetrics research of animal we suppose that intrareticulum administration of calcium boluses exclude a risk of hypocalcemia' rise in the postpartum period and to be an effective method of prevention of postpartum pathology which etiology is a calcium' deficit.

Key words: high-productive cows, mineral metabolism, calcium boluses, hypocalcemia, prevention.

ЛИТЕРАТУРА

1. Долгов В.В. Клиническая лабораторная диагностика: Национальное руководство. Геотар-Медиа. -2012. - 928с.
2. Ковзов В.В. Особенности обмена веществ у высокопродуктивных коров. – Витебск. -2007. -160 с.

3. Кондрахин И.П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. - М.: Агропром-издат. -2004. -531с.
4. Тиц Н.У. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. -М.: Лабинформ. - 1997. -460с.

5. Oetzel G.R. Effect of Oral Calcium Bolus Supplementation on Early Lactation Health and Milk Yield in Commercial Dairy Herds // J..DairySci. -2012. -95(12). -P. 7051-65.



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК: 615.256.58: 618.19-002-084:636.2

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «МАСТИНОЛ» НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ

Барышев В.А.- ассистент каф. фармакологии и токсикологии
Соколов В.Д. – д.в.н, профессор, каф. фармакологии и токсикологии,
Племяшов К.В. - д.в.н., профессор, зав. каф. акушерства и оперативной хирургии
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В настоящее время лекарственные препараты применяемые в ветеринарии и медицине являются химическими веществами и в подавляющем большинстве остаются токсическими для организма. Вопросам нежелательных эффектов фармакологических препаратов уделяется все больше внимания. В ветеринарии огромный вред животноводству приносят так называемые «скрытые» побочные эффекты, когда от применения химиопрепаратов возникают дисбактериозы, поражения печени, почек, иммунодефициты. Причем сообщения носят не только общетеоретический характер, но и на основании экспериментов показывают побочные отрицательные эффекты на организм животных лекарственных средств, что сказывается, в том числе и на качестве выпускаемой животноводством продукции [8,10].

Целью исследования, было изучение влияния препарата «Мастинол» на иммунологический статус лактирующих коров. В результате проведенного лечения отмечали, повышение естественной резистентности опытных животных, что выражалось в увеличении бактерицидной, лизоцимной и фагоцитарной активности сыворотки крови. Анализ метаболизма лимфоцитов показал, что применение «Мастинола» также способствует активизации функции клеток иммунной системы и повышению уровня иммунологической защиты подопытных животных.

Ключевые слова: естественная резистентность, лимфоцит, бактерицидная, лизоцимная активность, мастит.

ВВЕДЕНИЕ

Среди заболеваний коров дойного ста-

да, которые приводят к снижению их молочной продуктивности и санитарно-

технологическим порокам молока, особое место занимает мастит. Данное заболевание характеризуется повсеместным распространением, которое наносит большой экономический ущерб [9].

При этом наибольшую опасность представляет субклинический мастит, который не диагностируется клиническими методиками, молоко от больных субклиническим маститом коров является плохим субстратом для развития молочнокислых микроорганизмов, используемых в молочной промышленности для заквасок. В 97,5% случаев такое молоко непригодно для сыроделия. Установлено, что при наличии в хозяйстве до 10% коров со скрытыми маститами санитарное качество молока ухудшается вдвое [9,10].

В последние годы в нашей стране и за рубежом ведутся интенсивные работы по созданию новых, высокоэффективных противомаститных лекарственных средств антимикробного и противовоспалительного действия. Возрастает интерес к разработке и использованию нетрадиционных экологически безопасных методов лечения коров при данной патологии, которые доступны к использованию в производственных условиях.

Молочная железа - это неотъемлемая часть всего организма, возникновение в ней воспалительного процесса является проявлением не только реакции данного органа, но и всего организма в целом. Вследствие этого большое влияние на тяжесть воспалительного процесса в вымени наряду с патогенными свойствами возбудителя имеет и состояние резистентности организма, а также самой молочной железы. Нередко течение и исход мастита зависит не столько от локализации процесса и патогенных свойств возбудителя, сколько от состояния всего организма, реактивности тканей молочной железы [5]. Установлено, что антибиотики оказывают негативное влияние на ее иммунологическую реактивность, что может объяс-

нить недостаточную эффективность лечения [1,2,3,7].

Общая резистентность понятие комплексное и одной из составных частей ее является состояние иммунитета, в значительной степени определяющее уровень здоровья любого организма. Поэтому важным является использование противомаститных препаратов, которые бы, по крайней мере, не подавляли факторы защиты молочной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа по изучению терапевтической эффективности нового противомаститного препарата «Мастинол» проводилась в сравнительном аспекте с препаратом «Мастисан А». Диагноз на мастит ставили комплексно: учитывали клиническое состояние молочной железы, органолептическую оценку секрета, полученного при пробном сдаивании, результаты проб отстаивания и с мастидином.

Было отобрано две группы коров по 35 голов в каждой. Первой группе в качестве лечения субклинического мастита коров применяли препарат «Мастинол». Испытуемое лекарственное средство вводили в надвыменную складку в дозе 5 мл на животное, 1 раз в день до клинического выздоровления животных. Второй группе для лечения мастита применяли «Мастисан А». Препарат вводили внутривенно в дозе 10 мл на каждую пораженную четверть вымени 1 раз в день до клинического выздоровления животных. Животных в опытные группы подбирали по принципу аналогов (возраст, масса, продуктивность, сроки отела и т.д.).

Уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови и молоке определяли методом радиальной иммунодиффузии.

Бактерицидную активность сыворотки крови определяли методом фотон нефелометрии по отношению к кишечной палочке.

Лизоцимную активность определяли

по методу З.В. Ермольевой и Л.М. Якобсона 1949 в модификации В.М. Шубика.

Фагоцитарную активность определяли, путем реакции фагоцитоза с использованием культуры золотистого стафилококка штамм 209-Р.

Метаболизм лимфоцитов изучали с помощью цитохимической жидкофазной методики (Пастушенков В.Л., Митин Ю.А., 1993).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении влияния препарат «Мастинол» на иммунный статус организма лактирующих коров отмечали увеличение бактерицидной активности сыворотки крови в опытных группах на 11,43% и 10,56%.

В процессе проводимого лечения отмечали достоверное ($p \leq 0,05$) увеличение лизоцима в сыворотке крови в группе животных, которых лечили препаратом «Мастинол» на 27,9%, в группе животных которым применяли препарат «Мастисан А», также отмечено повышение лизоцимной активности на 36,30% соответственно. Гуморальный иммунный ответ обеспечивается антителами, или иммуноглобулинами. В крови опытных коров мы изучали три класса иммуноглобулинов А, М, G. Анализ полученных данных показывает, что у выздоровевших коров наблюдается достоверное ($p \leq 0,05$) повышение IgG на 12,97% в группе животных которых лечили препаратом «Мастинол» и, на 9,13% в группе животных которых лечили препаратом «Мастисан А».

Полученные данные также показывают, что фагоцитарная активность больных животных за период лечения повысилась на 18,61% и на 15% соответственно. Фагоцитарное число повысилось в группе животных, которых лечили препаратом «Мастинол» на 41%, а которых лечили препаратом «Мастисан А» на 53%. При оценке фагоцитарного индекса наблюдалась схожая картина с изменениями фагоцитарной активности и фагоцитарного

числа. За период лечения фагоцитарный индекс увеличился на 35,81% и на 23,97% соответственно.

Для более полного определения влияния препарата «Мастинол» на иммунологический статус, провели исследование активности ферментов дегидрогеназ лимфоцитов крови.

Активность внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов отражает состояние энергообмена не только самих клеток, но и внутренних органов, особенно находящихся в состоянии напряжения или болезни.

Гликолиз считают одним из основных биохимических циклов лимфоцита, а лактатдегидрогеназа является ключевым ферментом этого цикла. Согласно полученным данным активность ЛДГ снижена на 11,4% в подопытной группе по отношению контрольной, что свидетельствует об усилении энергетических процессов в лимфоците. По данным наших исследований, активность Г-6-ФДГ повышается на 10%, что указывает на усиление процессов пентозного цикла. В наших исследованиях мы отмечали повышение активности и СДГ в подопытной группе на 32,35% по отношению к контрольной группе.

В нашей работе установлено возрастание активности ферментов аэробного окисления (СДГ) при снижении активности ЛДГ, что свидетельствует о регуляции метаболизма лимфоцита на основе эффекта Пастера.

Наиболее значимым челночным механизмом, по которому можно оценивать функциональное состояние лимфоцитов, является альфа-глицерофосфатный цикл [6]. По нашим данным активность фермента а-ГФДГ была выше в подопытной группе на 21,25% по сравнению с этим показателем в контрольной группе. Активность НАДФ – оксиредуктазы в подопытной группе больше на 34,81%. Из полученных данных можно сделать вывод

об активации кислородзависимого механизма биоцидности в опытной группе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя полученные данные можно сделать вывод, что в процессе проводимого лечения препаратом «Мастинол», отмечали повышение естественной резистентности опытных животных, что выразилось в увеличении бактерицидной, лизоцимной и фагоцитарной активности сыворотки крови. Анализ метаболизма лимфоцитов показал, что применение «Мастинола» также способствует активизации функции клеток иммунной системы и повышению уровня иммунологической защиты подопытных животных.

Effect of preparation "MASTINOL" the immunological status of lactating cows.

V. Baryshev, V. Sokolov, K. Plemyshev.

ABSTRACT

Now the medicines applied in veterinary science and medicine are chemicals and in the majority remain toxic for an organism. To questions of undesirable effects of pharmacological preparations it is given more and more attention. In veterinary science huge harm to animal husbandry is done by the so-called "hidden" side effects when from application of himiopreparat there are dysbacterioses, damages of a liver, kidneys, immunodeficiencies. And messages have not only general-theoretical character, but also on the basis of experiments show side negative effects on an organism of animal medicines that affects including on quality of production released by animal husbandry [8]. Studying of influence of the preparation "Mastinol" on the immunological status of the lactating cows was a research objective. As a result of the carried-out treatment noted, increase of natural resistance of skilled animals that was expressed in increase in bactericidal, lizotsimny and fagotsitarny activity of serum of blood. The analysis of a metabolism of lymphocytes

showed that application of "Mastinol" also promotes activization of function of cages of immune system and increase of level of immunological protection of experimental animals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Н.Л. Ветеринарная гомеопатия – новое направление в лекарственной ветеринарии // Современные вопросы ветеринарной гомеопатии. – СПб. – 2005. – С.6.
2. Войтенко В.Д. Повышение эффективности байтрила и доксицилина с помощью иммуностимулятора фоспренил // Международный вестник ветеринарии. – СПб. – 2012. –№1. –С.29.
3. Войтенко В.Д. Целесообразность повышения эффективности химиотерпевтических средств // Матер. 111 съезда фармакологов РФ. Том 7. –2007. –С. 1-1641.
4. Демидова Л.Д. Значение Л-трансформации стафилококков при мастите коров // Сб.науч. трудов всерос. НИИ вет., санитарии, гигиены и экологии. -2003. - Т.115. -С.40-51.
5. Касянчук В.В. Мастит: основы диагностики и лечения // Молочное и мясное скотоводство. -1992. -№4. -С. 14-15.
6. Пастушенков В.Л. Лечение иммунодефицитов // Фармакотерапия с основами фитотерапии. -СПб. -1995. -Т.2. -С.46-50.
7. Соколов В.Д. Расширять использования гомеопатических средств у животных // Современные вопросы ветеринарной гомеопатии. –СПб. -2005. -С. 6.
8. Соколов В.Д. Предупреждать и корректировать побочное действие лекарственных веществ // Мат. XIX междунар. науч.- практич. конф. «Новые фармакологические средства в ветеринарии». СПб.-2007. – С. 3-4
9. Студенцов А.П. Ветеринарное акушерство и гинекология. - М. 1986. -480с.
10. Мальцев С.А. Комплексная программа по контролю мастита в молочном животноводстве // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2010. -№11. -С.13-20.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ МИРАМИСТИНА В МОЛОКЕ И ТКАНЯХ КОРОВ С МАСТИТОМ И ЭНДОМЕТРИТОМ

Крутяков Ю.А.¹ - к.хим.н., Кузьмин В.А.² - д.вет.н., профессор кафедры эпизоотологии, Лунегов А.М.² - к.вет.н., доцент кафедры фармакологии и токсикологии, Савенков К.С.² - к.с.-х.н., доцент кафедры эпизоотологии, Полякова О.Р.² - к.вет.н., доцент кафедры эпизоотологии, Нуднов Д.А.² - аспирант кафедры эпизоотологии

¹Московский государственный университет

²Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Послеродовые эндометриты и маститы, ведущие к длительному бесплодию и развитию воспалительно-дистрофических процессов в репродуктивных органах и молочной железе, напрямую влияют на рентабельность молочного скотоводства. Разработано огромное количество средств и способов лечения эндометритов и маститов у коров с эффективностью от 65 до 97% и более. Однако практически во все средства терапии входят антибиотики и химиотерапевтические препараты, гормоны и др., которые могут выделяться с молоком и способствовать появлению антибиотикорезистентной микрофлоры. Ветеринарный препарат Аргумистин®, основным действующим веществом которого являются частицы коллоидного серебра, стабилизированные мирамистином, лишен этих недостатков. Цель работы - определение остаточных количеств мирамистина в молоке, тканях и органах коров при интрацистернальном и внутриматочном применении препарата «Аргумистин». Интерцистернальное применение препарата «Аргумистин» (50 мкг/мл серебра коллоидного, 100 мкг/мл мирамистина) коровам в дозе 10 мл в две четверти вымени 2 раза в сутки в течение 10 суток не ведёт к накоплению мирамистина в тканях и органах коров. Последний полностью выводится из организма на вторые сутки после прекращения введения препарата. Внутриматочное применение препарата «Аргумистин» (50 мкг/мл серебра коллоидного, 100 мкг/мл мирамистина) коровам в дозе 100 мл ежедневно в течение 7 суток не ведет к существенному накоплению мирамистина в тканях и органах коров. Мирамистин полностью выводится из организма на вторые сутки после прекращения введения препарата.

Ключевые слова: коровы, мастит, эндометрит, коллоидное серебро, Аргумистин, мирамистин, молоко, ткани.

ВВЕДЕНИЕ

В Ленинградской области путем голштинизации создано высокопродуктивное молочное стадо коров, средняя продуктивность которых составляет от 6724 л в год и выше [1]. Однако серьезной актуальной проблемой для животноводства являются послеродовые маститы и эндо-

метриты, ведущие к длительному бесплодию и развитию воспалительно-дистрофических процессов в репродуктивных органах и молочной железе, которые напрямую влияют на рентабельность молочного скотоводства. Послеродовые эндометриты составляют 10 - 40% и более, в ряде хозяйств они протекают как

энзоотия, которая проявляется у большого количества отелившихся коров [3]. Маститы, степень распространения которых на молочных фермах и ком-плексах колеблется от 18 до 50%, являются одной из основных причин преждевременной выбраковки коров в хозяйствах, вызывают снижение удоя и санитарного качества молока [6].

В настоящее время разработано огромное количество средств и способов лечения эндометритов и маститов у коров с эффективностью от 65 до 97% и более. Например, Мاستицеф [2], Прималакт [17], Биогель-10 [12], Тетраметр [13], препарат из экстракта плаценты и бактериофагов [8], пробиотик «Ветом-3» [9], биоферментный препарат «ЭНДО-МАСТ» [18] и другие. Однако одним из недостатков антибиотиков, специфических БАВ (гормоны, простагландины и др.) является выделение их с молоком [13,17]. При несоблюдении санитарных требований в некоторых хозяйствах, молоко от этих животных поступает в продажу [6], что оказывает негативное воздействие на здоровье людей, часто вызывая аллергические реакции и другую патологию.

Другим недостатком существующих препаратов против маститов и эндометритов, несмотря на их определенную эффективность [13,17], является появление патогенных штаммов микроорганизмов, обладающих резистентностью к наиболее часто применяемым антибиотикам. В связи с этим вновь особую актуальность приобретают препараты на основе серебра [11], к которым, в связи с неспецифическим механизмом их антимикробного действия, патогенные микроорганизмы практически не способны выработать устойчивость. Повышенный интерес к серебру возник в связи с выявлением его действия в организме как микроэлемента, необходимого для нормального функционирования органов и систем, а также обладающего иммунокорректирующим и

мощным антибактериальным и противовирусным свойствами [5].

К одним из таких средств относится ветеринарный препарат Аргумистин®, основным действующим веществом которого являются частицы коллоидного серебра, стабилизированные мирамистином [14]. Молекулы стабилизатора мирамистина, действуя как типичное ПАВ, взаимодействуют с клеточной мембраной, уменьшая ее стабильность и увеличивая проницаемость, что позволяет ионам серебра, образующимся при медленном окислительном растворении частиц коллоидного серебра в непосредственной близости от клеточной мембраны, эффективно проникать внутрь клетки патогена и вызывать ее гибель [15,16].

Совместное действие мирамистина и наносеребра приводит к синергетическому увеличению антибактериальной активности. На примере *Escherichia coli* ATCC 25922 показано, что стабилизированные мирамистином наночастицы в 10 раз более эффективны, чем цитратное серебро, и в 20 раз, чем сам мирамистин [4].

Необходимость изучения остаточных количеств мирамистина в молоке и в организме животных связана с определением периода выведения мирамистина из организма, а также с установлением допустимого срока убоя коров на мясо и сроков браковки молока после применения мирамистинсодержащих препаратов – в целях контроля пищевой безопасности продуктов животноводства.

Цель работы - определение остаточных количеств мирамистина в молоке, тканях и органах коров при интрацестермальном и внутриматочном применении препарата «Аргумистин».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования был использован препарат «Аргумистин», разработанный в ООО «НаноБиотех» (патент РФ №2419439). Животные для проведения опыта подбирались в

группы по принципу аналогов с учетом массы тела и находились в одинаковых условиях кормления и содержания, имели возраст 5-6 лет. Лактирующих животных доили 2 раза в сутки, образцы молока для определения содержания мирамистина отбирали во время доек. Для определения остаточного количества мирамистина в молоке, тканях и органах коров при интрацистернальном и внутриматочном при применении препарата «Аргумистин», были сформированы несколько групп из лактирующих и яловых коров чёрнопестрой породы, предназначенных к плановому забою: Группа 1: 3 коровы (яловые) – интерцистернальное применение препарата «Аргумистин» (50 мкг/мл серебра коллоидного, 100 мкг/мл мирамистина) в дозе 10 мл в две четверти вымени 2 раза в сутки в течение 10 сут. Группа 2: 3 коровы (яловые) – внутриматочное применение препарата «Аргумистин» (50 мкг/мл серебра коллоидного, 100 мкг/мл мирамистина) коровам в дозе 100 мл ежедневно в течение 7 сут. Группа 3: 1 корова (яловая) – контроль, эта корова не получала «Аргумистин» и других препаратов, содержащих четвертичные аммонийные соединения. Группа 4: 3 коровы (лактирующие) – интерцистернальное применение препарата «Аргумистин» (50 мкг/мл серебра коллоидного, 100 мкг/мл мирамистина) в дозе 10 мл в две четверти вымени 2 раза в сутки в течение 10 суток, препарат вводили сразу после утренней и вечерней доек, после окончания введения препарата образцы молока у животных брали во время утренней и вечерней доек. Группа 5: 1 корова (лактирующая) – контроль, эта корова не получала «Аргумистин» и другие препараты, содержащие четвертичные аммонийные соединения; образцы молока у животного брали во время утренней и вечерней доек. Группа 6: 3 коровы (лактирующие) – внутриматочное применение препарата «Аргумистин» (50 мкг/мл серебра коллоидного, 100

мкг/мл мирамистина) коровам в дозе 100 мл ежедневно в течение 7 сут, препарат вводили сразу после утренней и вечерней доек, после окончания введения препарата образцы молока у животных брали во время утренней и вечерней доек.

Для определения остаточных количеств мирамистина в биологическом материале коров (мышечная ткань, сердце, печень, почки, мозг, легкие, молочные железы) использовали модифицированный экстракционно-фотометрический метод определения катионных ПАВ в мышечной ткани животных по В.П. Николаенко [7], с модифицированной схемой пробоподготовки [10]. Содержание препарата в биологическом материале рассчитывали на основании оптической плотности экстрактов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Испытуемый препарат и при интрацистернальном и внутриматочном введении элиминируется из организма коров с высокой скоростью. Так, даже при длительном (10 сут) ежедневном интрацистернальном введении 40 мл препарата и при длительном (7 сут) ежедневном внутриматочном введении 100 мл препарата уже на вторые сутки содержание мирамистина в тканях снижается до уровня, соответствующего фоновому значению в тканях и органах животного, не получавшего «Аргумистин». При интерцистернальном введении мирамистин элиминируется из организма коров, в основном, с молоком. Уже на вторые сутки содержание мирамистина в молоке уменьшается до уровня, соответствующего фоновому значению.

Для определения периода полувыведения ($T_{1/2}$) мирамистина с молоком при интерцистернальном введении препарата «Аргумистин» зависимость содержания мирамистина (w_m) в молоке от времени (t), прошедшего после прекращения введения препарата, $w_m = w_{m,0} 2^{-t/T}$, где $w_{m,0}$ – максимально достигаемое содержание

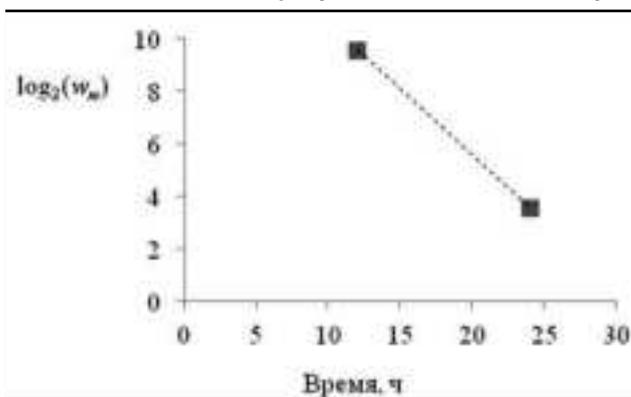


Рис. 1. Определение периода полувыведения мирамистина с молоком при интерцистернальном введении препарата «Аргумистин», w_m – содержание мирамистина в молоке коров группы 1, мкг/кг.

мирамистина в молоке после введения препарата, была линеаризована в координатах $\log_2(w_m) - t$ (рис. 1).

Значение периода полувыведения мирамистина с молоком при интрацистернальном введении препарата «Аргумистин» составило 2 ч.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Интерцистернальное применение препарата «Аргумистин» не ведёт к накоплению мирамистина в тканях и органах коров. Мирамистин обнаруживается только в молочной железе (максимальное содержание ≤ 1 мкг/кг), он полностью выводится из организма на вторые сутки после прекращения введения препарата. На вторые сутки после прекращения введения препарата «Аргумистин» содержание мирамистина в молоке уменьшается до уровня, соответствующего фоновому значению.

2. Внутриматочное применение препарата «Аргумистин» не ведёт к существенному накоплению мирамистина в тканях и органах коров (мирамистин обнаруживается только в ткани матки, максимальное содержание не превышает 1 мкг/кг), мирамистин полностью выводится из организма на вторые сутки после прекращения введения препарата. При внутриматочном

применении препарата «Аргумистин» мирамистин в молоке не обнаруживается.

Determination of residues of miramistina in milk and tissues of cows with mastitis and endometritis.

V. Kuzmin, A. Lunegov, A. Kudryavtseva, K. Savenkov, D. Nudnov, Yu. Krutyakov.

ABSTRACT

Urgent problem for livestock are postpartum mastitis and endometritis, leading to long-term infertility and the development of inflammatory and degenerative processes in the reproductive organs and the mammary gland, which directly affect the profitability of dairy farming. Developed huge amount of funds and methods of treatment of endometritis and mastitis in cows with efficiency from 65 to 97% or more. However, in almost all therapy agents include antibiotics and chemotherapeutic agents, hormones etc.. Which may be released from milk and contribute to the emergence of antibiotic resistance of microflora. Veterinary drug Argumistin®, the main active substance is colloidal silver stabilized miramistin, does not have these disadvantages. Purpose - determination of residual amounts of miramistina in milk, tissues and organs of cows at intracisternal and intrauterine use of the drug "Argumistin." Intercisternal use of the drug "Argumistin" (50 ug / ml of colloidal silver, 100 ug / ml miramistina) cows at a dose of 10 ml in two quarters of the udder, 2 times a day for 10 days did not lead to the accumulation of miramistina in tissues and organs of cows. Last completely eliminated from the body on the second day after the cessation of drug administration. Intrauterine application of «Argumistin" (50 ug / ml of colloidal silver, 100 ug / ml miramistina) cows at a dose of 100 ml of a hedgehog-day for 7 days did not lead to a significant accumulation of

miramistina in tissues and organs of cows. Miramistin completely eliminated from the body on the second day after the cessation of drug administration.

Key words: cows, mastitis, endometritis, colloidal silver, Argumistin, miramistin, milk, tissue.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноходова М.В. Мониторинг маститов у коров в хозяйствах Ленинградской области // Международный вестник ветеринарии. -2011 -№3. -С. 31-32.
2. Зимников В.И. Разработка и применение препарата мастицеф для лечения мастита у коров в период лактации. - Воронеж. -2011. -128с.
3. Кротов Л.Н. Цитологическое исследование влагалищной слизи коров для оценки и прогноза патологических состояний органов размножения // Международный вестник ветеринарии. -2011. -№4. -С. 28-31.
4. Крутяков Ю.А. Синтез, люминесцентные и антибактериальные свойства наночастиц серебра. -М. -2008. -26с.
5. Лунегов А.М. Фармакологическая характеристика антисептического препарата //Международный вестник ветеринарии. -2008. -№1. -С. 33-38.
6. Маловастый К.С. Современные методы диагностики и лечения маститов // Международный вестник ветеринарии. -2006. -№3-4. -С.20-24.
7. Николаенко В.П. Токсичность бактерицида и его количественное определение // Ветеринария. -2005. -№4. -С. 38-41.
8. Никульшина Ю.Б. Комплексный метод лечения различных форм мастита. - Саратов. -2004. -168с.
9. Павленко О.Б. Применение пробиотика "Ветом-3" для лечения коров при субклиническом мастите. -Воронеж. -2005. -163с.
10. Попова О.В. Совершенствование специфической профилактики сальмонеллеза у телят с применением инактивированной вакцины в сочетании с мирамистином. - Воронеж. -2011. -145с.
11. Соколов В.Д. Антимикробные средства в птицеводстве. -М.:Колос. -1984. -174с.
12. Тетерев И.И., Бадьин В.А. Препарат "биогель-10" для лечения коров, больных маститами и эндометритами: Патент RU 2102074.
13. Шапошников И.Т. Активно действующие вещества Тетрамера и его остаточные количества в биологических жидкостях у коров // Международный вестник ветеринарии. -2012. -№2. -С. 38-39.
14. Vertelov G.K. A versatile synthesis of a highly bactericidal Myramistin® stabilized silver nanoparticles // Nanotechnology. -2008. -Vol.19.
15. Kudrinskiy A.A. The mode of action of silver and silver halides nanoparticles against *Saccharomyces cerevisiae* cells // J. Nanoparticles. -2014. -Article ID 568635.
16. Kudrinsky A.A. Further understanding of the mode of the silver nanoparticles action against *Saccharomyces cerevisiae* cells // Metal Ions in Biology and Medicine and Aqueous Chemistry and Biochemistry of Silicon. -Paris. -2011. -Vol.11. -P. 190-195.
17. <http://www.vetinterfarm.by/article/4.html>

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОМПЛЕКСНОГО АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ЦИПРОВЕНТОР

Енгашев С.В.¹ - д. вет. н., профессор, генеральный директор,

Филимонов Д.Н.^{1,2} - аспирант, младший научный сотрудник,

Павленко Г.И.³ - к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории токсикологи
¹ООО «НВЦ Агрорезиста», ²Всероссийского научно-исследовательского и технологи-
ческого института биологической промышленности, ³Всероссийский научно – исследо-
вательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии Российской академии
сельскохозяйственных наук.



РЕФЕРАТ

В условиях субхронического воздействия препарат «Ципровентор» вызывал достоверные изменения со стороны нервной системы, массы животных, крови (снижение гемоглобина) и тенденцию к снижению поведенческих показателей. Это показывает, что препарат обладает незначительной как материальной, так и функциональной кумуляцией. Однако все изменения проявлялись только на уровне доз, в несколько раз больших, чем практические, и в условиях многократного введения. В связи со сказанным препарат не представляет реальной опасности в условиях лечения сельскохозяйственных животных и птицы.

Ключевые слова: крысы, мыши, острая токсичность, подострая, кумуляция, кровь, печень.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время возрастает значение фармакопрофилактики и лечения болезней сельскохозяйственных животных в связи с появлением инфекций со сложной этиологией, обусловленной повышением вирулентности условно-патогенных микроорганизмов. Часто эти болезни имеют общую симптоматику поражения дыхательных путей или пищеварительного тракта, приобретают характер смешанных инфекций, отличающихся от классических форм проявления той или иной болезни, осложненным течением. [1, 2].

В специализированных хозяйствах, особенно в межхозяйственных предприятиях, широкое распространение получили желудочно-кишечные болезни молодняка сельскохозяйственных животных, на долю которых приходится до 80% общей заболеваемости [3]. Комплексное изуче-

ние их этиологии показало, что на фоне нарушения технологии получения, и выращивания молодняка, возбудителями диарей у телят являются энтеропатогенные и энтеротоксигенные эйшерихии, псевдамоны, энтеробактеры, протеи, стрептококки, сальмонеллы и др. [4,5,6].

Огромный экономический ущерб, причиняемый животноводческим хозяйствам желудочно-кишечными заболеваниями, вызывает необходимость поиска путей и методов совершенствования и изыскания новых эффективных средств, их профилактике и лечении.

Применение антибактериальных препаратов в животноводстве и птицеводстве является неотъемлемой частью технологии выращивания и обеспечения получения здорового поголовья. Эффективность лечения инфекционных заболеваний антимикробными препаратами зависит от

правильного выбора лекарственного средства с учетом чувствительности к нему возбудителя, выбора оптимальной дозы, кратности и длительности его применения, что возможно после постановки точного диагноза, выделения возбудителя заболевания и определения его чувствительности.

Фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» разработан новый комплексный препарат на основе антибиотиков относящихся к группе фторхинолонов и аминогликозидов – Ципровентор.

В задачу наших исследований входило изучение острой токсичности, кумулятивных свойств комплексного препарата и функциональное состояние печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

По внешнему виду препарат представляет собой желтый порошок. Экспериментальные исследования по изучению острой токсичности были проведены на белых крысах (24 головы) и белых мышках (24 головы). Животных содержали в виварии, согласно санитарным правилам и на стандартном рационе в соответствии с Приказом МЗ СССР №1045-73 от 06.04.1973 г.[7]; Правилами лабораторной практики [8] и Приказом МЗ СССР №1179 от 10.10.1983 г.[9].

Животные получали сухой брикетированный корм ПК-120 ГОСТ Р51849-2011 Р.5 (ООО «Лабораторкорм», г. Москва). Вода для питья – водопроводная. Животных содержали в виварии при температуре воздуха 20-22 градуса и относительной влажности – 60-70%.

Подготовку животных к опыту осуществляли методом «случайных чисел», используя в качестве критерия массу тела. Исходный вес животных колебался в пределах 190-200 г для крыс и 20-21г для мышей. В опыт брали клинически здоровых животных, которые предварительно выдерживались на 15- дневном карантине. Для введения в желудок была приготовлена 50% суспензия. Были испытаны 4

дозы: 3, 6, 8 и 10 г/кг массы тела. При этом объем вводимой суспензии для крыс составлял 1,2- 4,0 мл, для мышей - 0,12-0,4 мл. При исследовании руководствовались утвержденными Методическими рекомендациями [10, 19].

Состояние периферической крови оценивали на гематологическом анализаторе Cell-dyn. Определяли количество гемоглобина, лейкоцитов и эритроцитов. Кроме того, использовали различные расчетные величины, отражающие физико-химические свойства эритроцитов, позволяющие количественно характеризовать важные показатели состояния эритроцитов [11].

При изучении влияния препарата на печень использовались показатели, характеризующие обезвреживающую и белковообразовательную функции органа.

О белковообразовательной функции печени животных судили по содержанию общего белка в сыворотке крови (на рефрактометре).

Обезвреживающая функция печени исследовалась по способности органа синтезировать гиппуровую кислоту (метод Квика-Пытеля в модификации Н.Г.Степановой, 1962) [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение острой токсичности препарата «Ципровентор». Препарат в виде суспензии насильно вводился в желудок с помощью металлического зонда. Были испытаны 4 дозы: 3, 6, 8 и 10 г/кг массы тела. Каждая доза вводилась 6 животным. Контрольные животные получали воду в тех же объемах. За животными вели наблюдение в течение 2-х недель после введения, отмечая сроки гибели или выздоровления животных. Учитывали общее состояние животных, сохранение двигательных функций, аппетита, состояние шерстного покрова, дыхания, реакцию на внешние раздражители.

Результаты представлены на таблице № 1.

Таблица №1

Результаты острой токсичности препарата «Ципровентор» в опыте на крысах и мышах

Эффект	Дозы в г/кг; (в мл/200 г), крысы			
	3,0 (1,2 мл)	6,0 (2,4 мл)	8,0 (3,2 мл)	10,0 (4,0мл)
Выжило	6	6	6	6
Погибло	0	0	0	0
Эффект	Дозы в г/кг; (в мл/200 г), мыши			
	3,0 (0,12 мл)	6,0 (0,24 мл)	8,0 (0,32 мл)	10,0 (0,4мл)
Выжило	6	6	6	6
Погибло	0	0	0	0

Таблица №2

Результаты определения гибели животных в подостром эксперименте

Суммарная доза в г/кг	Гибель животных		Дни гибели
	Количество	%	
22,0	0/10	0	11
24,0	1/10	10	12
26,0	2/10	20	13
28,0	3/10	40	14
32,0	5/10	50	16
36,0	8/10	80	18
38,0	10/10	100	19

Как следует из таблицы, в результате введения препарата в диапазоне доз 3-10 г/кг, гибели животных не выявлено, поэтому LD_{50} определить не представляется возможным. Максимально-переносимой дозой препарата в однократном опыте следует считать дозу – 10 г/кг.

Клиническая картина интоксикации животных не выражена. Все опытные животные были активны, подвижны, хорошо принимали корм и практически не отличались от контрольных животных. При проведении патологоанатомического вскрытия была отмечена незначительная гиперемия слизистой желудка у крыс после введения дозы 10 г/кг. Макроанатомических изменений печени, почек, сердца и селезенки выявлено не было.

Таким образом, препарат «Ципровентор», согласно классификации (ГОСТ 12.1.007-76) [20], относится к 4-му классу токсичности (малотоксичное соединение).

Изучение кумулятивных свойств пре-

парата «Ципровентор» в подостром эксперименте. Использовался метод, рекомендованный для нетоксичных соединений. Препарат вводился в желудок белых крыс в постоянной дозе, составляющей 1/5 от максимально-введённой дозы (10 г/кг). Ежедневно вводимая доза составляла 2,0 г/кг (0,8 мл 50% суспензии на 200 г м.т.), с постоянной корректировкой дозы в зависимости от массы тела животных. Длительность эксперимента 19 дней. Результаты представлены в таблицах №2,3. Определение LD_{50} проводили по формуле: $LD_{50} = LD_{100} - (\sum Zd)/n = 38,0 - 74,0/10 = 30,6$ г/кг

Графический анализ зависимости «доза-эффект» позволяет определить смертельные дозы - LD_{16} и LD_{84} , которые составили - 25,1 г/кг и 36,5 г/кг, соответственно. Стандартную ошибку устанавливали по формуле Гаддама:

$S = (\sqrt{Kxsxd})/n$, где $K = 0,564$; d - средняя интервалов между дозами = 3,0; «s» рассчитывается по следующей формуле:

Таблица №3
Результаты определения параметров токсичности препарата «Ципровентор» в условиях повторного эксперимента

Доза г/кг	22,0	24,0	26,0	28,0	32,0	36	38
Выжило	0	9	8	7	5	2	0
Погибло	0	1	2	3	5	8	10
Z	0,5	1,5	2,5	4,0	6,5	9,0	
d	2,0	2,0	4,0	4,0	4,0	2,0	
Zd	1,0	3,0	10,0	16,0	26,0	18,0	

Примечание: Z-среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен учитываемый эффект под влиянием 2-х смежных доз; d – интервал между 2-мя смежными дозами

$$S = (\text{ЛД}_{84} - \text{ЛД}_{16}) / 2 = (36,5 - 25,1) / 2 = 5,7 \text{ г/кг}$$

В итоге «стандартная ошибка» составила: $S = (\sqrt{0,564 \times 5,7 \times 3,0}) / 10 = 0,96$

Таким образом, ЛД_{50п} препарата в условиях повторного введения составила 30,6±0,96 г/кг массы тела.

Коэффициент кумуляции (K_{сум}) рассчитывался по отношению эффективных доз подострого и острого опытов:

$$K_{\text{сум}} = \text{ЛД}_{50\text{п}} / \text{МПД};$$

МПД – максимально – переносимая доза.

В результате K_{сум} составил 3,1, что, согласно классификации Ю.С.Кагана [21], относит препарат «Ципровентор» к 3 классу опасности (умеренная кумуляция).

Для выявления функциональной кумуляции животные обследовались на 5, 10 и 15 дни опыта (при этом животные получили суммарные дозы -10, 20 и 30 г/кг, соответственно). Следует сказать, что эти дозы в несколько раз больше доз, рекомендуемых производителем в инструкции по применению. Результаты представлены в таблицах № 1 - 5.

У опытных животных, уже начиная с 10 дня эксперимента, намечается тенденция к уменьшению массы тела животных, а на 15 день, после получения суммарной дозы 30 г/кг, отмечалось достоверное его снижение. На том же сроке достоверно

повышался суммационно – пороговый показатель (СПП), что свидетельствует о заторможенности животных.

Результаты измерения ректальной температуры, анализа гематологических показателей и некоторых поведенческих реакций животных представлены на таблице № 4.

Как следует из представленных данных, из

показателей, характеризующих функциональное состояние периферической крови, было отмечено снижение количества гемоглобина (при P<0,05) на 15 день. Все остальные показатели крови у опытных животных достоверно не отличались от контроля и не выходили за границу физиологической нормы для данных показателей. На том же сроке было отмечено достоверное снижение ректальной температуры.

Функциональное состояние печени оценивалось по способности органа синтезировать гиппуровую кислоту (обезвреживающая функция) и по содержанию в сыворотке крови общего белка (белковообразовательная функция).

Не менее важными для жизнедеятельности организма животных в целом, а также для оценки печени, является определение в сыворотке крови общих SH-групп.

Сульфгидрильные группы (SH-группы) – это функциональные группы в молекулах органических соединений, в т.ч. белков, определяющих их функциональные специфические свойства. SH-группы играют важную роль в образовании внутримолекулярных связей; в том числе –S-s-связи, которая в свою очередь обеспечивает жесткое скрепление отдельных полипептидных цепей, например, в

Таблица №4

Состояние некоторых показателей крыс в подостром эксперименте

Показатели	Группы	5 день (n=10)	10 день (n=10)	15 день (n=7)
Гемоглобин, г/л	Контроль	113,2±2,1	110,5±2,0	111,3±2,1
	Опыт	110,1±3,1	105,8±2,5	102,3±2,3 P<0,05
Лейкоциты, x10 ⁹ /л	Контроль	11,3±2,1	10,9±2,5	11,5±2,1
	Опыт	10,9±2,4	12,9±2,5	12,1±2,4
Эритроциты, x10 ¹² /л	Контроль	5,4±0,4	4,9±0,3	5,0±0,2
	Опыт	6,1±0,41	5,1±0,2	5,9±0,3
Ректальная температура, °С	Контроль	37,1±0,3	36,6±0,2	37,2±0,5
	Опыт	36,9±0,3	36,1±0,2	35,1±0,5 P<0,05
«Тест вставания», (за 3 мин)	Контроль	5,8±1,5	5,1±1,2	5,6±1,0
	Опыт	5,5±1,4	4,9±1,3	3,5±0,6
«Горизонтальный стержень» (сек.)	Контроль	32,3±2,5	31,3±2,0	28,3±1,9
	Опыт	30,4±2,1	29,4±2,0	26,4±2,1

Таблица №5

Некоторые показатели функционального состояния печени животных в конце эксперимента (на 15 день)

Показатели	Гиппуровая кислота (мг/сутки)	Общий белок в сыворотке крови (г/л)	Общие SH-группы в сыворотке крови (мкмоль/100 мл)
Контроль	93,5±2,5	6,2±0,9	25,3±2,4
Опыт	79,8±3,1 P<0,05	7,9±0,8	21,9±3,1

Таблица № 6

Массовые коэффициенты внутренних органов животных, подвергавшихся воздействию препарата «Ципровентор»

Показатели	Печень	Почки	Сердце	Селезенка
Контроль	4,3±0,5	0,6±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1
Опыт	4,6±0,8	0,7±0,2	0,3±0,0	0,3±0,1

иммуноглобулинах.

Результаты определения названных показателей представлены на таблице №5.

Как следует из таблицы, у опытных животных на данном сроке, в данных условиях выявлено достоверное уменьшение содержания в моче гиппуровой кислоты, что свидетельствует о снижении обезвреживающей функции печени. Все остальные показатели, характеризующие функцию печени, у животных, подвергавшихся повторному воздействию препарата в суммарной дозе, составляющей 30,0 г/кг, достоверно не отличались от контрольных величин.

После окончания опыта, животных убивали и определяли массовые коэффициенты внутренних органов. Результаты представлены в таблице № 6.

Как следует из таблицы, массовые коэффициенты органов у животных опытной группы находились на одном уровне с контролем и достоверно от него не отличались, что свидетельствует о том, что этот показатель не является определяющим при воздействии данного препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях субхронического воздействия препарат «Ципровентор» вызывал достоверные изменения со стороны нервной системы, массы животных, крови

Таблица № 6

Массовые коэффициенты внутренних органов животных, подвергавшихся воздействию препарата «Ципровентор»

Показатели	Печень	Почки	Сердце	Селезенка
Контроль	4,3±0,5	0,6±0,1	0,3±0,1	0,3±0,1
Опыт	4,6±0,8	0,7±0,2	0,3±0,0	0,3±0,1

(снижение гемоглобина) и тенденцию к снижению поведенческих показателей. Это показывает, что препарат обладает незначительной как материальной, так и функциональной кумуляцией. Однако все изменения проявлялись только на уровне доз, в несколько раз больших, чем практические, и в условиях многократного введения. В связи со сказанным препарат не представляет реальной опасности в условиях лечения сельскохозяйственных животных и птицы.

Toxicological assessment of a complex antibacterial preparation Tsiproventor.

S. Engashev, D. Filimonov, G. Pavlenko.

ABSTRACT

In the conditions of subchronic influence the preparation "Tsiproventor" caused reliable changes from nervous system, mass of animals, blood (decrease in hemoglobin) and a tendency to decrease in behavioural indicators. It shows that the preparation possesses an insignificant both material, and functional kumulation. However all changes were shown only at the level of doses, several times big, than practical, and in the conditions of repeated introduction. In connection with told a preparation doesn't constitute real danger in conditions treatment of farm animals and birds.

Keywords: rats, mice, acute toxicity, the subsharp, cumulation, blood, liver.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мищенко В.А. Меры борьбы с диареей новорожденных телят // Ветеринария. – 2002. – № 4. – С. 16-19.
2. Бурлаков В.А. Проблема борьбы и профилактики желудочно-кишечных болезней молодняка животных // Ветеринарная медицина. –2002. – № 1. –С. 6-7.

3. Иноземцев В.П., Самсонов О.В., Таллер Б.Г. Профилактика незаразных болезней — основа сохранности животных // Ветеринария. — 2000. - №11 -С. 9-13
4. Шахов А.Г. Этиология и профилактика желудочно-кишечных и респираторных болезней телят и поросят // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях / Сб.науч.тр. - Воронеж, 2002. -С.3-8.
5. Иммунокоррегирующее влияние ксимилона при острых кишечных заболеваниях у телят // Экологические аспекты эпизоотологии и патологии животных: Ма-тер.международной конф.посвящ. 100-летию В.Т. Котова. -Воронеж. -1999. - С.16-17.
6. Субботин В.В., Сидоров М. А. Основные элементы профилактики желудочно-кишечной патологии новорожденных животных // Ветеринария. -2004. -№ 1 -С. 3 - 6
7. Приказ МЗ СССР №1045-73 от 6.04.73 г. «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально биологических клиник (вивариев)».
8. Правила лабораторной практики // Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации №708н от 23.08.10.
9. Приказ МЗ СССР №1179 от 10.10.83 г «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения».
10. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (Токсикометрия). Под ред. проф. И.В. Санюцкого, -М., Медицина. -1970.
11. Сперанский С.В. О преимуществах использования нарастающего тока при изучении способности белых мышей к

- суммации подпороговых импульсов // Фарм. и токсикология. -1965. -№1. -С. 123-124.
12. Предтеченский В.Е. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям. М. -1960. -315с.
13. Степанова Н.Г. Модифицированный метод исследования функции печени у мелких лабораторных животных // Лабораторное дело. -1962. -№5. -С. 49-52.
14. Фоломеев Ф.И. Фотоколориметрический микрометод определения SH- групп белка и небелковых соединений крови // Лабораторное дело. -1981. -№1. -С. 33-35.
15. Травина О.В. Руководство по биохимическим исследованиям. -1955. -178с.
16. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. -М., Медицинское издательство. -1973.
17. Прозоровский В.Б. Рекомендации по статистической обработке результатов токсикологических исследований. -М. -1965. -36с.
18. Беленький М.А. Эксперименты количественной оценки фармакологического эффекта. -Л. -1983. -71с.
19. Методы испытаний дезинфекционных средств для оценки их безопасности и эффективности. -М. -1998. ч.1, 3.
20. ГОСТ 12.1.007-76. «ССБТ Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности». Гос. стандарт. М. -1976.
21. Каган Ю.С. Профилактическая токсикология. -1984. -Т.2. -219с.

УДК 619:616.995.7:

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТА ЭМИДОНОЛ ПРИ БОЛЕЗНЯХ СОБАК И КОШЕК

Енгатев С.В. – д.в.н., профессор, генеральный директор «НВЦ Агроветзащита»,
Новак М.Д. – д.б.н., профессор ФГБОУ ВПО РГАТУ,
Мазитова О. Ю. – аспирант ФГБОУ ВПО РГАТУ



РЕФЕРАТ

Инфекционные, паразитарные, онкологические и другие болезни собак, кошек сопровождаются оксидантным стрессом и поэтому большое значение имеет своевременное лечение гипоксических и ишемических состояний. В последние десятилетия получены и апробированы в ветеринарии антиоксидантные средства эмицидин, мексидол вет., Эмидонол.

Препарат Эмидонол, обладающий регуляторным механизмом фармакологического действия, производится Научно-внедренческим центром «Ветзащита» и обладает выраженными антиоксидантными и антигипоксическими свойствами при различных патологических процессах у животных.

Опыт применения антиоксиданта Эмидонола в комплексе с антибактериальными и общестимулирующими средствами, иммуномодуляторами при разной патологии у собак и кошек в четырех ветеринарных клиниках г. Рязани и г. Москвы показал эффективность терапии. При внутривенном, внутримышечном или подкожном введении Эмидонола один - два раза в день на протяжении 5-7 - 10-12 дней установлено улучшение общего состояния животных на 4-5 дни с начала курса терапии, быстрое прекращение сердечно-легочной недостаточности и постепенное уменьшение патологии при бабезиозе, гепатите, энтероколите, гломерулонефрите и других заболеваниях.

Антиоксидантный препарат Эмидонол, применяемый в общем курсе терапии, способствует более благоприятному течению заболеваний в реабилитационный период и сокращению сроков клинического выздоровления.

Ключевые слова: собаки, кошки, бабезиоз (пироплазмоз), сердечно-легочная недостаточность, гепатит, энтероколит, комплексная терапия, Эмидонол, антиоксидантная эффективность, антигипоксантажное действие.

ВВЕДЕНИЕ

Свободные радикалы, накапливающиеся в межклеточных пространствах и на клеточных мембранах, оказывают повреждающее действие на белки и липиды, особенно на ненасыщенные жирные кислоты и в ряде случаев обуславливают изменения нуклеиновых кислот, ферментов и гормонов [1,2,3,5].

Такое воздействие на структурно-функциональное состояние мембран клеток происходит стереотипно при различных патологических состояниях незаразной этиологии, в т.ч. аллергических, иммунодефицитных и при инфекционных, паразитарных болезнях.

Постоянно функционирующая антиоксидантная защита организма животных, представленная ферментными системами (каталаза, глутатион-пероксидаза, супероксиддисмутаза) и эндогенными биологически активными компонентами (альфа-токоферол, витамин С и др.) препятствует вредоносному влиянию свободных радикалов [4]. Но в период декомпенсации, при интенсивно выраженных патологических процессах собственный адаптационный механизм не достаточен. Подобные состояния необходимо своевременно распознавать и назначать курс корректирующей терапии.

Синтетические антиоксиданты обладают антиокислительным действием, вызывают связывание свободных радикалов и могут использоваться для лечения широкого спектра болезней. В медицинской и ветеринарной практике Российской Федерации и многих стран мира для восстановления структурно-функционального состояния мембран клеток человека и животных применяют антиоксидантные

средства (таурин, эвнтон, бемитил, микрогидрин, мексидол, эмицидин, янтарную кислоту, айсидивит).

Одним из эффективных антиоксидантных препаратов, производимых в Российской Федерации Научно-внедренческим центром «Ветзащита», является Эмидонол. Инъекционный и оральный растворы препарата действуют как ингибиторы свободно-радикальных процессов в организме, обладают выраженными антиоксидантными, антигипоксантажными и мембранопротективными свойствами, оказывают лечебное и профилактическое действие при гипоксиях различной этиологии. Механизм действия заключается в коррекции обменных процессов вследствие снижения интенсивности перекисного окисления липидов в мембранах клеток и увеличения энергетизации клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эффективность Эмидонола изучали на 15 собаках и 18 кошках разных пород и беспородных в возрасте от 4 месяцев до 12 лет. Антиоксидантный препарат в инъекционной форме 10 % концентрации применяли в соответствии с разработанной НВЦ ООО «Ветзащита» инструкцией.

Раствор Эмидонола в 10 % концентрации применяли собакам весом до 10 кг в дозе 0,1 мл/кг массы тела, 10-40 кг – 1 мл, 40-60 кг – 2 мл на животное, кошкам – в дозе 0,1 мл/кг ежедневно одно- или двукратно в течение 5-7 или 10-12 дней (продолжительность курса терапии в зависимости от формы течения заболевания и тяжести патологического процесса).

Препарат вводили внутривенно, внутримышечно или подкожно в общем курсе медикаментозной терапии (антибиотики +

противопаразитарные + патогенетические, общестимулирующие средства – витамины, гепатопротекторы + диуретические препараты). Наряду с вышеуказанными показаниями Эмидонол назначали для уменьшения отрицательного влияния наркоза в послеоперационный период.

При бабезиозе собак использовали этиотропный препарат бабезан 12 %.

Для каждой опытной группы животных созданы контрольные по 5 собак и 7 кошек соответствующего возраста и пола, которым не применяли в курсе лечения Эмидонол.

При проведении исследований животных устанавливали следующие показатели: общее состояние, температура тела, аппетит, двигательная активность, симптомы первичного заболевания, сроки клинического выздоровления и продолжительность реабилитационного периода.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клинические признаки до применения Эмидонола и комплексной терапии: у собак – угнетенное состояние или вялость, повышение температуры тела до 39,8-40,5°C, угнетение, аппетит отсутствует, рвота, желтушность или анемичность видимых слизистых оболочек, моча красно-бурого цвета, симптомы сердечной и дыхательной недостаточности (тахикардия, тоны сердца ослаблены, учащенное дыхание); у кошек – апатичность, отказ от корма или снижение аппетита, озноб, повышение температуры тела до 38,9-40,2°C, видимые слизистые оболочки анемичные, асцит, рвота, диарея, признаки обезвоживания, в нескольких случаях – очаговый аллергический дерматит, алопеции в области шеи и спины.

Диагноз. На основании клинических и лабораторных гематологических, биохимических, паразитологических, микроскопических исследований установлены следующие диагнозы: у собак - бабезиоз (пироплазмоз) с выраженной сердечной и дыхательной недостаточностью, энтеро-

колит, гепатит, бронхопневмония, токсокароз, афаниптероз; у кошек - гепатит, энтероколит, водянка брюшной полости, гломерулонефрит, отравление кормом, дипилидиоз, токсокароз, афаниптероз.

Клиническое состояние животных после применения Эмидонола. Собакам Эмидонол применяли внутривенно при тяжелой форме бабезиоза, при выраженной интоксикации в течение одного – двух дней. При назначении семидневного внутримышечного курса инъекций 10 % раствора Эмидонола в комплексе с антибиотиками (бициллин, кобактан), патогенетическими средствами (эссенциале форте, гамавит, энтерозгель) и сердечными (сульфокамфокаин), диуретическими препаратами (фуросемид) симптомы бабезиоза и других первичных заболеваний, а также осложнения в форме сердечной, дыхательной недостаточности через 5-7 дней с начала курса терапии не выявлены. Наблюдалось улучшение общего состояния (снижение температуры тела, восстановление аппетита и двигательной активности), видимые слизистые оболочки бледно-розового цвета.

Кошкам Эмидонол назначали внутривенно при водянке брюшной полости и тяжелой интоксикации два – три дня подряд. В зависимости от степени тяжести заболеваний эффективными оказались 5-7 и 10-12 дневные внутримышечные курсы инъекций 10 % раствора Эмидонола в комплексе с антибиотиками, патогенетическими средствами и диуретическими препаратами. При длительных курсах после первоначального улучшения общего состояния последние 3-5 дней Эмидонол вводили подкожно. Во всех случаях заболеваний животных осложнения в форме сердечной, дыхательной недостаточности и клинически выраженной патологии печени, почек через 14-17 дней с начала курса терапии не отмечены. Установлено улучшение общего состояния (снижение температуры тела до физиоло-

гических показателей, появление аппетита и двигательной активности; видимые слизистые оболочки бледно-розового цвета, симптомы антиоксидантного стресса не выражены).

Сроки клинического выздоровления собак и кошек опытных групп составляли от 12-14 до 18 дней после завершения комплексного лечения. У 5 контрольных собак и 7 кошек с признаками острого воспалительного процесса при средней степени тяжести заболевания, для которых в курс терапии не включали Эмидонол, реабилитационный период достигал 35 - 42 дней.

Побочное действие Эмидонола при клиническом исследовании собак и кошек не установлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Раствор Эмидонола 10 %, применяемый для собак и кошек в дозах 0,1 мл/кг массы тела или для собак весом 40-60 кг – 2 мл на животное внутривенно, внутримышечно или подкожно ежедневно одно или двукратно в течение 5-7 или 10-12 дней в комплексе с антибиотиками, патогенетическими, общестимулирующими, противопаразитарными средствами, способствует снижению отрицательного влияния свободных радикалов на мембраны клеток в течение болезни и в реабилитационный период, а также предупреждению осложнений в форме сердечной и дыхательной недостаточности, сокращению сроков выздоровления до двух - трех недель.

Лечение гипоксических, ишемических состояний различной этиологии и профилактики оксидантного стресса у плотоядных животных с применением антиоксиданта Эмидонола эффективны при своевременном установлении диагноза и одновременном назначении общей медикаментозной терапии.

При использовании Эмидонола в курсе основного лечения и терапии без антиоксиданта по результатам оценки клини-

ческого состояния животных с выраженным оксидантным стрессом установлены особенности. У больных собак и кошек опытных групп при применении Эмидонола отмечается улучшение общего состояния, а реабилитационный период более короткий.

Clinical study of efficiency of a preparation Emidonol.

S. Engashev, E. Daugalieva, M. Novak.
ABSTRACT

Infectious, parasitic, oncology and other illnesses of dogs, cats are accompanied oxidant stress and consequently importance has duly treatment of hypoxia. Last decades are received and are tested the means antioxydantic: mexidol, emicidin, emidonol.

The preparation emidonol, having by the managing mechanism of pharmacological action, is made scientific by the Centre «Vetzachita» and has expressed antioxydantic and antihypocasantic properties at various pathological processes by animals.

The experience of application emidonol in a complex with means of immunomodulators, against an inflammations, antibiotics and general stimulating at a different pathology at dogs and cats in four veterinary clinics of Ryazan and Moscow has shown efficiency of complex therapy. At intramuscle or subcutaneous application of emidonol one - two times per day during 7 - 10-12 days are established improvement of a general condition animal for 4-5 days, the fast termination is intimate – lunge of insufficiency and gradual reduction of a pathology at gastritis, enteritis and other diseases.

The emidonol preparation used in a general rate of a therapy promotes more favorable current rehabilitation of the period and reduction of terms of complete recovery. Key words: a dog, cat, the plague, piroplasmosis (babesiosis), oncology of disease, is intimate - lung insufficiency, gastritis, enteritis, hepatitis nephritis, stones in kidneys, gynecological pathology, complex therapy, emidonol, antioxydantic efficiency, action

against hypoxia.

Key words: dogs, cats, бабезиоз (piroplasmiasis), warm and pulmonary insufficiency, hepatitis, enterokolit, complex therapy, Emidonol, antioxidant efficiency, antigipoksantny action.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова А.Е. Антигипоксическая активность и механизмы действия некоторых синтетических и природных соединений // Экспериментальная и клиническая фармакология. М. -2005. –Т.68. -№5. – С. 72 - 78.
2. Клебанов Г.И. Антиоксидантные свойства производных 3-оксипиридина: мексидола, эмоксипина и проксипина // Вопросы медицинской химии. -М. -2001. - №3. -С. 37-40.

3. Карпенко Л.Ю., Бахта А.А. Состояние антиоксидантной системы при нефропатиях // Материалы XIV международного Московского конгресса по болезням мелких домашних животных. -М. -2006. –С. 36.

4. Карпенко Л.Ю., Бахта А.А. Возрастные и половые особенности состояния антиоксидантной системы организма здоровых собак. Материалы XVI международного Московского конгресса по болезням мелких домашних животных. -М. -2008. –С. 102 -103.

5. Мельниченко В.И. Ветеринарный антиоксидант-антигипоксикант «Эмицидин». Аспекты клинического применения // Ветеринарный доктор. М. -2007. -№8. -С. 22 - 23.



Зоогигиена, санитария, кормление

УДК: 636.5.034.087.72.

ВЛИЯНИЕ ЦЕОЛИТСОДЕРЖАЩЕЙ ДОБАВКИ НА ЯИЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ И ИНКУБАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ЯИЦ

Жилочкина Т.И. – к.с.-х.н., доцент кафедры биологии, экологии и гистологии, Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины.



РЕФЕРАТ

Приведена характеристика природных цеолитов, их применение в ветеринарии, птицеводстве. Представлены данные экспериментальных исследований влияния разных доз кремнеземистого мергеля на яичную продуктивность кур, оплодотворяемость и выводимость яиц. Цель исследования заключалась в изучении влияния различных доз цеолитсодержащей добавки – кремнеземистого мергеля на продуктивность кур родительского стада, оплодотворяемость и выводимость яиц, а так же на количество и категории отхода инкубации. Изучение проводилось по четырем группам кур, рационы которых были одинаковыми, за исключением того, что в корм курам второй группы добавлялся кремнеземистый мергель в количестве 2%, третьей 4% и четвертой 6% от его количества. Исследования проводились в течение всего продуктивного периода. Отмечено положительное влияние кремнеземистого мергеля на оплодотворяемость и выводимость яиц, а так же снижение количество отхода продуктов инкубации, однако, исходя из анализа полученных данных, лучшими показаны дозы 2% и 4%. При добавлении в рационы дозы 6% цеолитсодержащей добавки отмечается тенденция к ухудшению неко-

торых показателей, что является свидетельством угнетения процессов обмена веществ в организме птицы.

Ключевые слова: цеолиты, сорбенты, куры, яйца.

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к природным цеолитам широк, как у нас, так и за рубежом. Природные цеолиты – это мелкопористые каркасные алюмосиликаты кристаллической структуры. [4,6]. Они обладают ионнообменными свойствами, проявляют каталитическую активность [3]. Можно выделить три основные области применения цеолитов: промышленность, сельское хозяйство, охрана окружающей среды. Исследования, проведенные в ветеринарии показывают, что цеолиты положительно влияют на обменные процессы свиней и крупного рогатого скота. В связи с интенсификацией птицеводства, возникает необходимость поиска и широкого использования в качестве добавок к кормам биологически активных веществ, повышающих продуктивность птицы, эффективность использования ею питательных веществ кормов. К таким добавкам можно отнести цеолитовые туфы, имеющие в своем составе до 40 минеральных элементов. В Среднем Поволжье, в Ульяновской области выявлено Сиуч-Юшанское месторождение – кремнеземистый мергель. Включение в рацион птицы цеолитов различных месторождений, способствовало увеличению прироста живой массы, повышению её сохранности, яйценоскости, эффективности использования кормов, снижению себестоимости продукции [2,5,1]. Яичная продуктивность является одним из важных показателей курицы-несушки. Любая птица, какими бы генетическими задатками она не обладала, может полностью проявить свою потенциальную продуктивность только при правильном нормированном кормлении с учетом всех необходимых добавок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования, направленные на установление оптимальных доз и эффективности их при скормливании цеолитсодержащих туфов Сиуч-Юшанского месторождения Майнского района Ульяновской области, проводились на птицефабрике «Ульяновская» на птице родительского стада кросса «Родонит». Продолжительность эксперимента, начиная с суточного возраста, составила 400 дней. Для проведения научно-производственного опыта по принципу аналогов было сформировано четыре группы цыплят по 1000 голов в каждой. Различия в кормлении птицы заключались в том, что в рационы опытных групп вводилось цеолитсодержащей добавки – кремнеземистого мергеля в дозе 2-4-6% от количества сухого вещества комбикорма. Схема опыта представлена в таблице 1.

За период опыта всего было исследовано 13213 яиц. Яичная продуктивность за биологический цикл яйцекладки контролировалась путем учета количества получаемых яиц от кур каждой группы с последующим расчетом на среднюю курицу-несушку. *Оплодотворяемость и выводимость* определялись путем учета количества неоплодотворенных яиц, кровь-кольца, замерших эмбрионов, задохликов, калек и количества выведенных цыплят. *Количество неоплодотворенных яиц и яиц «кровь-кольцо»* определялись на 3-4 день после закладки в инкубатор на специальном столе для овоскопии (стол с освещением под ним). Для выборочного овоскопирования применялся овоскоп на 10 яиц марки ОН-1, представленный металлическим цилиндром, в который вмонтирован электрический патрон для источника света: лампы накаливания Б220-230-100ВТ. « Неоплодотво-

рѐнные» яйца – это яйца, в которых, при осмотре их на овоскопе на третий день инкубации, не видны процессы развития эмбриона. «Кровяные кольца» - это яйца с эмбрионами, погибшими в период обрастания желтка бластодермой. «Кровь-кольца» обнаруживают при первичном осмотре яиц с 1-6 день. На освещенном яйце обнаружении «кровь-кольца» просматриваться кровяная полоска-кольца «стекающей» в венозный синус после прекращения сокращения сердца. Количество «замерших эмбрионов» определялись так же на овоскопе после 10-го дня инкубации. «Замершие» эмбрионы - это погибшие эмбрионы с 7-14 день инкубации. На овоскопе они видны в виде темных пятен разной величины, кровеносные сосуды отсутствуют. «Задохлики» - это зародыши, погибшие на разных стадиях развития. Это сформировавшиеся и не вылупившиеся птенцы. Их подсчет проводился в день появления птенцов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Были проведены исследования, направленные на установление оптимальных доз цеолитовой добавки и её влияния на различные показатели, в том числе и на продуктивность. Первые яйца появились в возрасте 19 недель одновременно во всех опытных группах. В этом возрасте в количестве яиц у кур существенных различий не наблюдалось. Но, к возрасту 22 недель яичная продуктивность на одну курицу-несушку стала выше у кур II, III и IV групп относительно контрольной. До возраста 34 недель наблюдалось повышение продуктивности по всем опытным

группам. В 34 недели, вследствие массового расклева, произошло снижение, а затем в течение последующего месяца увеличение яйценоскости птицы. С 38 до 44 недели отмечался пик продуктивности опытной птицы. В 42 недели во II, III, IV группах получено яиц на одну курицу-несушку на 2,1:3,5: и 5,8% больше, чем в контрольной. С возраста 46 недель началось общее снижение яйценоскости по всем опытным группам, однако по количеству полученных яиц до возраста 50 недель, лучшие показатели отмечались в 3-ей, а с 50 недель и до конца продуктивного периода во 2-ой опытных группах.

Исходя из анализа данных таблицы № 2 видно, что всего за весь период эксперимента на одну курицу-несушку во 2-ой, 3-ей и 4-ой группах получено на 4,71... 6,74...3,42 яйца и на 2,20...3,14...1,59% больше, чем в контрольной группе. Общая валовая продуктивность за весь продуктивный период так же выше во всех опытных группах по сравнению с продуктивностью кур контрольной группы (табл. 2). Лучший результат отмечен у кур третьей группы, получавшей 4% цеолитовой добавки.

Оплодотворяемость и выводимость яиц относится к инкубационным показателям качества яиц. Цех инкубации является главным технологическим звеном промышленного птицеводства. Одним из показателей эффективности использования минеральной добавки являлось определение оплодотворяемости и выводимости яиц. Во время опыта, в течение двух периодов (с 26 по 34 и с 34 по 52 неделю),

Таблица 1

Схема опыта

Группы	Характеристика кормления в период с суточного до 400-дневного возраста
I-контрольная	Основной рацион (ОР*)
II-опытная	ОР+2% цеолита (от массы корма)
III-опытная	ОР+4% цеолита (от массы корма)
IV-опытная	ОР+6% цеолита (от массы корма)

Таблица 2

Яичная продуктивность подопытной птицы

Группы	Яичная продуктивность с 22 до 55 недель			
	I-K	II-O	III-O	IV-O
Валовая продуктивность за весь период, шт	180569	188980	196578	190204
± к контрольной группе	-	+ 8411	+ 17009	+9635
% к контролю	100	104,7	108,9	105,3
На курицу-несушку за весь период, шт	214,0	218,7	220,7	217,4
± к контрольной группе	-	4,71	6,74	3,42
% к контролю	100	102,2	103,1	101,6

Таблица 3

Оплодотворяемость и выводимость яиц

Наименование	Группы			
	I - K	II - O	III - O	IV - O
Период с 26 до 34 недель				
Оплодотворяемость, %	91,7	96,1	96,6	95,1
Выводимость яиц, %	79,1	84,9	83,1	79,4
Живая масса цыплят, г	37,4±0,5	38,2±0,5	39,5±0,6	37,3±0,4
Отход яиц, %				
- неоплодотворенные	8,3	4,0	3,4	4,4
- кровь-кольцо	3,7	2,4	3,6	3,8
- замершие	2,3	2,6	2,3	3,8
- задохлики	5,8	5,3	5,0	5,7
- бой	0,5	0,3	0,4	0,4
Всего отход, %	20,6	14,6	14,7	18,2
Период с 34 до 52 недель				
Оплодотворяемость, %	88,7	92,4	91,8	89,5
Выводимость яиц, %	66,6	71,9	70,7	67,7
Живая масса цыплят, г	39,8±0,7	42,0±0,4	40,7±0,6	40,0±0,9
Отход яиц, %				
- неоплодотворенные	11,4	7,6	8,2	10,4
- кровь-кольцо	7,1	6,0	6,8	7,0
- замершие	8,3	7,9	8,1	8,3
- задохлики	4,7	3,8	4,0	4,0
- бой	1,3	1,0	1,0	1,0
Всего отход, %	32,7	26,4	28,0	30,8

Примечание: *P<0,05; **P<0,01

в соответствии со стандартом, тщательно отбирались яйца с последующей закладкой их в инкубатор. По истечении 21 дня проводился учёт количества оплодотворенных яиц, выведенного поголовья, а так

же различные виды отхода инкубации. Отмечено, что в период с возраста 26 по 34 недели среди яиц, полученных от кур, потреблявших цеолитовую добавку в количестве 2-4-6% в сравнении с контроль-

ной группой наблюдалось повышение оплодотворяемости и выводимости. При этом, лучшая оплодотворяемость отмечена в группе, получавшей добавку 4%, а выводимость яиц в группе кур, получавших 2% цеолитовой добавки, что указывает на функциональную активность воспроизводительной функции кур этих групп. По результатам исследований полученных и заложенных в инкубатор яиц, от кур возрастного периода с 34 по 52 неделю наблюдалось повышение оплодотворяемости яиц опытных групп на 4,4-4,9-3,4%, а выводимости на 5,7-4,0-0,3% в сравнении с контрольной. При этом лучшая оплодотворяемость так же отмечается в группе, получавшей добавку в дозе 4%, а выводимость яиц в группе кур, получавших 2% цеолитсодержащей добавки. Исходя из анализа данных можно видно что и в первом и во втором продуктивном периоде лучшая оплодотворяемость яиц наблюдается у кур третьей группы, получавшей 4% цеолитовой добавки, а выводимость яиц у кур, получавшей кремнеземистый мергель в количестве 2%. Живая масса цыплят, полученных в первый период исследования от кур II и III опытных групп была выше, а в IV группе, напротив, ниже показателей контрольной группы, что позволяет сделать предположение, что доза 6% в начале продуктивного периода является завышенной и оказывает отрицательное воздействие на развитие эмбриона. Во втором периоде лучшее влияние на живую массу цыплят оказала доза 2%. Исходя из анализа данных, можно сделать вывод, что увеличение оплодотворяемости и выводимости яиц, полученных от кур опытных групп, указывает на более высокую функциональную активность воспроизводительной функции кур опытных групп (табл. 3).

Для того, чтобы получить более полное представление о влиянии кремнеземистого мергеля на яйца, предназначен-

ные для инкубации, проводились так же исследования по изучению отхода инкубации. Причинами сокращения развития зародышей могут быть технологические нарушения, отбор яиц не отвечающих стандартным требованиям, качественные, химические показатели, нарушение целостности скорлупы. Так, при

исследовании яиц, отправленных на инкубацию за период с 26 до 34 - недельного возраста кур, во II и III группах отмечалось снижение показателей неоплодотворенных яиц и яиц «кровь-кольцо» относительно яиц контрольной группы. В количестве «замерших» эмбрионов, «задохликов» отмечено незначительное улучшение показателей. Общий же отход яиц за этот период во II, III и IV группах ниже, чем в контроле на 6,0-5,8-2,4% соответственно. Исходя из анализа данных показателей видно, что добавление цеолитсодержащей добавки курам родительского стада в дозе 2% и 4% от количества корма имеет положительное влияние на сокращение разных категорий отхода инкубации, а доза 6% является завышенной и не оказывает положительного влияния на развитие эмбриона. Количество боя среди яиц, полученных от кур опытных групп, меньше, чем в контроле, что очевидно связано с дополнительным поступлением в организм птицы минеральных веществ и формировании более прочной скорлупы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая полученные данные, можно отметить, что изучаемая добавка оказывает положительное влияние на такие показатели, как валовая продуктивность, яйценоскость, оплодотворяемость и выводимость яиц, живую массу цыплят, а так же эмбриональное развитие зародыша и снижение отходов инкубации. Лучшее влияние на яйценоскость и валовую продуктивность оказала доза 4% цеолитсодержащей добавки. Более высокая оплодотворяемость отмечена среди яиц, получен-

ных от кур третьей группы, получавшей 4%, а выводимость от кур второй группы, получавшей 2% цеолитсодержащей добавки. Среди показателей живой массы цыплят лучший результат отмечается у цыплят, полученных от кур второй группы, в корм которой добавлялось 2% кремнеземистого мергеля. На снижение количества общего отхода инкубации лучшее влияние оказала доза 2% минеральной добавки. Исходя из анализа полученных данных видно, что добавление в корм птице кремнеземистого мергеля оказало положительное влияние на обмен веществ кур родительского стада и её физиологическое состояние, что дает возможность получения яиц с более высокими инкубационными показателями качества, чем яйца, полученные от кур контрольной группы. Лучшими дозами являются дозы 2% и 4%.

The influence of zeolite supplements on egg production and hatching properties of eggs.

T. Zhilochkina.

ABSTRACT

The characteristic of natural zeolites and their application in veterinary medicine, poultry. Presented results of experimental studies of the effect of different doses of siliceous marl on egg productivity chickens, fertility and hatchability. The purpose of this study was to investigate the effect of different doses of zeolite supplements - siliceous marl productivity breeder hens, fertility and hatchability of eggs, as well as on the number and types of waste incubation. The study was conducted in four groups of chickens, which were similar diets, except that the chickens to feed the second group was added in an amount of siliceous marl 2%, 4% of the third and fourth 6% of its amount. Studies conducted during the production period. The positive effect on the fertilization of siliceous marl and hatching eggs, as well as reducing the amount of waste products of incubation, however, based on the

analysis of the data shows the best dose of 2% and 4%. When added to diets dose 6% zeolite supplements tendency to deterioration of some indicators, which is evidence of the oppression of the metabolic processes in the body of the bird.

Keywords: zeolites, siliceous marl, sorbents, chickens and eggs.

ЛИТЕРАТУРА

1. Идиатуллин Ф.И. Влияние цеолитсодержащего кремнисто-карбонатного сырья Татарско-Шатрашанского месторождения на обмен веществ и продуктивность цыплят-бройлеров: автореферат дисс. канд. биол. наук. – Казань. -1996. – С. 16-28.
2. Караджан А.Н. Изучение влияния природного цеолита на минеральный обмен у овец. // Тр. конф. и симпозиума по применению природных цеолитов в животноводстве и растениеводстве. –Тбилиси. - 1984. – С. 149-151.
3. Кирсанов А.Ф., Тягушев В.В. Усвоение кальция, фосфора, калия и натрия из типовых рационов, обогащённых биологически активными веществами: Методы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. – Саранск. -1980. – С. 44-47.
4. Кузнецов С.Г., Кальницкий Б.Д. Изучение минерального обмена у сельскохозяйственных животных: Мет. ук. ВНИИФБ и П с/х животных. – Боровск. -1993. – С.53.
5. Царенко П.П., Васильева Л.И., Рыбалов Н.С. Качество яиц сегодня: хранение и инкубация // Птицеводство. -1994. -№2. – С. 32-33.
6. Цицишвилли Г.В. Применение цеолитов. // Тр. 4-го Болгаро-Советского симпозиума по природным цеолитам. – Бургас. -София. -1986. – С.200.

ФОРМИРОВАНИЕ СОСТАВА ВОДЫ, ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ДЛЯ ПОЕНИЯ ЖИВОТНЫХ В СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ БИОГЕОХИМИЧЕСКОЙ ЗОНЕ УКРАИНЫ

Соколюк В.М. - докторант

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев



РЕФЕРАТ

В этой статье мы изучили химический состав подземных вод, используемых для поения животных в хозяйствах северо-восточной биогеохимической зоны Украины. Пробы воды были взяты из двух точек (из скважин) на сезонной основе, в соответствии с стандартом. Было установлено, что для поения животных на фермах, используется вода, взятая с глубины Докембрийских пород. Санитарно-защитной зоны подземных водных источников в хозяйствах не хватает. Земля, на которой расположены скважины не соответствует санитарно-эпидемиологическим требованиям. Было обнаружено сильное загрязнение воды микроорганизмами. В изученном нами районе, в течение года было зафиксировано заметно низкое содержание водорастворимых солей магния, калия и натрия. Вода, которая используется для поения животных, может быть отнесена к классу – гидрокарбонатной, группа кальция первого типа.

Ключевые слова: вода, животные, подземная, поение, состав, минералы, санитария, гигиена.

ВВЕДЕНИЕ

Природная вода является многокомпонентной гетерогенной системой. В ее состав входят примеси минерального и органического происхождения, газы. Учитывая, что вода хороший растворитель, она содержит в определенных количествах катионы и анионы многих солей. Содержимое последних зависит от состава пород, с которыми контактирует природная вода [1,2].

Для хозяйственно-питьевого водоснабжения используются пресные подземные воды с минерализацией не более 1,5 г/л, их минеральный состав непостоянен и неодинаков по химическому составу. Такие мало-минерализованные подземные воды могут принадлежать к самым разным геохимическим типам, пространственное размещение которых в структурах гидрогеологии является закономерным и зональным. Соответственно в них изменяется концентрация нормируемых

элементов [3,4].

Животноводство – крупный потребитель воды в сельской местности, это приблизительно 30% питьевой воды от общего водозабора в аграрном секторе. На производство 1 т молока тратится не менее 3м³ воды, 1 т говядины – 30м³, свинины – 88м³, общая потребность зависит от специализации фермы, механизации производственных процессов, системы содержания животных, технологии производства [5].

В Украине подземные воды составляют 14% от общего водопотребления страны. Эти воды используются главным образом для хозяйственно-питьевого водоснабжения (30%), на втором месте сельское хозяйство (42%), третье место приходится на производственно-техническое водоснабжение (28%) [6].

Вода, используемая в животноводстве в нашей стране, должна отвечать требованиям государственных санитарных норм

и правил "Гигиенические требования к воде питьевой, предназначенной для потребления человеком".

Автор в предыдущих публикациях [7,8] предоставлял санитарно-гигиеническую характеристику качества воды, которая используется для поения животных в хозяйствах северо-восточной биогеохимической зоны Украины. Доказано, что исследование химического состава воды имеет большое практическое значение в животноводстве. Качественные характеристики воды необходимо учитывать при современных технологиях производства молока и мяса.

В связи с этим главной целью наших исследований было изучение химического состава подземных вод, используемых для поения животных в хозяйствах северо-восточной биогеохимической зоны Украины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в течение 2011-2012 гг. в пяти хозяйствах Житомирской и Черниговской областей, а именно: ППОСП «Искра» Олевского района и ПОСП «Звезда» Емельчинского

района Житомирской области; ПОП им. Войкова, ПРАТ «Черниговское племпредприятие», СВК «Полесье» Черниговского района Черниговской области.

Пробы воды, которые используются для поения животных в хозяйствах, отбирали из двух точек (скважина и поилка) посезонно, в соответствии с методикой [9].

Исследование воды проводили методом параллельных проб (n=3) в сертифицированных государственных лабораториях ветеринарной медицины. Главные ионы и солевой состав воды анализировали по формуле Курлова [10].

Качество воды оценивали по государственным санитарным нормам и правилам «Гигиенические требования к воде питьевой, предназначенной для потребления человеком» (ДСанПиН2.2.4-171-10) [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Обеспечение потребности в воде в хозяйствах северо-восточной биогеохимической зоны Украины осуществляется за счет централизованных систем водоснабжения, где в качестве источников

Таблица 1

Водоносные горизонты, вода которых используется для поения животных в северо-восточной биогеохимической зоне Украины

Название хозяйства	Глубина забора воды, м	Водоносные горизонты
ПОСП «Звезда», с. Горбовое Емельчинский р-н Житомирская область	98	Воды в трещиноватых докембрийских породах Житомирского Полесья
ППОСП «Искра», с. Лопатичи Олевский р-н Житомирская область	63	Воды в трещиноватых докембрийских породах Житомирского Полесья
ПОП им.Войкова, сmt. Михаило Коцюбинское Черниговский р-н Черниговская область	93	Воды в трещиноватых докембрийских породах Черниговского Полесья
ПРАТ «Черниговское племпредприятие», с. Довжик Черниговский р-н Черниговская область	64	Воды в трещиноватых докембрийских породах Черниговского Полесья
СВК «Полесье», с. Кувечичи Черниговский р-н Черниговская область	160	Воды в трещиноватых докембрийских породах Черниговского Полесья

используют подземные воды.

Они относятся к трещиноватым и пластово-поровым водам Украинского щита. В пределах этого региона непосредственно под четвертичными отложениями подземные воды залегают в породах, разных по возрасту, генезисом и составом [10].

В одном из хозяйств, в котором проводили исследование в летне-осенний период, когда животные находились на пастбище, водопой осуществлялся из открытых водоемов.

Водоносные горизонты залегания подземных вод в исследуемых хозяйствах приведены в таблице 1.

Основным источником снабжения ферм крупного рогатого скота водой являются артезианские скважины. Глубина забора воды в них разная – от 63 до 160 метров. Системы водоснабжения (водонапорные башни, магистральная и распределительная водопроводная сеть) стальные, срок их эксплуатации составляет приблизительно 30-40 лет. Со временем они поддаются коррозии и протекают, что также отрицательно влияет на качество воды.

Артезианские скважины во всех хозяйствах размещены на территории молочно-товарных ферм, неподалеку от животноводческих помещений, выгульных площадок, силосных ям, резервуаров для накопления стоков. Зимой для утепления водонапорных башен, насосных станций используют сухой навоз, солому, кормовые отходы и тому подобное. Зоны санитарной охраны на территории, где имеются некоторые ограничения ее использования для предотвращения загрязнений водоносного слоя, отсутствовали. Следует отметить, что территория на молочно-товарных фермах, где осуществляется забор воды, не отвечает санитарно-эпидемиологическим требованиям.

Все перечисленные выше факторы могут способствовать ухудшению качества воды, которую используют для поения

животных.

По имеющимся гидрогеохимическим материалам проанализировано состояние водоснабжения в этих хозяйствах из подземных источников. Также были получены средние количественные и качественные показатели примесей воды, используемой для поения животных (табл.2).

К органолептическим показателям качества воды относятся: запах, цветность, мутность, вкус и привкус.

Запах артезианской воды может быть связан с наличием растворимых газов – сероводорода, аммиака, оксида серы и др. Установлено, что этот показатель был несколько более высокий (2/3) в пробах воды в зимний период.

Чистая вода в малом объеме бесцветна, в толстом слое она имеет голубоватый оттенок. Другие оттенки свидетельствуют о наличии в воде различных растворенных и зависших примесей. Последние могут быть минерального и органического происхождения. Цветность воды является важным экологическим показателем. По этой характеристике существенная разница отмечается в пробах воды весной $31,0 \pm 8,28$ градусов, осенью $22,5 \pm 4,3$ и зимой $36,0 \pm 9,1$ градуса (по нормативам не более 10 градусов).

Прозрачность воды обусловлена цветом и мутностью, то есть наличием окрашенных и взвешенных органических и минеральных веществ. При исследовании питьевой воды на мутность этот показатель был стабилен лишь летом ($1,0 \pm 0,2$), в другие времена года превышал допустимые нормативы в 3 – 6 раз.

Причиной повышения мутности артезианских вод обычно являются глиняные или известняковые суспензии, также нерастворимые оксиды железа и других металлов, которые образуются при контакте с воздухом. Это часто связывают с механическим отрывом продуктов коррозии металлических труб, по которым откачивается вода из водоносного горизон-

Таблица 2

Показатели качества питьевой воды для животных из скважины северо-восточной биогеохимической зоны Украины, $M \pm m$, $n=3$

№ п/п	Показатели	Единицы измерен.	ПДК	Весна	Лето	Осень	Зима
1	Запах t 20°C, 60°C	Баллы	≤2	1/1	2/2	1/2	2/3
2	Цветность	Градусы	≤20	31,0±8,3	17,5±6,0	22,5±4,3	36,0±9,1
3	Мутность	НОК	≤1,0	6,3±2,6	1,0±0,2	4,1±1,3	3,0±1,2
4	Вкус и привкус	Баллы	≤2	2,0±0,5	1,0±0,3	1±0	1±0
5	Коли-индекс	-	-	<3	<4	<4	<3
6	МАФАМ	КУО/см ³	не >100	113,7±4,8	114,5±5,8	124,4±8,9	115,7±3,9
7	Водород.показатель	pH	6,5-8,5	7,0±0,6	7,1±0,2	7,1±0,1	7,0±0,1
8	Азот.амон.	мгN/дм ³	≤0,5	0,6±0,2	0,5±0,2	0,1±0,0	2,3±0,8
9	Нитраты	мгN/дм ³	≤50	1,9±0,17	3,8±0,9	3,4±0,3	2,7±0,7
10	Нитриты	мгN/дм ³	≤0,5	0,02±0,00	0,1±0,1	0,01±0,00	0,03±0,01
11	Щелочность	мг.екв/дм ³	≤6,5	5,9±0,7	6,1±0,7	6,3±0,8	5,9±0,7
12	Общ. жёст.	мг.екв/дм ³	≤7,0	4,6±0,3	5,6±0,6	7,1±0,1	6,5±0,5
13	Ca ²⁺	мг/дм ³	≤130	80,0±6,4	97,0±11,4	128,0±2,7	127,0±1,5
14	Mg ²⁺	мг/дм ³	≤80	8,0±0,8	9,0±1,2	9,0±0,0	9,0±0,9
15	K ⁺ +Na ⁺	мг/дм ³	≤200	38,0±13,8	64,0±3,3	20,0±5,3	25,0±13,7
16	HCO ₃ ⁻	мг/дм ³	-	504,0±60,0	366,0±44,2	371,0±46,7	597,0±53,7
17	Хлориды	мг/дм ³	≤250	10,0±0,4	35,0±3,5	24,0±7,9	30,0±2,5
18	Сульфаты	мг/дм ³	≤250	15,0±0,6	50,0±5,4	33,0±9,9	42,0±5,6
19	Минерал.общ.	мг/дм ³	≤1200	504,0±60,0	562,0±36,4	578,0±40,5	597,0±53,7
20	Сухой остаток	мг/дм ³	≤1000	328,0±38,7	419,0±40,7	389,0±19,6	402,0±44,2
21	Окисляемость (перм.)	мгО/дм ³	≤5,0	5,2±0,1	5,7±1,6	4,6±1,3	7,2±1,7
22	Pb ²⁺	мкг/дм ³	≤10	0,3±0,0	0,4±0,0	0,3±0,1	0,5±0,1
23	Cd ²⁺	мкг/дм ³	≤1,0	0,01±0,01	0,03±0,01	0,04±0,00	0,1±0,0
24	As ²⁺	мкг/дм ³	≤10	1,7±0,4	1,3±0,2	1,3±0,2	2,9±1,2
25	Hg ²⁺	мкг/дм ³	≤0,5	0,4±0,1	0,4±0,2	0,3±0,1	0,3±0,1
26	Cu ²⁺	мкг/дм ³	≤1000	22,0±2,4	22,0±4,8	21,0±3,2	27,0±4,3
27	Zn ²⁺	мкг/дм ³	≤1000	10,0±3,1	11,0±2,5	20,0±3,9	59,0±13,9
28	Fe ²⁺	мкг/дм ³	≤200	565,0±253,6	239,0±69,6	245,0±53,4	539,0±237,1
29	Mn ²⁺	мкг/дм ³	≤50	180,0±60,4	114,0±30,3	144,0±18,9	226,0±32,0
30	Co ²⁺	мкг/дм ³	≤100	7,2±1,6	6,3±2,0	6,0±1,5	8,0±1,1

та.

Вкус и привкус оценивали в баллах около источника водоснабжения в момент взятия пробы для анализа, потом при комнатной температуре и еще раз при

температуре 40°. Во всех пробах воды вкус и привкус отсутствовали.

Геолого-гидрологические условия формирования подземных вод имеют хорошую естественную защищенность от

загрязнения, в том числе и биологическую.

Контаминация воды микроорганизмами свидетельствует о низком ее качестве. Бактериологический анализ воды, которая приходит из артезианских скважин в летний и осенний периоды по показателям коли-индекса не отвечает требованиям Государственного стандарта, согласно которому воду разрешено использовать животным. В этот период отмечено также и общее загрязнение воды, так показатель МАФМ (мезофильные аэробные и факультативные анаэробные микроорганизмы) был несколько выше в течение всего периода исследования.

К физико-химическим характеристикам качества воды относится водородный показатель, который характеризуется количеством свободных ионов водорода в растворе.

Концентрация ионов водорода (рН) определяет характер химических и биологических процессов, происходящих в воде. От его величины может изменяться скорость течения химических реакций, степень коррозионной агрессивности воды, токсичное действие загрязняющих веществ.

Вода для поения животных в течение всего периода исследования имела нейтральную или слабощелочную реакцию, рН в пределах $7,0 \pm 0,1 - 7,0 \pm 0,2$.

Показатель общей щелочности характеризуется наличием в ней анионов слабых кислот, в основном угольной кислоты. Они также играют важную роль в минерализации воды (гидрокарбонаты, карбонаты). В наших исследованиях этот показатель не выходил за регламентированные величины, и представлял от $5,9 \pm 0,7$ до $6,3 \pm 0,8$, при норме 6,5.

Азотосодержащие вещества образуются в воде, главным образом, в результате распада белковых веществ. Не исключено загрязнение в результате попадания в подземные воды компонентов минераль-

ных удобрений из почвы.

При определении азота аммонийного в пробах воды установлено, что весной его количество было незначительно повышено – $0,6 \pm 0,2$ мг/дм³, норма – $0,5$ мг/дм³. В других исследуемых пробах воды содержание азота аммонийного, нитратов и нитритов находилось в пределах нормы, которая соответственно составляет 50 и $0,5$ мг/дм³.

Согласно результатам исследований проб воды по химическому составу вода является слабоминерализованной. Величина сухого остатка существенно не изменялась на протяжении года и колебалась от $328,0 \pm 38,7$ до $419,0 \pm 40,7$ мг/дм³. Стабильностью характеризовался и показатель минерализации воды, которую исследовали: она колебалась от $504,0 \pm 59,9$ до $597,0 \pm 53,7$ мг/дм³.

Жесткость (твердость) воды обусловлена наличием так называемых солей жесткости, а именно кальция, магния, сульфатов, хлоридов, карбонатов, гидрокарбонатов и др. Общая жесткость повышалась в пробах воды в осенне-зимний период. Это в основном происходило за счет солей кальция. Так, их концентрация в этот период была в подпороговых величинах, а именно $128,0 \pm 2,7$ и $127,0 \pm 1,5$ мг/дм³.

В исследуемом регионе на протяжении года отмечали низкое содержание в воде солей магния, калия и натрия; также это было характерно для хлоридов и сульфатов.

Минеральный состав воды определяется по суммарному содержанию семи главных ионов (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^-). Летом и зимой несколько повышалось содержание хлоридов и сульфатов, в то же время снижалось содержание ионов K^+ , что может вызвать опасность накопления Cs_{137} как аналога, т.е. состав основных ионов по формуле Курлова на протяжении года изменялся. Соотношение ионов в воде было следующим: HCO_3^- , Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , SO_4^{2-} , Cl^- , Mg^{2+} .

Следовательно, исследуемые подземные воды относятся к гидрокарбонатному составу, группе кальция первого типа, с переходом в осенне-зимний период во второй тип.

Окисляемость – это величина, которая характеризуется содержанием в воде органических и минеральных веществ, окисляющихся химическими окислителями. В своих исследованиях мы определяли перманганатную окисляемость воды. Установлено, что этот показатель не выходил за пределы регламентированных величин: осенью – $4,6 \pm 1,32 \text{ мг/дм}^3$, в другие сезоны года колебался от $5,2 \pm 0,1$ до $7,2 \pm 1,72 \text{ мг/дм}^3$, по норме 5 мг/дм^3 , что свидетельствует о наличии в воде продуктов распада веществ растительного или животного происхождения.

При количественном определении в воде макро- и микроэлементов (плюмбума, кадмия, арсена, ртути, купрума, цинка, марганца, кобальта) установлены определенные изменения в течение года.

Наиболее стабильными были показатели плюмбума, кадмия, арсена, ртути, купрума, цинка, кобальта, содержание которых не выходило за пределы нормы. В то же время концентрация железа в исследуемых пробах воды изменялась на протяжении года от $239,0 \pm 69,6$ до $565,0 \pm 253,6 \text{ мкг/дм}^3$. Этот показатель почти в три раза был более высокий против нормы в воде, которую отбирали в зимний - весенний период.

Отмечено также повышенное содержание марганца в воде из артезианских скважин на сквозняке всего периода исследований, от $114,0 \pm 18,9$ до $226,0 \pm 32,0 \text{ мкг/дм}^3$. Так, например, его уровень в воде был выше весной в 3,6 раза, летом уменьшился в 2 раза против нормы, и начинал увеличиваться вплоть до 4,5 раз больше зимой.

Высокое содержание в артезианской воде этих двух элементов обычно объяс-

няют растворением металлосодержащих минералов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Для поения животных в хозяйствах используют подземные воды из водоносных горизонтов трещиноватых докембрийских пород.
- Зоны санитарной охраны подземных источников водоснабжения в хозяйствах отсутствуют. Территория, на которой размещены артезианские скважины, не отвечает санитарно-эпидемиологическим требованиям.
- По органолептическим показателям (цветность, мутность) вода, которую исследовали, не отвечает установленным нормативам.
- В результате проведенных исследований установлена высокая контаминация воды микроорганизмами.
- Показатели химического состава воды исследуемых проб (водородный показатель, азот аммонийный, нитраты, нитриты, щелочность, общая жесткость, концентрация хлоридов и сульфатов, сухой остаток) были в пределах нормы.
- В исследуемом регионе на протяжении года отмечали низкое содержание в воде солей магния, калия и натрия.
- Вода, которую используют для поения животных, относится к гидрокарбонатному классу, группе кальция первого типа.
- В течение всего периода исследований стабильными были показатели содержания в воде плюмбума, кадмия, арсена, купрума, цинка и кобальта.
- Проблемным является содержание железа и марганца в воде артезианских скважин, их концентрация превышала нормативные величины в 2-4,5 раза.

Formation of water used for watering the animals in the northeastern biogeochemical zone of Ukraine.

V. Sokolyuk.

ABSTRACT

In this paper we studied the chemical

composition of the groundwater used for watering the animals in farms of northeastern biogeochemical zone of Ukraine. Water samples were taken from two points (well and troughs) on a seasonal basis, in accordance with the standart procedure. It was found that for watering the animals on the farms there is used the water from underground taken from the depth of the fractured Precambrian rocks. Sanitary protection zone of underground water sources in households is lacking. The land on which boreholes are placed does not meet sanitary and epidemiological requirements. A high water contamination by microorganisms was found. In the studied region, during the year there was found marked low content of the water-soluble salts of magnesium, potassium and sodium. Water, which is used for watering animals can be classified as hydro-carbonate class, calcium group of the first type.

Key words: water, animals, underground, watering, composition, minerals, sanitation and hygiene.

ЛИТЕРАТУРА

1. Державні санітарні норми та правила «Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною» ДСанПіН 2.2.4-171-10: Наказ МОЗ України від 12.05.2012, №400 (зі змінами від 15.08.2011)
2. Запольський А.К. Водопостачання, водовідведення та якість води // Підручник – К.: Вища шк. -2005. – 617с.
3. Карась А. В. Санитарно – гигиеническая характеристика качества воды в районе свиноводческого комплекса // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск. - 2008. – Т.44. – Вып. 2. – Ч.1. – С. 64 - 68.
4. Крайнов С.Р. Геохимия подземных вод хозяйственно-питьевого назначения. – М.: Недра. -1987. –237с.
5. Санітарно-гігієнічна оцінка якості води: Методичні вказівки до проведення лабораторно-практичних занять із студентами біолого-технологічного, екологічного та факультету ветеринарної медицини. – Біла Церква. -2011. -42с.
6. Сташук В.А. Оцінка сучасного стану водних ресурсів України // Вода і водоочисні технології. – 2006. – №1. – С. 6 - 9.
7. Соколюк В.М. Сезонні коливання показників якості питної води у різних біогеохімічних зонах України // Наук. вісник вет. медицини: Зб. наук-праць. – Біла Церква. -2011. – Вип.8(87). –С. 158 - 161.
8. Соколюк В.М. Характеристика якості води для напування тварин у північно-східній біогеохімічній зоні України // Вісник Сумського національного ун-ту. – Суми. -2013. – Вип.2(32). – С. 184-187.
9. Трофимов А.Ф. Влияние качества питьевой воды на продуктивность и здоровье крупного рогатого скота // Вестник национальной академии наук Беларуси. -2009. – №4. –С. 92-96.
10. Хільчевський В.К. Основи гідрохімії: підручник. – Ніка-Центр. -2012. –312с.
11. Andrew P., Andrew W., Murray H. Linking water quality trends with land use intensification in dairy farming catchments. // Journal of Hydrology. –2013. - Vol.476. -№7. – P. 1 - 12.
12. Zia H., Harris N., Merrett G., Rivers M., Coles N. The impact of agricultural activities on water quality: A case for collaborative catchment – scale management using integrated wireless sensor networks // Computers and Electronics in Agriculture. –2013. –P. 126 -138.



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 599.745.3:591.8

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ (PHOCAS ASPICA, GMELIN, 1788)

Володина В.В.¹ - научный сотрудник лаборатории ихтиопатологии, Грушко М.П.² - д.б.н., профессор кафедры гидробиологии и общей экологии, Федорова Н.Н.² - д.м.н., профессор кафедры гидробиологии и общей экологии,
¹Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, ²Астраханский государственный технический университет



РЕФЕРАТ

Каспийский тюлень – единственное морское млекопитающее на Каспии, уникальный эндемичный вид, часто подвергается влиянию биотических и абиотических факторов среды обитания. Кровь как самая лабильная ткань является одним из индикаторов физиологического состояния организма животных и условий их существования. Анализ периферической крови каспийских тюленей показал, что среднее содержание гемоглобина у животных первого года жизни составляло $168,5 \pm 8,9$ мг/л; у самцов $151,3 \pm 14,0$ мг/л; у яловых самок $148,0 \pm 12,6$ мг/л; у беременных $116,2 \pm 11,7$ мг/л. Состояние анемии зарегистрировано в 16,7%; 33,3%; 33,3% и 35,3% случаев, согласно вышеуказанным группам. Количество эритроцитов и скорость оседания эритроцитов, в среднем, зафиксированы на уровне $3,6 \pm 0,25 \times 10^{12}$ /л (у сиварей $4,8 \pm 0,5 \times 10^{12}$ /л, самцов $4,4 \pm 0,6 \times 10^{12}$ /л, у яловых $3,1 \pm 0,2 \times 10^{12}$ /л, у беременных $1,5 \pm 0,3 \times 10^{12}$ /л) и $3,6 \pm 0,1$ мм (у сиварей $2,6 \pm 1,1$ мм, у самцов $2,9 \pm 0,3$ мм, у яловых $3,0 \pm 0,3$ мм, у беременных самок $5,5 \pm 1,2$ мм) соответственно. У обследованных особей каспийского тюленя выявлены отклонения в морфологии клеток красного ряда; нарушения в количественном соотношении клеток белой крови (лимфоцитоз, моноцитоз, нейтрофилез, эозинофилия). Характер отмеченных изменений периферической крови в большинстве случаев исключает обратимость патологических процессов. Выявленные морфофункциональные нарушения клеток крови свидетельствуют о напряженном иммунном статусе обследованных животных, что обусловлено как острыми воспалительными процессами, протекающими вследствие внедрения чужеродных агентов (паразитов, вирусов, бактерий), так и/или гемотоксичным воздействием комплекса загрязняющих веществ водоема.

Ключевые слова: каспийский тюлень, гематологические показатели, физиологическое состояние, патологические изменения, клетки крови, морские млекопитающие.

ВВЕДЕНИЕ

Каспийский тюлень – единственное морское млекопитающее на Каспии, уникальный эндемичный вид, являющийся

вершиной трофической пирамиды, и состояние его популяции может служить индикатором благополучия всей экосистемы. В последние годы все острее становится проблема взаимоотношений морских млекопитающих и человека в связи с усилением антропогенного воздействия на природную среду, вызывая угнетение многих важнейших функций организма, включая иммунологические. Важнейшим механизмом, обеспечивающим нормальное функционирование живых систем в постоянно меняющихся условиях внешней среды, является гомеостаз. Крови как наиболее лабильной ткани внутренней среды определена роль индикатора состояния организма гидробионтов и условий их существования [7]. Поэтому исследование периферической крови - один из необходимых методов объективной оценки физиологического состояния живых существ, в том числе каспийских тюленей, часто подверженных влиянию биотических и абиотических факторов среды обитания

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись 55 самок и 34 самца каспийских тюленей. Животные были отловлены вблизи о. Малый Жемчужный на предзимних залежках в октябре-ноябре 2007-2013 гг. Изучение основных гематологических показателей (скорость оседания эритроцитов, концентрацию гемоглобина в крови, количество эритроцитов) проводили по общепринятым гематологическим методикам [4].

Результаты исследований.

Исследование показателей периферической крови каспийских тюленей показало, что среднее содержание гемоглобина у животных первого года жизни составило $168,5 \pm 8,9$ мг/л; у самцов — $151,3 \pm 14,0$ мг/л; у яловых самок - $148,0 \pm 12,6$ мг/л; у беременных — $116,2 \pm 11,7$ мг/л. Количество эритроцитов в среднем зафиксировано на уровне $3,6 \pm 0,3 \times 10^{12}$ /л (у сиварей — $4,8 \pm 0,5 \times 10^{12}$ /л, самцов- $4,4 \pm 0,6 \times 10^{12}$ /л, у

яловых - $3,1 \pm 0,2 \times 10^{12}$ /л, у беременных - $1,5 \pm 0,3 \times 10^{12}$ /л). Значительная доля особей (40,7%) характеризовалась снижением показателя количества эритроцитов, что могло быть обусловлено как гемолизом эритроцитов, так и воздействием токсических агентов, различными патологическими нарушениями деятельности костного мозга и/или селезенки [1].

Изменения показателей красной крови, т.е. снижение числа эритроцитов, содержание гемоглобина и патологические формы элементов крови проявляются в виде анемий. Состояние анемии зарегистрировано в 16,7%; 33,3%; 33,3% и 35,3% случаев, согласно вышеуказанным группам. Известно, что анемия развивается при интоксикациях под действием химических веществ антропогенного и/или биологического происхождения, кроме того эти токсины также способны подавлять функцию кроветворных органов [3].

Определение скорости оседания эритроцитов показало, что среднее значение данного показателя составляло $3,6 \pm 0,1$ мм (у сиварей $2,6 \pm 1,1$ мм, у самцов $2,9 \pm 0,3$ мм, у яловых $3,0 \pm 0,3$ мм, у беременных самок $5,5 \pm 1,2$ мм). Скорость оседания эритроцитов у некоторых больных особей достигала высоких значений (28 мм), что указывает на прогрессирование воспалительных процессов.

Анализ лейкоформулы каспийских тюленей показал, что среди лейкоцитов крови клетки агранулоцитопозитического ряда в среднем составляли $29,8 \pm 1,3\%$; гранулоцитопозитического $70,2 \pm 1,3\%$. В группе агранулоцитов доминировали лимфоциты от 21,5 до 24,4%. У 13,0% самцов были выявлены лимфобласты, средний удельный вес которых составлял 9,5%. Моноциты от общего количества клеток белой крови составляли $6,3 \pm 0,6\%$. Соотношения клеток в составе белой крови различалось в зависимости от физиологического состояния обследованных особей, как правило, обусловленные по-

ловыми и возрастными особенностями, а также индивидуальными особенностями организма. Повышенное количество лимфоцитов, моноцитов встречается при инфекционных, вирусных и грибковых заболеваниях [1]. Установлено, что 20,0% самцов, 33,3% сиварей, 16,7% яловых самок и 23,5% беременных самок каспийского тюленя были подвержены лимфоцитозу.

Увеличение количества моноцитов выявлено у 20,0% самцов, 20,8% сиварей, 16,7% яловых и 17,6% беременных самок обследованных животных. Моноцитоз у млекопитающих может наблюдаться при прогрессирующих паразитарных и бактериальных заболеваниях, свидетельствует об иммунодефиците [5].

У гранулоцитов превалирующее положение занимали нейтрофилы, варьируя от 49,0 до 61,2% от общего числа клеток белой крови, в среднем составляя $57,0 \pm 2,62\%$. Клетки этой группы имели разную степень зрелости. Были отмечены нейтрофильные миелоциты (3,4%), нейтрофильные метамиелоциты (3,5%), палочкоядерные (18,2%) и сегментоядерные нейтрофилы (31,0%).

Палочкоядерные нейтрофилы у самцов составляли 16,5%; у беременных самок 21,3%, у яловых самок 15,4%; сегментоядерные нейтрофилы составляли 27,5%; 30,2%; 39,8%, соответственно. Повышение относительного содержания незрелых нейтрофильных клеток в периферической крови является одним из признаков кумулятивного токсикоза [6]. Повышенное количество нейтрофилов зарегистрировано у 6,7% самцов, 8,3% сиварей и 5,9% беременных самок обследованных каспийских нерп. Нейтрофилез характерен для патологических процессов, главным образом инфекционных и нагноительных. Этот тип реакции организма рассматривается в качестве адаптационного механизма, повышающего защитную функцию крови [6].

Среднее количество базофилов, выяв-

ленное у зверей составляло $3,3 \pm 0,3\%$, при этом у самцов удельный вес этих клеток составлял – $3,8 \pm 1,4\%$, у беременных самок $1,7 \pm 0,5\%$, у яловых $5,9 \pm 2,0\%$, у сиварей $2,8 \pm 1,0\%$.

Повышенное количество эозинофилов в крови выявлено у 40,0% самцов, 8,3 % сиварей, 66,7 % яловых и 58,8 % беременных самок каспийских тюленей. Эозинофилия – известная особенность крови китообразных [2]. Наиболее вероятной причиной её возникновения считают паразитарные инвазии, которые распространены у ластоногих. Повышение количества эозинофилов в периферической крови наблюдается при аллергических реакциях различного происхождения. Роль аллергенов могут играть как вещества, выделяемые гельминтами, так и различные ксенобиотики. При стрессе число эозинофилов, наоборот, резко уменьшается [2].

В целом, обнаруженные отклонения лейкограмм свидетельствуют об острых воспалительных процессах, интоксикации организма, наличии паразитарной инвазии, опухолевых заболеваниях. Характер отмеченных изменений крови в большинстве случаев исключает обратимость этих процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, морфологический состав крови обследованных нерп позволил выявить признаки анемии, которые проявлялись в виде присутствия на мазках крови эхиноцитов, ретикулоцитов, различного размера эритроцитов. У обследованных особей каспийского тюленя выявлены значительные отклонения в морфологии клеток красного ряда (анизацитоз, пойкилоцитоз, агглютинация); нарушения в количественном соотношении клеток белой крови (лимфоцитоз, моноцитоз, нейтрофилез, эозинофилия, лимфопения). Выявленные изменения лейкограмм проанализированных животных обусловлены как паразитарными инвазиями, вирусами и бактериальными инфекциями, присут-

ствующими у тюленей, так и гемотоксичным действием комплекса загрязняющих веществ водоема. Результаты исследования клеточного состава периферической крови тюленей свидетельствуют о неудовлетворительном физиологическом состоянии обследованных животных.

Cell composition of peripheral blood of the Caspian seal (*Phocaspica*, Gmelin, 1788).

V. Volodina., M. Grushko, N. Fedorova.

ABSTRACT

The Caspian seal is the only marine mammal in the Caspian, unique endemic species, often affected by biotic and abiotic factors of the environment. The blood as the most labile fabric is one of the indicators of the physiological state of the organism of animals and the conditions of their existence. The analysis of peripheral blood Caspian seals showed that the average content of haemoglobin in animals first year of life was 168,5±8,9mg/l; males 151,3±14,0mg/l; heifers female 148,0±12,6mg/l; in pregnant females for 116,2±11,7mg/l. The State of anemia registered in 16,7%; 33,3%; 33,3% and 35,3% of cases, according to the above groups. The number of red blood cells and speed of erythrocyte sedimentation, on average, registered at the level of $3,6 \pm 0,3 \times 10^{12}/l$ (animals first year of life $4,8 \pm 0,5 \times 10^{12}/l$, males and $4,4 \pm 0,6 \times 10^{12}/l$, heifers $3,1 \pm 0,2 \times 10^{12}/l$ in pregnant females is $1,5 \pm 0,3 \times 10^{12}/l$) and $3,6 \pm 0,1$ mm (animals first year of life $2,6 \pm 1,1$ mm, the males and $2,9 \pm 0,3$ mm, heifers $3,0 \pm 0,3$ mm in pregnant females $5,5 \pm 1,2$ mm), respectively. In the examined individuals Caspian seals revealed abnormalities in cell morphology red number (anization, poikilocytosis, agglutination); violations in the proportion of white blood cells (lymphocytosis, monocytosis, basophilia, neutrophilia, eosinophilia). The nature of the observed changes in the peripheral blood in most cases, eliminates the reversibility of the pathological processes. Identified morpho-

logical and functional disorders of blood cells indicate intense immune status of the surveyed animals, both due to acute inflammatory processes due to the introduction of alien agents (parasites, viruses, bacteria) and/or toxic effects of complex pollutants of the water body.

Key words: Caspian seal, hematologic indicators, physiological state, pathological changes in the blood cells, marine mammals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобова Л.П., Кузнецов С.Л., Сапрыкин В.П. Гистофизиология крови и кроветворных органов и иммуногенеза. – М.: Новая Волна. -2003. –157с.
2. Кавцевич Н.Н., Минзюк Т.В. Клеточный состав крови серых тюленей (*Halichoerus grypus*) разного возраста // Зоологический журнал. -2011. – Т.90. - №9. – С. 1122-1126.
3. Крылов А.А. Принципы трактовки клинического анализа крови сообщение 1. Лейкоциты (лекция) // Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования. -2009. – С. 76-82.
4. Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А., Привольнеев Т.И. Гематология животных и рыб. – М.:Колос. -1969. -320с.
5. Луцук С.Н., Пономарева М.Е. Пироплазмидозы лошадей: монография.- Ставрополь: «АРГУС». -2004. –152с.
6. Минеева О.В., Минеев А.К. Нарушения лейкоцитарной формулы крови озерной лягушки саратовского водохранилища // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. -2011. –№2(2). – С. 94-97.
7. Моисеенко Т.И. Гематологические показатели сига в оценке ихтоксикозов (на примере *Coregonus Lavaretus* L.) // Вопросы ихтиологии. -1998. -№3. -С. 371-380.

ВЛИЯНИЕ СУХОГО СОЛЕВОГО АЭРОЗОЛЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ЛОШАДЕЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ОБСТРУКТИВНЫХ БОЛЕЗНЯХ ЛЕГКИХ

Романова О.В.¹ – к.в.н., доцент кафедры патологической физиологии, Крячко О.В.¹ – д.в.н., профессор кафедры патологической физиологии, Червинская А.В.² – д.м.н., профессор, ¹Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» кафедра, ²ФГУЗ Клиническая больница №122 им. Л.Г.Соколова



РЕФЕРАТ

Известно, что при болезнях легких у сельскохозяйственных животных страдает клеточное звено неспецифической защиты, поэтому нами была поставлена цель – оценить влияние галотерапии на функциональную активность нейтрофилов крови лошадей с симптомами хронических обструктивных болезней легких (ХОБЛ).

Исследования проводили на 12 лошадях в возрасте 8-14 лет с симптомами ХОБЛ, имевших проявление в течение последних двух-четырех лет. В качестве аэрозольобразующего вещества использовали химически чистый натрия хлорид, предварительно подвергнутый термической обработке при 100⁰С в течение 2-3 минут. Создавали концентрацию натрия хлорида 10 мг/м³ с помощью галогенератора «Сола-Вита».

После сеансов галотерапии клиническое состояние лошадей претерпевало позитивные изменения: повышалась физическая активность животных, улучшалась аускультационная картина в легких, исчезали брюшной тип дыхания и одышка уже первые дни терапии. Число нейтрофилов, способных к фагоцитозу возросло в 1,62 раза (P≤0,05) по сравнению с исходным уровнем уже после первого сеанса галотерапии, и в 1,5 раза превысило (P≤0,05) аналогичный показатель у животных контроля. Количество поглощенных ими объектов (ФИ) возросло почти в 2,0 раза (P≤0,05) по сравнению с исходным значением и уровнем группы контроля.

Таким образом, галотерапия оказала стимулирующее влияние на клинический статус лошадей и фагоцитарную активность нейтрофилов лошадей, больных ХОБЛ.

Ключевые слова: хронические обструктивные болезни легких, лошади, галотерапия, фагоцитоз.

ВВЕДЕНИЕ

Галотерапия – метод курортологической реабилитационной медицины, широко применяемый в клинической практике с середины 80-х годов. Специально оборудованными комфортными солевыми комнатами («солевыми пещерами») сегодня располагают не только крупные медицинские центры, но и салоны красоты, фитнес-центры, оздоровительные комплексы. Для конной ветеринарии этот

метод является сравнительно новым, но определенно перспективным для лечения и реабилитации лошадей. Известно, что организм лошади, в частности, респираторная система, имеет высокую степень чувствительности к изменению основных физических показателей окружающей среды. Это анатомо-физиологическая видовая особенность лошадей, имеющая эволюционно потенцированную природу. Большинство зарубежных и отечествен-

ных авторов, описывая хронические obstructивные заболевания легких лошадей (ХОБЛ), особое внимание уделяют созданию оптимального микроклимата для животных. Есть сведения из клинической практики, что 80% лечебной эффективности терапии ХОБЛ принадлежит условиям содержания, кормления и эксплуатации [3,6].

Ранее было показано, что при ХОБЛ у лошадей, как и у других животных, страдает клеточное звено неспецифической защиты [1,2], поэтому наряду с клиническими исследованиями нами была поставлена цель – оценить влияние галотерапии на функциональную активность нейтрофилов крови лошадей с симптомами ХОБЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследований использовали 12 лошадей в возрасте 8-14 лет с симптомами ХОБЛ, имевших проявление в течение последних двух-четырех лет. Диагноз устанавливали общепринятыми методами с использованием эндоскопического исследования. Животные были сформированы в 2 группы - опытная и контрольная - по 6 голов в каждой

В качестве галокамеры использовали герметично закрытый поликарбонатом денник стандартных размеров (3x4 м) с возможностью естественной вентиляции. В приспособленном таким образом помещении устанавливали галогенератор «Сола-Вита» и датчик концентрации. В качестве аэрозолеобразующего вещества использовали химически чистый натрия хлорид, предварительно подвергнутый термической обработке при 100⁰С в течение 2-3 минут. Создавали концентрацию натрия хлорида 10 мг/м³ согласно рекомендациям [4,5].

Лошадей опытной группы заводили в галокамеру и оставляли под наблюдением на 15 минут. После сеанса лошадей вышаживали в руках в течение 30-40 минут. Контрольные животные лечебно-

профилактических процедур не получали. До начала эксперимента, после 1-го и 10-го сеанса проводили взятие крови в стерильные вакутейнеры с ЭДТА у лошадей обеих групп.

Фагоцитарную активность нейтрофилов (ФА) определяли по методу Потапова С.Г.(1977), при этом вычисляли фагоцитарный индекс (ФИ).

На протяжении всего эксперимента осуществляли клинический осмотр лошадей опытной и контрольной групп, с двукратной в сутки термометрией, аускультацией и визуальной оценкой носовых истечений.

Все результаты экспериментов обрабатывались статистически, различия определяли при 0,05 уровне значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе эксперимента клиническая эффективность сухого солевого аэрозольного воздействия на респираторный тракт лошади была отмечена в течение первого-третьего сеанса галотерапии. Это выражалось в появлении сравнительно обильных носовых истечений у всех лошадей после 7-10 минут сеанса. Истечения сохранялись и несколько усиливались во время шаговой проводки лошадей. Характер носовых истечений – консистенция, цвет, наличие примесей – варьировал в зависимости от исходного состояния лошадей, а также от продолжительности сеансов галотерапии. Так, если в первые три дня у лошадей отмечались густые, фрагментарные выделения из носа и при этом лошади активно офыркивались во время шаговой проводки, то к пятому-седьмому сеансу галотерапии носовые истечения у животных становились прозрачными, жидкими и практически не вызывали эффекта отфыркивания при движении. Таким образом, создавалось впечатление отсутствия эффективности проводимой терапии во второй половине курса. Однако, клиническое состояние лошадей становилось заметно лучше: повышалась

физическая активность животных, улучшалась аускультационная картина в легких, исчезали брюшной тип дыхания и одышка уже первые дни терапии.

Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов у лошадей опытной и контрольной групп представлены в таблице №1.

Из данных, представленных в таблице, видно, что сухой солевой аэрозоль натрия хлорида оказывает позитивное влияние на функциональную активность нейтрофилов, в частности, на их способность к фагоцитозу. Число нейтрофилов, способных к фагоцитозу возросло в 1,62 раза ($P \leq 0,05$) по сравнению с исходным уровнем уже после первого сеанса галотерапии, и в 1,5 раза превысило ($P \leq 0,05$) аналогичный показатель у животных контроля. Спустя 10 дней число фагоцитарноактивных нейтрофилов у лошадей получавших галотерапию оставалось на достигнутом после первого сеанса уровне, достоверно превышая показатели контрольной группы. В контрольной группе животных фагоцитарная активность нейтрофилов была почти постоянной (21-22-24%) и на протяжении всего эксперимента не претерпевала достоверных изменений по отношению к исходному значению.

Также необходимо отметить, что под влиянием галотерапии увеличилось не только число нейтрофилов, способных к фагоцитозу, но и количество поглощенных ими объектов почти в 2,0 раза ($P \leq 0,05$) по сравнению с исходным значением и уровнем группы контроля.

Полученные нами данные позволяют говорить о положительном влиянии сухого солевого аэрозоля на показатели неспецифической резистентности лошадей, в частности, на их микрофагальное звено. Для лошадей это имеет принципиальное значение, так как именно с изменением нейтрофильной активности связывают большинство хронических патологий у этого вида животных [1,3]. Наши наблюдения также свидетельствуют о выраженной терапевтической эффективности сеансов галотерапии: особенно следует отметить получение мукокинетического эффекта в первые дни. Это, бесспорно, является тем самым потенцированным действием, которого в стандартном лечении ХОБЛ пытаются достигать медикаментозным путем. Известно, что повышение вязкости бронхиальной слизи у лошадей приводит к тяжелым продолжительным нарушениям внешнего дыхания [3]. Медикаментозная же коррекция мукоцилиарного клиренса затруднена в силу анатомо-физиологических особенностей животных этого вида.

Метод галотерапии отвечает большинству требований: в процессе управляемой галотерапии создаются оптимальные показатели микроклимата, а в качестве лечебного компонента используется сухой солевой аэрозоль. Для лошадей, больных ХОБЛ, имеет большое значение дисперсность среды, гипоаллергенность, способ проникновения регидранта в дыхательные пути и отсутствие специфических раздражителей. Используемый в галоте-

Таблица №1
Состояние фагоцитарной активности нейтрофилов у лошадей опытной и контрольной групп в динамике галотерапии ($M \pm m$, $n=6$)

Показатели	До начала эксперимента		После первого сеанса галотерапии		После 10-дневного курса галотерапии	
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
ФА, %	22,7±0,8	21,4±1,0	36,7±2,5*	24,1±1,7	30,1±1,5*	22,4±2,2
ФИ, Ед	1,0±0,1	0,9±0,5	1,9±0,8*	1,0±0,2	2,1±0,9	1,0±0,5

Примечание: *- $P \leq 0,05$ по сравнению с предыдущей точкой определения

рапии натрия хлорид и специальное оборудование галокамеры позволяют сохранять комфортный микроклимат для лошади, обеспечивая при этом лечебное действие на дыхательные пути.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенного исследования нами было установлено достоверное повышение фагоцитарной активности нейтрофилов у лошадей, получавших сеансы галотерапии. Отмеченное также клиническое улучшение состояния животных в комплексе с известными в медицине эффектами галоаэрозольного воздействия позволяют считать галотерапию патогенетически оправданной и в области ветеринарии.

The influence of dry salt aerosol on the functional activity of horses neutrophils in chronic obstructive pulmonary diseases.

O. Romanova, O. Kriachko, A. Chervinskaya.

ABSTRACT

It is known that cells of nonspecific protection is suffer due the disease of lung of the farm animals. So the main purpose of our work was to evaluate the impact of halotherapy on the functional activity of blood neutrophils of horses with symptoms of COPD.

Our research was carried out on 12 horses aged 8-14 years with symptoms of COPD which had a manifestation in the last two to four years. Chemically pure sodium chloride was subjected to heat treatment at temperature 100°C for 2-3 minutes before using as an aerosol substances. Halogenerator "Sola-Vita" was used to create the concentration of sodium chloride solution 10 mg/m³.

Clinical condition of the horses has undergone positive changes after sessions of halotherapy: physical activity animals was increased, auscultation picture in the lungs was improved, abdominal breathing and shortness of breath were disappeared already in the first days of therapy. The number of neutrophils, which is capable to phagocyto-

sis increased in 1,62 times ($P \leq 0,05$) compared to the initial level after the first session of halotherapy, and in 1,5 times exceeded ($R \leq 0,05$) the same indicator at group of control animal. The amount absorbed by them objects (PHI) has increased by almost 2.0 times ($P \leq 0,05$) compared to the level start of experiments and the level of the control group.

Thus, halotherapy has had a stimulating effect on the clinical status of the horses and the phagocytic activity of blood neutrophils of the horses, COPD patients.

Key words: chronic obstructive lung disease, horses, halotherapy, phagocytosis

ЛИТЕРАТУРА

1. Крячко О.В. и др. Состояние неспецифических факторов защиты у лошадей при ХОБЛ // Российский иммунологический журнал. -2008. – Т.2. -№2-3. –С. 167.
2. Крячко О.В. Активность нейтрофилов при бронхопневмонии свиней // Тез. докл. науч.-практич. конф. “Наука - производства”. - Гродно. -1996. -С. 213
3. Романова О.В., Крячко, О.В. Принципиальная схема лечения хронических obstructивных заболеваний лёгких у лошадей // Практик. -2004. - №1-2.
4. Червинская А.В. Галотерапия в условиях управляемого микроклимата соляных пещер для восстановительной терапии // Нелекарственная медицина. -2007. -№3 (8). –С. 6-15
5. Червинская А.В. Галотерапия болезней органов дыхания // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. –2003. -№6. – С. 8-15
6. Robinson N.E. Chairpersons report: International Workshop on Equine chronic Airway Disease // Equine Vet. J. -Michigan State University. -2000. -Vol.2001. –P. 5 - 19.

ИЗУЧЕНИЕ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ПОЛИСАХАРИДОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Красочко П.А.¹ – д.в.н., профессор; Капуцкий Ф.Н.² – д.х.н., профессор, академик НАН Беларуси, Красочко П.П.³ – к.в.н., старший научный сотрудник, Зубец О.В.² – научный сотрудник, Аладьева Т.А.¹ – аспирант, ¹ Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского, ² Институт физико-химических проблем Белорусского Государственного университета, ³ УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»



РЕФЕРАТ

Приведены результаты изучения сорбционных свойств микрокристаллической целлюлозы в смеси с альгинатом натрия в пропорции 50:50 приготовленной по «сухому» и «мокрому» способам. Показано, что образцы целлюлозы имеют высокую сорбционную активность в отношении метиленового голубого, тяжелых металлов, вирусов инфекционного ринотрахеита и диареи.

Ключевые слова: активированная целлюлоза, сорбенты, тяжелые металлы, вирус инфекционного ринотрахеита, вирус диареи, полимеразно-цепная реакция.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы при конструировании вакцин начали широко применять экологически безопасные адъюванты на основе биополимеров – хитозана, целлюлозы и полисахаридов растительного происхождения. Их особенностью является безвредность для организма, высокая биологическая активность и сорбционная емкость.

Особенно перспективным является возможность применения в качестве адъювантов для инактивированных вакцины модифицированной микрокристаллической целлюлозы. Микрокристаллическая целлюлоза применяется достаточно широко в фармацевтической промышленности в качестве добавки играющей роль наполнителя и загустителя таблеток, капсул, мазей, различных лекарственных средств, а также в других специальных рецептурах. В тоже время микрокристаллическая целлюлоза не содержит ионных групп, имеющих в природных

полисахаридах, и в силу этого не проявляет в достаточной степени, присущих им положительных качеств: повышенную гидрофильность, гелеобразование, способность химически связывать различные катионы [1,2]. Однако эти недостатки можно устранить путем подбора и модификации природных полимеров с целью повышения их сорбционных свойств. Для этого имеется возможность применения в качестве сорбента для вакцин (адъюванта) ряда природных полимеров, таких как, альгинаты, а также модифицированной микрокристаллической целлюлозы.

Микрокристаллическая целлюлоза не содержит функциональных групп и поэтому имеет неизбирательную и относительно невысокую сорбционную активность. Напротив пектины и альгинаты представляют собой природные полиэлектролиты, имеющие в своем составе карбоксильные группы и, по этой причине являются весьма эффективными сор-

бентами. Проведение модификации целлюлозы с целью придания ей полиэлектролитных свойств позволит увеличить сорбционную активность и повысить избирательность природного полимера [4].

Поэтому представляется вполне обоснованным использование модифицированных полисахаридов (целлюлозы) для использования их в качестве сорбентов и адьювантов при конструировании вакцин.

Цель настоящих исследований – изучить сорбционную активность сорбентов на основе полисахаридов растительного происхождения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Микрокристаллическая целлюлоза была получена по традиционной схеме: гидролиз нативной древесной целлюлозы в кислой среде до порошкового состояния, затем полученный продукт отделяли на фильтре и тщательно отмывали дистиллированной водой до нейтральной pH промывных вод. После промывки материал высушивали в сушильной шкафу при 105 °С в течение 3-4 часов. При этом высушенная микрокристаллическая целлюлоза представляет собой неоднородную массу слипшихся при сушке агрегатов частиц. В определенных пропорциях данный продукт смешивали с альгинатом натрия (кремовый порошковый продукт, состоящий из чешуек различного размера, от менее 1 мм до 2-3 мм). Полученную смесь помещали в лабораторную мельницу для размолва твердых материалов «КА» и после непродолжительной, но интенсивной обработки получали однородную по цвету и составу порошковую массу.

Для изготовления готовой формы адьюванта-энтеросорбента приготовлена композиция из природных полимеров, представляющая собой двухкомпонентную систему, которая состоит из твердой фазы (микрокристаллическая целлюлоза) и растворимого компонента – альгината натрия. Композиции готовили следую-

щим образом: по традиционной схеме получали микрокристаллическую целлюлозу гидролизом древесной целлюлозы в кислой среде до порошкового состояния, затем полученный продукт отделяли на фильтре и тщательно отмывали дистиллированной водой до нейтрального показателя pH промывных вод. После промывки материал высушивали в сушильной шкафу при 105 °С в течение 3-4 часов. При этом высушенная микрокристаллическая целлюлоза представляет собой неоднородную массу слипшихся при сушке агрегатов частиц. В определенных пропорциях данный продукт смешивали с альгинатом натрия (кремовый порошковый продукт, состоящий из чешуек различного размера, от менее 1 мм до 2-3 мм). Полученную смесь помещали в лабораторную мельницу для размолва твердых материалов «КА» и после непродолжительной, но интенсивной обработки получали однородную по цвету и составу порошковую массу. Параллельно приготовили еще образец, однако в этом случае совмещение компонентов проводили в водной среде, потому, что альгинат натрия хорошо набухает и образует вязкий раствор. В полученный раствор погружали микрокристаллическую целлюлозу, затем смесь диспергировали в высокооборотистом лабораторном гомогенизаторе Waring Blender. Приготовленную однородную массу выливали на поддон и сушили в сушильном шкафу при 105°С в течение 5-6 часов. Затем осуществляли размол в мельнице до получения однородного порошкового продукта. В результате таких операций получали продукт частицы, которого имели нерастворимое ядро и были покрыты высокомолекулярным компонентом, хорошо набухающим в воде и содержащий функциональные группы (карбоксилатные) [4].

Определение сорбционной способности природных полисахаридов оценивали по связыванию метиленового голубого

[5]. Для этого навеску препарата массой 0,3 г, в расчете на воздушно-сухой исследуемый материал, заливали 50 мл водного раствора красителя заданной концентрации (от 0,4 до 3,4 г/л). Растворы имели рН = 6. По истечении трех часов (период установления сорбционно-десорбционного равновесия) сорбент отделяли от раствора центрифугированием. Далее проводили необходимое (количественно контролируемое) разбавление раствора и определение его оптической плотности. По предварительно построенному калибровочному графику зависимости оптической плотности раствора от его концентрации определяли равновесную концентрацию метиленового голубого и рассчитывали величину сорбции по формуле:

$$A = ((C_0 - C_r) / g) \times V, \text{ мг/г,}$$

где: C_0 - начальная концентрация метиленового голубого (мг/л),

C_r - равновесная концентрация метиленового голубого (мг/л),

V - исследуемый объем (л),

g - навеска сухого вещества (г).

Для оценки сорбционной способности различных образцов активированной целлюлозы в работе использовали вакцинные штаммы вируса инфекционного ринотрахеита (КМИЭВ-6) и вируса диареи (КМИЭВ – 7) крупного рогатого скота и сорбенты.

Для выявления генома вируса инфекционного ринотрахеита (ИРТ) использовали разработанную нами тест-систему для постановки ПЦР в реальном времени (ТУ ВУ 600049853.120-2009), а для выявления генома вируса диареи (ВД) - тест-систему производства НПО «Нарвак» (Россия).

Постановку ПЦР проводили в real-time амплификаторе «Bio-Rad IQ5»(США).

Оценку сорбционной активности сорбентов на основе природных полисахаридов проводили путем их объединения с вирусосодержащей жидкостью вирусов ИРТ и ВД. Процесс сорбции продол-

жался в течение 24 часов при температуре 37⁰ С, после чего путем центрифугирования отделяли вирус от сорбента. В надосадочной жидкости определяли наличие ДНК вируса ИРТ и РНК вируса диареи путем постановки Real-Time ПЦР [3].

Оценку сорбционной способности адьювантов в отношении микроэлементов проводили с помощью атомно-адсорбционной хроматографии с использованием сульфата цинка и сульфата меди. Для этого готовили разведения солей тяжелых металлов в концентрации 500 и 5000 мг/л. Каждое разведение солей металлов соединяли в равных соотношениях с адьювантом в рабочей концентрации. Процесс сорбции продолжался в течение 24 часов при температуре +2+4⁰ С. После центрифугирования сорбента и солей металлов из надосадка проводили отбор проб. В надосадочной жидкости определяли концентрацию меди и цинка.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Приготовленные композиты из природных полимеров представляют собой двухкомпонентные системы, состоящие из твердой фазы (микрористаллическая целлюлоза) и растворимого компонента – альгината натрия. Микрористаллическая целлюлоза не обладает выраженными ионоселективными свойствами, однако, благодаря порошковой форме она имеет развитую удельную поверхность. С целью увеличения сорбционных свойств данного продукта вводили второй компонент – альгинат натрия, имеющий высокое содержание карбоксильных групп.

При оценке сорбционной способности в качестве сорбата в работе было выбрано вещество, моделирующее эндогенный токсин, а именно: краситель метиленовый голубой, который сорбируется предположительно по механизму ионного обмена. Результаты сорбции метиленового голубого из его водных растворов образцами представлены в табл. 1.

Проведенные испытания опытных



Рис. 1. Растровые электронные фотографии целлюлозных образцов: *а* – волокна целлюлозы, *б* – частицы микрокристаллической окисленной целлюлозы



Рис. 2. Порошковая основа энтеросорбента

Таблица 1
Оценка сорбционной способности опытных образцов по связыванию метиленового голубого (продолжительность взаимодействия - 3 часа)

Сорбент	Величина сорбции, мг/г
Микрокристаллическая целлюлоза	0,8
Альгинат натрия	64,0
Микрокристаллическая целлюлоза в смеси с альгинатом натрия в пропорции 50:50 (приготовлен по «сухому» способу)	110,3
Микрокристаллическая целлюлоза в смеси с альгинатом натрия в пропорции 50:50 (приготовлен по «мокрому» способу)	111,5

образов на способность связывать модельный токсикант – метиленовый голубой показали, что за 3 часа взаимодействия микрокристаллическая целлюлоза способна связать всего лишь 0,8 мг красителя на грамм препарата, тогда как модифицированный образец имеет величину сорбции 63,8 мг/г. Но сорбционная способность приготовленных препаратов № 1 и №2 более, чем на два порядка превосходит таковую микрокристаллической целлюлозы.

В табл. 2 представлены изучения активности сорбентов на основе активированной целлюлозы в отношении вирусов ИРТ и диареи.

Результаты проведенных исследований показали, что микрокристаллическая целлюлоза в смеси с альгинатом натрия в пропорции 50:50 как по мокрому, так и по сухому методу обладают высокими сорбционными свойствами.

Следующим этапом работы явилось изучение сорбционных свойств полученных образцов модифицированной целлюлозы в отношении солей тяжелых металлов (сульфат цинка и сульфат меди)

Оценку сорбционной способности адьювантов в отношении микроэлементов проводили с помощью атомно-адсорбционной хроматографии с использованием сульфата цинка и сульфата меди.

Результаты определения сорбционной активности различных полисахаридов в отношении солей металлов приведены в табл. 3.

Приведенные результаты показывают, что разработанные новые сорбенты на основе целлюлозы обладают высокой сорбционной активностью и их в дальнейшем можно использовать в качестве адьюванта для вакцин или энтеросорбентов. Степень сорбции вышеуказанных полисахаридов составляет от 236 до 937.

Таблица 2

Изучение активности сорбентов на основе активированной целлюлозы в отношении вирусов ИРТ и диареи

№ п/п	Название сорбента	Степень сорбции	
		Вирус ИРТ	Вирус диареи
1.	Микрокристаллическая целлюлоза	34	4,1
2.	Альгинат натрия	1,98x10 ⁴	9,7
3.	Микрокристаллическая целлюлоза в смеси с альгинатом натрия в пропорции 50:50 (приготовлен по «сухому» способу)	4,72x10 ⁴	90,7
4.	Микрокристаллическая целлюлоза в смеси с альгинатом натрия в пропорции 50:50 (приготовлен по «мокрому» способу)	1,03x10 ⁷	159,7

Достоверность: * - P≤0,01

Таблица 3

Результаты определения сорбционной активности различных сорбентов в отношении солей металлов

№ п/п	Название сорбента	Концентрация меди / степень сорбции		Концентрация цинка / степень сорбции	
1.	Микрокристаллическая целлюлоза	5130/1,02	507/1,04	5704/0,92	486/1,08
2.	Альгинат натрия	5536/0,94	513/1,03	4346/1,28	569/0,92
3.	Микрокристаллическая целлюлоза в смеси с альгинатом натрия в пропорции 50:50 (приготовлен по «сухому» способу)	3638/1,44	161/3,26	3386/1,55	390/1,35
7.	Микрокристаллическая целлюлоза в смеси с альгинатом натрия в пропорции 50:50 (приготовлен по «мокрому» способу)	3916/1,34	116/4,53	4257/1,23	332/1,58
13	Исходная концентрация металла	5250	525	2520	525

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Разработана технология приготовления новых сорбентов на основе микрокристаллической целлюлозы в смеси с альгинатом натрия в пропорции 50:50 приготовленной по «сухому» и «мокрому» способам.
- Оценка активности сорбентов на основе микрокристаллической целлюлозы в смеси с альгинатом натрия показало их высокую сорбционную способность активность в отношении метиленового голубого, тяжелых металлов, вирусов инфекционного ринотрахеита и диареи.

Studying of sorption properties of polysaccharides of the phytogenesis

P. Krasochko, F.Kaputsky, P. Krasochko, O. Zubets, T. Aladyeva.

ABSTRACT

Results of studying of sorption properties of microcrystalline cellulose are given in a mix with sodium alginate in a proportion 50:50 prepared on "dry" and "wet" ways. It is shown that samples of cellulose have high sorption activity concerning methylene blue, heavy metals, viruses of infectious rhinotracheitis and diarrhea.

Key words: the activated cellulose, sorbents, heavy metals, virus of infectious rhinotracheitis, diarrhea virus, polymerase chain reaction.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляков Н.А. Энтеросорбция - механизм лечебного действия // Эфферентная терапия. – 1997. – Т3. – №2. – С. 20-26.
2. Дудкин М.С. Пищевые волокна. – К.: Урожай. – 1988. – 152с.
3. Максимович В.В. Методические указания по диагностике инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции // Изд. РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского». – Минск. -2008. –26с.
4. Ермоленко И.Н. Спектроскопия в химии окисленных целлюлоз: монография. – Минск: Изд. АН. БССР. –1959. –291с.
5. Пакшвар А.Б., Конкина А.А. Контроль производства химических волокон. – М.: Химия. – 1967. –280 с.



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК: 614

ПРИОБРЕТЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ: КАК ВЫБРАТЬ ПИТОМНИК, ИСХОДЯ ИЗ РОССИЙСКИХ РЕАЛИЙ. СООБЩЕНИЕ 2. ТРЕБОВАНИЯ К ПОСТАВЩИКАМ

Фатеева Е.И.- к.б.н., курирующий ветеринарный врач,
НПП «Питомник лабораторных животных»



РЕФЕРАТ

Ограниченный выбор питомников в России часто вынуждает исследователей разводить лабораторных животных собственными силами. Однако, для проведения исследований на современном уровне, требуются животные высокого качества. Для того, чтобы оценить добросовестность поставщика животных, можно использовать несложные опросные листы. Одна часть вопросов касается генетики животных, которых разводят в питомнике (проводится ли фенотипирование, доступна ли кривая вес/возраст), другая – их здоровья (например, ведется ли в питомнике наблюдение за состоянием здоровья животных, и есть ли в штате ветеринарный врач). В российских условиях не всегда можно доверять представленным документам, поэтому очень важно, чтобы питомники обсуждали с покупателями возможность проведения инспекции, и находили способы отвечать на вопросы, интересующие покупателя.

Ключевые слова: питомник лабораторных животных, лабораторные животные, инспектирование питомника, клинический осмотр, условия содержания, программа профилактики здоровья.

В России, к сожалению, на сегодняшний день существует весьма ограниченный выбор поставщиков. Это либо единственный питомник СПФ-животных, либо питомники Академии медицинских наук, организованные много лет назад и

существующие на том же уровне. В последние годы появляются частные питомники, которые предлагают лабораторных животных, особенно мелких грызунов и кроликов. Как не ошибиться в выборе?

Первый вопрос, который следует за-

дать поставщику животных, связан с генетическим качеством. Насколько животные линии СВА соответствуют мировым стандартам? Характеристики линии/стока включают:

Кривая вес/возраст. Очень важная характеристика. Помните, что линейные мыши, как правило, не могут весить 40 г в 12-недельном возрасте.

Фенотип. Это окрас шерсти и другие внешние признаки. Добросовестный поставщик проводит фенотипирование для подтверждения генетического статуса своих животных.

Назначение – для каких видов исследований предназначены данные животные.

Источник племенных животных. При любой схеме разведения очень важно иметь «исходных» животных, чтобы периодически заменять племенное ядро собственной колонии.

Следует отметить, что стоком (stock) называют аутбредных животных, а линией (strain) инбредных. С фундаментальными понятиями о генетике лабораторных животных можно ознакомиться здесь [1], а с современными представлениями о генетическом мониторинге – в интернете, на сайтах крупных питомников [2].

В определенном смысле, состояние здоровья животных питомника является самым важным вопросом – ведь животные могут быть источником потенциального заражения человека. Кроме того, поступление в действующий виварий новой партии животных с неконтролируемым статусом здоровья может привести к вспышке инфекционного заболевания и гибели всего поголовья. Причем с каждой новой партией риск возрастает. Поскольку инфекции лабораторных животных распространяются очень быстро, часто бессимптомны, а заражение составляет почти 100%, это опасно. Важно разработать профилактические меры, предотвращающие заражение вивария. И одной из

самых основных мер является выбор поставщика животных и его обследование [3].

Итак, прежде, чем отправляться с инспекцией в питомник, необходимо убедиться, что предлагаемые животные подходят для целей и задач покупателя. Следующая информация поможет покупателю принять решение о пригодности:

Историческая справка – как давно работает питомник, каким образом поддерживает предлагаемые линии/стоки, кто является поставщиком племенных ядер.

Имеет ли питомник программу фенотипирования животных? Если нет, какую схему разведения он использует и как часто заменяет племенное ядро? Ведется ли документация разведения?

Какой тип содержания животных используется в питомнике? (Открытое, барьерное, индивидуально вентилируемые клетки, другое).

Каким образом осуществляется контроль состояния здоровья животных? Есть ли в штате питомника ветеринарный врач?

Может ли питомник представить документы, удостоверяющие заявленный статус здоровья животных?

Разрешает ли руководство питомника проводить инспекции покупателями животных?

Дальнейшие вопросы, например стоимость животных, определяются потребностями покупателя.

Рассмотрим каждый пункт опросника подробно.

Питомник, известный с незапамятных времен – лучше, чем организованный недавно, или нет? В зависимости от того, как питомник работает. Фундаментальные понятия о разведении инбредных линий и аутбредных стоков не меняются. Хорошо, если в питомнике есть опытные сотрудники. Однако, изменяется подход к генетическому мониторингу, а людям с многолетним стажем работы иногда труд-

но это принять. Наоборот, молодые сотрудники могут быть в курсе последних веяний, но не знать элементарных правил. Более важный вопрос здесь – поставщики племенных ядер. Это могут быть либо крупные центры, например, Taconic, Jackson, Harlan, либо собственный криобанк. В современных питомниках редко используют живых животных для замены племенного ядра. Чаще всего в криобанке хранятся замороженные эмбрионы линий и стокков, их транспортируют в питомники, размораживают и трансплантируют местным самкам. Животные, которые длительно разводятся «в себе» постепенно приобретают отличия от исходной линии/стока. В практическом смысле это значит, например, что покупателю придется самому устанавливать пределы значений физиологических показателей.

«Срок службы» племенного ядра (обычно 5 лет) и тщательная документация разведения говорят о добросовестности питомника. Журнал разведения является конфиденциальным документом, и его не показывают покупателю, но наличие такого журнала обязательно. Если в питомнике не ведется фенотипирование, можно запросить соотношение вес/возраст для животных, которых хочет приобрести покупатель. Полученные данные можно сравнить с данными для тех же линий, предлагаемых крупными центрами по разведению лабораторных животных.

Тип содержания животных обсуждался в первой части статьи. Открытое содержание не может соответствовать целям питомника (разведение здоровых животных), должен быть барьер. Строгость барьера зависит от статуса здоровья. Но даже для содержания животных с неконтролируемым статусом, минимальный барьер – это:

Ограниченный доступ в помещения для содержания животных (ключ, список допущенных лиц и т.д.).

Спецодежда для сотрудников (и помещение для переодевания, отдельное от комнат содержания животных): халат, шапочка, перчатки, обувь. Назначение спецодежды – защищать человека от воздействия аллергенов животного происхождения, а животных – от патогенов, переносчиками которых могут быть люди. Качество спецодежды и правильное ее использование очень важны. Во время инспекции можно сразу же увидеть, знают ли сотрудники, для чего им нужна спецодежда, или нет.

Контроль условий в комнатах содержания: температура, влажность, освещение, вентиляция, уровень шума. Условия должны соответствовать виду животных. Рекомендуемые значения показателей можно найти здесь [4].

Процедуры уборки помещений, мойки и дезинфекции клеток и инвентаря, подготовки корма и воды, а также карантин. Все перечисленное может быть потенциальным источником инфекции для животных питомника.

Процедуры утилизации отходов.

Чем «строже» барьер, тем сложнее организован каждый процесс. Соответственно, тем более высокий уровень защиты здоровья животных он поддерживает. Естественно, процедуры содержания должны соответствовать виду животного. Наибольшую защиту обеспечивает автоклавирование или иная стерилизация всех материалов, поступающих внутрь барьера, наряду с влажным шлюзом для персонала. Высокой степенью защиты обладают также индивидуально вентилируемые клетки (ИВК). Это удобный, но довольно дорогостоящий способ содержания животных. Следует помнить, что все процедуры, связанные с использованием животных при таком типе содержания, должны быть тщательно прописаны. Например, необходимо организовать мойку и замену клеток так, чтобы фильтры оставались сухими. Увлажненный фильтр

теряет свои свойства. Кроме того, рано или поздно любой барьер становится проницаемым. Чем более подробно составлены СОП по организации работ, тем легче будет справиться с инфекцией.

Четвертый вопрос – организация обследования животных и профилактика здоровья. Осмотр животных в любых условиях содержания должен проводиться ежедневно. Не всегда это обязанность ветеринарного врача, часто первичный осмотр возлагается на грамотных лаборантов (это значит, что в питомнике существует программа периодического обучения сотрудников). Далее – программа профилактики здоровья. Обычно лабораторным животным не проводят вакцинацию. Если профилактические прививки сделаны, питомник должен представить документ, где указан вид вакцины (а также серия, номер, и производитель), дата вакцинации и состояние животного во время обязательного осмотра после вакцинации. Такой же документ должен подтверждать иную профилактическую обработку животных (например, против эктопаразитов).

Прекрасно, если в Питомнике есть программа мониторинга здоровья животных. Она состоит из плана обследования поголовья и планов диагностических и профилактических мероприятий.

Далее – программа диагностических исследований. Покупатель может определить для себя, какой перечень диагностических исследований, представленный питомником, позволит ему сделать вывод о пригодности животных для его целей. Кроме того, немаловажный вопрос – диагностическая лаборатория. Готов ли покупатель доверять собственной лаборатории питомника, или он принимает результаты только специализированных лабораторий? (Каких именно? Российских или зарубежных? Медицинских? Ветеринарных?) Это пятый вопрос, который касается документации. Ниже приводится при-

мерный список диагностических исследований (в порядке усложнения условий содержания), из которого покупатель может выбрать необходимые пункты.

- Эктопаразиты (блохи, клещи, власоеды и пр.). Метод микроскопии, ПЦР.
- Эндопаразиты (гельминты, простейшие, в том числе опасные для человека). Диагностическое вскрытие, исследования кала методом флотации, ПЦР.
- Патогенные грибки (например, микроспория и трихофития). Люминесцентная диагностика, микроскопия.
- Возбудители инфекционных заболеваний, опасных для человека (в зависимости от вида лабораторного животного). Бактериология, серология, ПЦР.
- Возбудители инфекционных заболеваний, опасных для животных (возбудители эпизоотий). Бактериология, серология, ПЦР.
- Возбудители инфекционных заболеваний, которые могут исказить результаты исследований.
- Возбудители всех инфекционных заболеваний, характерных для данного вида.

Здесь следует вспомнить, что диагностические исследования, особенно у грызунов, являются ретроспективными (3). Они показывают ситуацию, которая наблюдалась в питомнике в момент отбора проб для диагностических исследований. Приведем такой пример. В питомнике отобрали пробы крови для определения патогенов, в соответствии с утвержденным списком. Лаборатория прислала результат через четыре недели. Могло ли за это время произойти заражение питомника? Да, если была нарушена технология, иными словами, нарушена целостность микробиологического барьера. Это может произойти, например, при сбое в работе автоклава, то есть в результате чрезвычайной ситуации. Если же технология соблюдалась, то питомник может выдать документ, где сообщается о соблюдении технологии в течение определенного вре-

мени. Если результат исследований, полученный из лаборатории, отрицательный, и не было нарушений технологии за все время, пока ждали этот результат – животные в данный момент времени сохраняют тот же статус здоровья, что и четыре недели назад. Поэтому всегда необходимо внимательно оценить необходимость карантинирования животных, поступающих в собственный виварий.

Следующий вопрос – разрешает ли руководство питомника инспекции покупателей. Почему нет? Если в питомнике строгий микробиологический барьер, всегда можно найти решения из области высоких технологий. Не обязательно пускать посетителей внутрь барьера. Как театр начинается с вешалки, так и питомник начинается с административных помещений. По организации работ обслуживающих подразделений уже можно сделать вывод о качестве животных. К сожалению, в нашей стране не всегда можно верить документам, остается верить собственным глазам. Если речь идет о закупке крупных партий животных, или заявленный питомником статус здоровья принципиально важен для покупателя, вопрос о посещении питомника должен обсуждаться.

В заключение хотелось бы поговорить о выборочном осмотре животных. Чтобы установить состояние здоровья животных, отбирают определенную партию (в зависимости от вида животных), и проводят полный клинический осмотр [5]. Ветеринарные врачи, в силу своего образования, знают, как проводить подробный клинический осмотр. Если же, по ряду причин, обязанности ветеринарного врача в виварии возлагаются на человека с биологическим образованием, то ему следует опираться на примерную схему осмотра. Перечень пунктов может меняться, в зависимости от вида животного.

- Наблюдение за неспровоцированным поведением животного (поведением в

привычных для него условиях, например, в клетке).

- Наличие нормальных/патологических выделений в клетке.
- Внешний вид.
- Кожа и шерсть.
- Видимые слизистые оболочки
- Скелетно-мышечная система (включая оценку упитанности).
- Дыхание (внешние признаки, частота дыхания и аускультация)
- Сердечно-сосудистая система (аускультация, оценка пульса, и частота сердечных сокращений)
- Нормальные рефлексы (зрачковый, роговичный, коленный и другие)
- Пищеварительная система (осмотр ротовой полости, ануса, пальпация брюшной стенки)
- Мочевыделительная система (осмотр наружных органов и пальпация)
- Репродуктивная система (осмотр наружных органов и пальпация)
- Периферические лимфатические узлы

Проблема качества лабораторных животных требует безотлагательного решения. В нашей стране, где существует единственный питомник СПФ-животных (список исключенных патогенов которого насчитывает десятки наименований), многие исследователи вынуждены покупать не просто конвенциональных животных, а «так называемых конвенциональных». В этом случае необходимо диагностировать их состояние здоровья, а часто и лечить животных, как полученных из питомников, так и собственного разведения. Поэтому, при планировании эксперимента необходимо заранее определить, какое качество животных требуется для выполнения поставленной задачи, и очень внимательно подойти к выбору поставщика животных, даже если животные поступают из собственного питомника исследовательского учреждения.

Purchase of laboratory animals. How can you choose a breeding center in Rus-

sia. Information 2. The requirements to suppliers.

E. Fateeva.

ABSTRACT

In Russia there is narrow option of laboratory animals breeding facilities, and this problem often forces researchers to breed laboratory animals on their own facility. However, research to date, require high quality animals. In order to evaluate the reliability of the vendor, you can use simple questionnaires. One part of the questionnaire concerns genetics of animals in the breeding facility (phenotyping, the ratio weight/age), the other – laboratory animal's health (eg, is there in the breeding facility animals health surveillance program, and is there the attending veterinarian). In Russian conditions, you should not always trust documents, so it is important to discuss with vendors opportunity to carry out an inspection by clients and found ways to answer the questions of inter-

est to the buyer of laboratory animals.

Key words: laboratory animals breeding facility, laboratory animals, vendor surveillance, clinical examination, housing, health monitoring program.

ЛИТЕРАТУРА

1. Малашенко А.М. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований. -Москва «Наука». -1983.
2. Руководство по содержанию и использованию животных. -NRC. -2010
3. Background strain Characterization <http://www.criver.com/>
4. Reuter J.D., Suckow M.A. Laboratory Animal Medicine and Management // Quality Assurance/Surveillance Monitoring Programs for Rodent Colonies. International Veterinary Information Service. -Ithaca NY. -2003.
5. <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AnimalCloning>.

УДК 615.244

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО МЕТОДА ИНДУКЦИИ ОСТРОЙ ПАТОЛОГИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС

Селезнева А.И. – к.м.н., научный сотрудник, Столащук Н.В. - младший научный сотрудник, Макарова М.Н. - д.м.н., профессор, зам. ген. директора по науке Санкт-Петербургский институт фармации



РЕФЕРАТ

Создание адекватной экспериментальной модели острой патологии печени крайне важно как с биоэтической точки зрения, так и с позиций доказательной медицины. Использование аллилового спирта для индукции острой экспериментальной патологии печени у крыс широко известно, однако характеристика поражений печени и смертность животных напрямую зависят от дозы аллилового спирта. С целью установления оптимальной методологии моделирования экспериментальной острой печеночной недостаточности было проведено данное пилотное исследование. В результате исследования была получена эффективная модель острой печеночной недостаточности, характеризующаяся печеночно-клеточным и холестатическим типом поражения, не сопровождающаяся гибелью животных. Данный способ моделирования – последовательное внутрижелудочное введение аллилового спирта в дозе 0,05 мл/кг аутобредным крысам-самцам массой тела 250-300 г в течение двух дней. Использование предложенной модели целесообразно с биоэтической точки зрения, а также позволяет получить достоверные результаты доклинических ис-

следований потенциальных гепатопротекторных свойств, которые с успехом могут быть экстраполированы в клинику.

Ключевые слова: печеночная недостаточность, острая патология печени, гепатотоксины, интоксикация, крысы, гепатопротекторы, биоэтика.

ВВЕДЕНИЕ

Исследования фармакологической эффективности потенциальных гепатопротекторных средств проводятся с помощью широкого спектра моделей повреждения печени. От того, насколько хорошо воспроизводится модель патологии печени, зависит не только достоверность результатов, но и количество животных, используемое в эксперименте. Вопрос биоэтических норм уже обсуждался нами в предыдущих статьях, где и был сделан вывод о неудовлетворительной регламентации этических норм обращения с лабораторными животными в России [1]. Следует отметить, что тщательная разработка дизайна исследования играет ключевую роль в обеспечении качества исследования, и, соответственно, позволяет использовать минимально возможное количество животных.

Одним из агентов для моделирования острой патологии печени является аллиловый спирт [2]. Аллиловый спирт окисляется цитозольной и митохондриальной алкогольдегидрогеназой в электрофильный метаболит акролеин, повреждающий перипортальные гепатоциты вследствие дефицита в них восстановленного глутатиона. Метод моделирования острой патологии печени с помощью внутрижелудочного введения аллилового спирта широко известен [3,4,5]. Согласно Руководству по доклиническим исследованиям аллиловый спирт вводят крысам в желудок в дозах 0,05-0,1 мл/кг или внутрибрюшинно в дозе 0,05 мл/кг 1-2 дня. Однако для получения адекватной патологии, характеризующейся изменением биометрических, биохимических и патоморфологических маркеров, эквивалентным такому в клинике, необходима отработ-

ка дозы индуктора, количества и кратности его введения. При проведении моделирования острой патологии печени с помощью внутрибрюшинного и внутрижелудочного введения аллилового спирта в дозе 0,1 мл/кг наблюдали массовую гибель (70–90%) экспериментальных животных в день введения и на следующий день.

В связи с этим было проведено пилотное исследование моделирования острой патологии печени у крыс с использованием четырех доз аллилового спирта ниже 0,1 мл/кг.

Целью исследования был выбор оптимальной дозы гепатотоксина (аллилового спирта) для моделирования острой патологии печени, максимально соответствующей острой печеночной недостаточности в клинике по биометрическим, биохимическим и гистологическим параметрам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для моделирования острой патологии печени в качестве тест-системы были использованы аутбредные крысы-самцы массой тела 250-300г (возраст 9-13 недель), так как этот вид животных является предпочтительным с точки зрения удобства проведения диагностических манипуляций, этических принципов и достоверности результатов исследования. Для исследования рекомендован отбор половозрелых крыс в возрасте 9-13 недель массой тела 250-300 г, так как в этом возрасте наименее вероятно возрастное колебание биохимических параметров [6]. При достижении половозрелости чувствительность к токсическим агентам у крыс выражена одинаково и моделирование патологии с большей вероятностью происходит равномерно.

Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г по охране животных, используемых в научных целях.

Методы исследования

Для индукции острой патологии печени был использован аллиловый спирт в четырех дозах: 0,075 мл/кг, 0,05 мл/кг, 0,025 мл/кг и 0,01 мл/кг. Введение индуктора осуществляли внутривенно с помощью атравматичного зонда в 1-й и 2-й день исследования.

На 3-й и 10-й день исследования проводили контроль развития патологии. Основными параметрами, позволяющими оценить выраженность повреждения, явились смертность, массовые коэффициенты печени, биохимические маркеры и гистологическое строение печени.

В качестве биохимических маркеров острой патологии печени на 3-й и 10-й день эксперимента были исследованы в крови: активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), концентрация мочевины, билирубина, общего белка (альбуминов и глобулинов), холестерина. Определение этих маркеров позволило установить тяжесть повреждения печени и наличие одного или нескольких лабораторных синдромов, каждый из которых в известной степени соответствует определенным морфологическим и функциональным изменениям в органе.

Ткань печени для гистологического исследования фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов, после чего по общепринятой методике заливали в парафин. Затем изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводилось при помощи светооптического микроско-

па Carl Zeiss (Германия) при увеличении 50, 100, 200 и 400.

Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 6.0. (StatSoft, Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате исследования было установлено, что наиболее эффективное и стойкое повреждение печени, не сопровождающееся высокой смертностью, у животных развивалось при внутривенном введении аллилового спирта в дозе 0,05 мл/кг. Об этом свидетельствовало выраженное влияние введения индуктора в этой дозе на биохимические маркеры острой патологии печени как через 24 часа после 2-го введения аллилового спирта, так и через 7 дней после 2-го введения (табл. 1,2), а также данные о смертности, массовых коэффициентах печени и гистологических изменениях.

Как видно из таблицы 1, через 24 часа после последней индукции патологии изменения значений биохимических маркеров наблюдались преимущественно в группах, получавших аллиловый спирт в наиболее высоких дозах – 0,05 и 0,075 мл/кг. Так, в этих группах отмечалось увеличение активности АСТ в 2,2 и 1,5 раза и АЛТ - в 3,5 и 2,3 раза по сравнению с активностью этих ферментов в интактной группе. Следует отметить, что в группе, получавшей аллиловый спирт в дозе 0,05 мл/кг, наблюдали более выраженное увеличение активности трансаминаз, чем в группе, получившей индуктор в дозе 0,075 мл/кг. Также в обеих группах наблюдали увеличение активности ЩФ, ЛДГ и повышение концентрации билирубина в крови экспериментальных животных.

Уровни активности АСТ, АЛТ, ЛДГ и ЩФ являются основными маркерами острой печеночной недостаточности в клинике. Выявленное повышение активности этих ферментов свидетельствует о развитии печеночно-клеточной недоста-

Таблица 1
Исследование биохимических маркеров через 24 часа после 2-го введения индуктора

Биохимический маркер	Интактная группа	Моделирование острой патологии печени введением аллилового спирта в дозе			
		0,01 мг/кг	0,025 мг/кг	0,05 мг/кг	0,075 мг/кг
Мочевина, ммоль/л	41±2	37±3	38±2	39±2	48±8
АСТ, Ед/л	99±1	88±3	86±8	221±30*	146±43
АЛТ, Ед/л	55±2	39±2	37±3	191±41*	127±29*
ЩФ, Ед/л	187±6	173±15	253±28	289±42	377±74*
Билирубин, ммоль/л	3,0±0,2	3,6±0,4	3±0,2	3,9±0,2	5±1*
ХС, ммоль/л	2,0±0,2	1,9±0,1	2±0,2	2,5±0,4	2,3±0,2
Общий белок, г/л	63±2	65±1	65±2	66±1	62±5
Альбумины, г/л	31±1	32,1±0,4	31±1	29±1	25±2
Глобулины, г/л	33±2	33±1	34±1	37±1	37±3
ЛДГ, Ед/л	193±3	208±13	180±29	506±155	720±293*

Примечание: * - $p < 0,05$ – достоверное отличие от интактной группы (тест Тьюки)

Таблица 2
Исследование биохимических маркеров через 7 дней после 2-го введения индуктора

Биохимический маркер	Интактная группа	Моделирование острой патологии печени введением аллилового спирта в дозе			
		0,01 мг/кг	0,025 мг/кг	0,05 мг/кг	0,075 мг/кг
Мочевина, ммоль/л	38±1	45±2	43±2	42±2	43±3
АСТ, Ед/л	83±3	108±6	103±11	106±8	102±6
АЛТ, Ед/л	57±2	54±5	48±3	44±3	43±4
ЩФ, Ед/л	160±12	232±11*	219±25*	192±18*	232±28
Билирубин, ммоль/л	2,9±0,4	4,9±0,4*	5±1*	5±1*	3,8±0,2
ХС, ммоль/л	2,1±0,1	2,0±0,1	2,0±0,1	2,1±0,2	2,1±0,2
Общий белок, г/л	68±1	72±2	68±2	73±1	70±1
Альбумины, г/л	32±1	34±1	34±1	34±1	30±1
Глобулины, г/л	36±2	38±1	33±1	39±1	40±1
ЛДГ, Ед/л	198±8	245±12	314±27*	524±19*	836±47*

Примечание: * - $p < 0,05$ – достоверное отличие от интактной группы (тест Тьюки)

точности и синдрома цитолиза. Синдром цитолиза развивается при клеточном повреждении различной этиологии в результате некроза гепатоцитов, их дистрофии, повышения проницаемости мембран.

Как видно из таблиц 1 и 2, выраженное увеличение активности АСТ и АЛТ отмечалось у животных с моделируемой патологией преимущественно через 24 часа. Через 7 дней после острой интоксикации активность этих ферментов умень-

шалась. Напротив, активность ЛДГ и ЩФ были повышены у животных, получивших аллиловый спирт в дозах 0,05 и 0,075 мг/кг, и через 24 часа, и через 7 дней после индукции, что свидетельствует о развитии устойчивого повреждения структуры и функций печени, аналогичного таковому при острой патологии печени у человека. Кроме того, к 7 дню исследования у животных, получивших аллиловый спирт во всех дозах, кроме 0,075 мг/кг,

Таблица 3

Динамика массы тела экспериментальных животных

День исследования	Интактная группа	Моделирование острой патологии печени введением аллилового спирта в дозе			
		0,01 мг/кг	0,025 мг/кг	0,05 мг/кг	0,075 мг/кг
0-й	260±7	260±9	257±8	261±7	248±9
3-й	260±8	262±9	257±8	261±7	257±10
11-й	259±5	267±8	252±9	264±9	266±5

наблюдали выраженное статистически значимое повышение концентрации билирубина в крови. Этот симптом в сочетании с увеличением активности ЩФ свидетельствует о развитии холестатического поражения, характеризующегося прогрессирующими деструктивными изменениями внутрипеченочных желчных протоков, которые также приводят к застою желчи и развитию печеночной недостаточности.

Клинически острая патология печени в большинстве случаев сопровождается печеночной недостаточностью. Печеночная недостаточность - симптомокомплекс, характеризующийся нарушениями функций печени разной степени выраженности (от легкого до тяжелого - печеночной комы) вследствие острого или хронического повреждения ее паренхимы (гепатоцитов). Как и в случае моделирования аллилового поражения печени крыс, в клинике в результате кратковременного воздействия высоких доз гепатотоксина как правило наблюдается острая обратимая печеночная недостаточность.

В результате моделирования острой патологии печени отсутствовали изменения концентрации мочевины, общего белка, альбуминов и глобулинов, а также холестерина, что позволяет осуществить оптимальный подбор маркеров для исследования в рамках моделируемой патологии, исключив параметры, изменения которых отсутствовали при данном способе моделирования.

В качестве дополнительных критериев, позволяющих сделать правильный выбор дозы индуктора острой печеноч-

ной недостаточности, были оценены динамика массы тела, смертность и значения массовых коэффициентов печени.

Согласно анализу показателей массы тела животных (табл. 3), было установлено, что введение индуктора не повлияло на динамику этого показателя. Как правило, в клинике также отсутствуют существенные колебания этого параметра.

В результате моделирования патологии массивная гибель животных наблюдалась только в группе, получавшей аллиловый спирт в максимальной дозе. Смертность животных в этой группе составила 40 %. Смерть наступала в течение 24 – 48 часов после второго введения аллилового спирта. Картина интоксикации характеризовалась болью и стрессом одного из животных, которого в процессе интоксикации эвтаназировали по этическим соображениям. Полученные данные о смертности животных и картине интоксикации свидетельствуют о целесообразности применения аллилового спирта в дозе ниже 0,075 мг/кг, как с позиций гуманности, так и с точки зрения достоверности полученных результатов. В группах, получивших аллиловый спирт в дозах 0,01 – 0,05 мг/кг, гибель животных отсутствовала.

При анализе массовых коэффициентов печени (рис. 1) не выявлено статистически значимых изменений у животных, получавших аллиловый спирт в исследуемых дозах (табл. 4).

Для окончательной верификации дозы индуктора, необходимой для получения адекватной модели острой печеночной недостаточности был проведен гистоло-

Таблица 3

Данные массовых коэффициентов печени на 11-й день исследования

Группа	Массовые коэффициенты печени
Интактная	$4,1 \pm 0,20$
Аллиловый спирт в дозе 0,01 мл/кг	$4,1 \pm 0,15$
Аллиловый спирт в дозе 0,025 мл/кг	$4,1 \pm 0,30$
Аллиловый спирт в дозе 0,05 мл/кг	$4,3 \pm 0,24$
Аллиловый спирт в дозе 0,075 мл/кг	$4,3 \pm 0,09$

гический анализ печени всех групп животных, кроме интактной.

Гистологическому исследованию была подвергнута печень самцов крыс 4-х групп с различной степенью патологии. При анализе гистологических препаратов, полученных от выживших животных, наблюдали развитие периваскулярной и перидуктальной воспалительной инфильтрации с признаками разрастания фиброзной ткани, очаговый некроз гепатоцитов с формированием микрогранулем, неравномерное накопление гликогена в гепатоцитах и отложение продуктов распада гемоглобина в ткани печени.

Печень животных имела преимущественно упорядоченное балочное строение, была умеренно полнокровна. Синусоиды печени были умеренно расширены. Портальные тракты имели типичное гистологическое строение, в отдельных случаях были расширены, в строме трактов обнаруживались печеночные триады, пред-

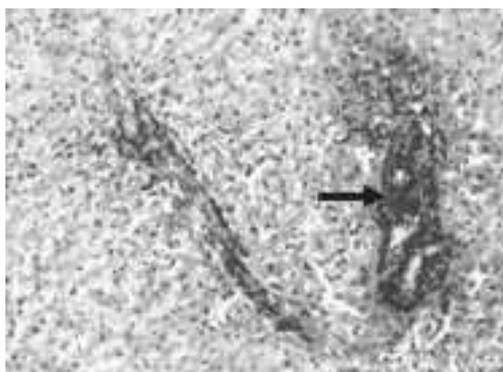


Рис.1. Срез печени крысы группы, получившей аллиловый спирт в дозе 0,01 мл/кг. Перипортальная лимфоцитарная инфильтрация (стрелка). Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 100.

ставленные междольковой артерией, веной и желчным протоком. Отмечалась смешанноклеточная преимущественно лимфоплазмоцитарная инфильтрация перипортальных пространств, с признаками разрастания фиброзной ткани разной степени выраженности. При этом повреждения центроlobулярных областей встречались значительно реже. В печени выявлялись очаги некроза гепатоцитов с образованием эозинофильных телец Каунсильмена. Некроз гепатоцитов также сопровождался мононуклеарной и лимфоплазмоцитарной инфильтрацией, с формированием структур по типу микрогранулем.

Обнаруживались функциональные нарушения микроструктуры органа, проявляющиеся в неравномерном накопле-

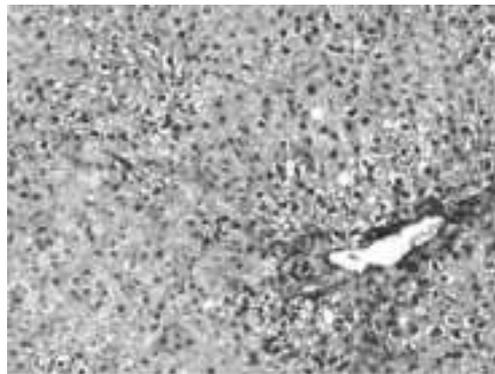


Рис.2. Срез печени крысы группы, получившей аллиловый спирт в дозе 0,01 мл/кг. Неравномерное накопление гликогена в гепатоцитах. Цитоплазма клеток, содержащих гликоген, выглядит более светлой, содержит оптические пустоты, возникающие из-за вымывания гликогена при гистологической проводке. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 100.

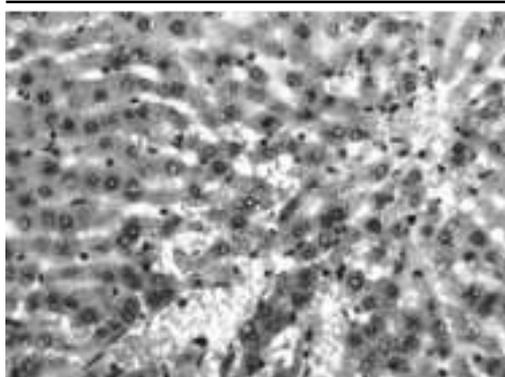


Рис.3. Срез печени крысы группы, получившей аллиловый спирт в дозе 0,025 мл/кг. Расширение синусоидных капилляров и перисинусоидальных пространств. Умеренная атрофия гепатоцитов. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 200.

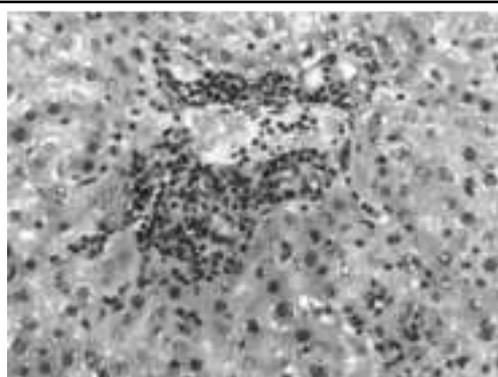


Рис.4. Срез печени крысы группы, получившей аллиловый спирт в дозе 0,05 мл/кг. Перипортальная лимфоцитарная инфильтрация. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 200.

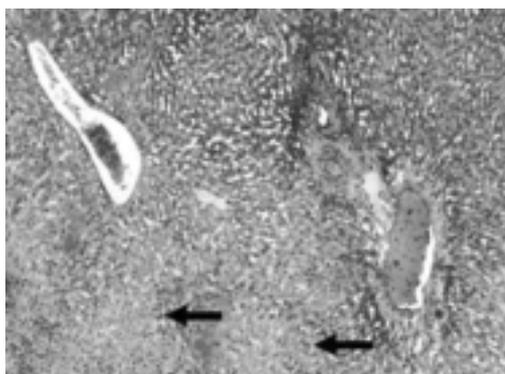


Рис.5. Срез печени крысы группы, получившей аллиловый спирт в дозе 0,075 мл/кг. Расширение синусоид и формирование центролобулярных некрозов (стрелка). Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 50.

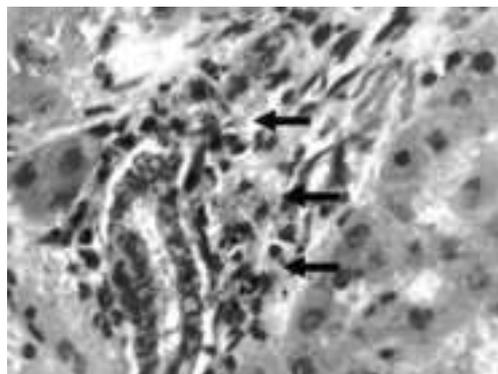


Рис.6. Срез печени крысы группы, получившей аллиловый спирт в дозе 0,075 мл/кг. Скопление сидерофагов в перидуктальных и периваскулярных пространствах. Окр. гематоксилин-эозин. Ув. 400.

нии гликогена в гепатоцитах, умеренной атрофии гепатоцитов и расширении перисинусоидальных пространств Диссе. В некоторых случаях, преимущественно в группе, получавшей аллиловый спирт в дозе 0,075 мл/кг, отмечалось накопление гемосидерина в ретикулоэндотелиоцитах синусоидных капилляров, указывающее на повышенный гемолиз эритроцитов в печени или наличие экстравакулярированных крововыводящих определенной давности. В пользу последнего может говорить также

скопление сидерофагов в перипортальных пространствах.

Виды поражений печени в исследуемых группах представлены на рис. 2 – 7.

Как видно из рисунков 6 и 7, у животных, получивших аллиловый спирт в дозе 0,075 мл/кг, наблюдали выраженные некротические изменения, а развитие фиброзной ткани на месте поражения и накопление сидерофагов в перидуктальных и периваскулярных пространствах. Подобные изменения характеризуют более тяжелое повреждение печени, нежели острая обратимая печеночная недостаточ-

Таблица 4

Наличие патологии печени и степень выраженности у животных разных групп

№ п/п	Обнаруженные патологические изменения	Наличие (+) или отсутствие (-) признака в группе и степень выраженности патологии (минимальная, умеренная, значительная, максимальная)			
		2 гр.	3 гр.	4 гр.	5 гр.
1	Нарушение балочного строения	+	++	+	+
2	Неравномерное накопление гликогена в гепатоцитах	++	-	+	-
3	Атрофия гепатоцитов	-	+	++	++
4	Расширение пространств Диссе	-	++	+	++
5	Расширение портальных трактов	+	++	++	++
6	Периваскулярная и перидуктальная инфильтрация	++	++	+++	+++
7	Периваскулярный и перидуктальный фиброз	-	+	+	++
8	Центролобулярный некроз гепатоцитов	-	-	-	+
9	Очаговый некроз гепатоцитов с формированием микрогрануллем	+	++	++	++
10	Внутрисосудистый лейкоцитоз	-	-	++	+
Итого (сумма баллов):		7	12	15	16

ность.

Изменения были одинаково выражены у животных в пределах группы. При этом наблюдались выраженные межгрупповые отличия (табл.4).

Как видно из таблицы 4, степень выраженности гистологических изменений прямо пропорциональна дозе индуктора, применяемого для моделирования острого поражения печени.

Острую обратимую печеночную недостаточность гистологически характеризуют такие признаки как нарушение балочного строения, атрофия гепатоцитов, инфильтрация, неравномерное накопление гликогена. Такие изменения наблюдали в срезах ткани печени, полученных от животных, которым вводили аллиловый спирт в дозах 0,01 – 0,05 мл/кг.

Гистологическое обнаружение выраженного центролобулярного некроза, фибротических изменений и скопления сидерофагов свидетельствует о более тяжелом, возможно необратимом поражении печени. Подобные изменения наблюдались при применении аллилового спир-

та в дозе 0,075 мл/кг.

Таким образом, в результате гистологических исследований ткани печени также было установлено, что моделирование острой обратимой печеночной недостаточности может быть достигнуто применением аллилового спирта в дозе 0,05 мл/кг.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования установлено, что применение аллилового спирта в дозе 0,05 мл/кг является оптимальным для моделирования острой патологии печени, максимально соответствующей острой печеночной недостаточности в клинике по биометрическим, биохимическим и гистологическим параметрам.

Применение аллилового спирта в дозе 0,075 мл/кг вызывало высокую смертность экспериментальных животных, нестабильные изменения биохимических маркеров, а также наличие гистологических признаков тяжелого возможно необратимого повреждения печени. Таким образом, применение аллилового спирта в дозе 0,075 мл/кг исключено в качестве

метода моделирования острой патологии печени у крыс с биоэтической точки зрения, а также с позиций возможного получения недостоверных результатов исследования эффективности потенциальных гепатопротекторов при применении индуктора в этой дозе.

При применении для индукции аллилового спирта в дозах 0,01 и 0,025 мл/кг в ряде случаев отсутствовали выраженные изменения биохимических маркеров как через 24 часа, так и через 7 суток после последнего введения. Также при использовании индуктора в этих дозах гистологические изменения представляли собой слабой степени выраженности нарушение структуры и функции гепатоцитов. В связи с вышеописанным, применение аллилового спирта в дозах 0,01 и 0,025 мл/кг недостаточно для моделирования острого повреждения печени, эквивалентного острой печеночной недостаточности в клинике.

Наиболее целесообразным для индукции острой экспериментальной патологии печени у крыс является внутрижелудочное введение аллилового спирта в дозе 0,05 мл/кг в течение двух дней. Об эффективности данной модели свидетельствует выраженное стойкое увеличение активности биохимических маркеров острого поражения печени через 24 часа после последнего введения (увеличение активности АСТ, АЛТ, ЩФ, ЛДГ) и через 7 дней после последнего введения (увеличение активности ЩФ, ЛДГ и концентрации билирубина). Также подтверждением целесообразности данной модели является наличие гистологических повреждений (нарушение балочного строения, атрофия гепатоцитов, инфильтрация, неравномерное накопление гликогена), характерных для острой печеночной недостаточности. На фоне полученной экспериментальной патологии смертность животных отсутствовала.

Таким образом, в результате исследо-

вания была получена эффективная модель острой печеночной недостаточности, характеризующаяся печеночно-клеточным и холестатическим типом поражения, не сопровождающаяся гибелью животных. Данный способ моделирования – последовательное внутрижелудочное введение аллилового спирта в дозе 0,05 мл/кг аутобредным крысам-самцам массой тела 250-300 г в течение двух дней. Использование предложенной модели целесообразно с биоэтической точки зрения, а также позволяет получить достоверные результаты доклинических исследований потенциальных гепатопротекторных свойств, которые с успехом могут быть экстраполированы в клинику.

Selecting optimal method by induction of acute experimental liver pathology in rats.

A. Selezneva, N. Stolashuk, M. Makarova.

ABSTRACT

Creating an adequate experimental model of acute liver disease is extremely important as the bioethical standpoint and from the standpoint of evidence based medicine. Using of an allyl alcohol to induce acute liver disease experimental rats are widely known, but characteristics of liver damage and mortality is directly dependent on the dose of allyl alcohol. In order to establish the optimal methodology for modeling of experimental acute hepatic failure was conducted this pilot study. The study was obtained effective model of acute liver failure, characterized by hepatocellular and cholestatic type of lesion is not accompanied by the death of the animals. The method of modeling - consistent intragastric administration of allyl alcohol in a dose of 0.05 ml / kg to outbred male rats weighing 250-300 g for two days. Using the proposed model it is expedient to bioethical point of view, and allows to obtain reliable results of preclinical studies of potential hepatoprotective properties that can be successfully extrapolated to the clinic.

ЛИТЕРАТУРА

1. Селезнева А.И., Макарова М.Н. Этические принципы обращения с животными в России // Международный вестник ветеринарии. -2014. -№4. -С. 69-77.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – М.: Гриф и К. -2012. – 944с.
3. Rauen H.M., Schriewer H. The antihepatotoxic effect of silymarin on liver damage in rats induced by carbon tetrachloride, d-galactosamine and allyl alcohol // Arzneimittelforschung. -1971. -Vol.21(8). -P. 1194-1201.
4. Sailaja R., Setty O.H. Protective effect of Phyllanthus fraternus against allyl alcohol-induced oxidative stress in liver mitochondria // J. Ethnopharmacol. -2006. -Vol.21; 105(1-2). -P. 201-2099.
5. Anand S.S., Mumtaz M.M., Mehendale H.M. Dose-dependent liver regeneration in chloroform, trichloroethylene and allyl alcohol ternary mixture hepatotoxicity in rats // Arch. Toxicol. -2005. -Vol.79(11). -P. 671-682.
6. СПРАВОЧНИК. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Под ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. Коллектив авторов: Абрашова Т.В., Гущин Я.А., Ковалева М.А., Рыбакова А.В., Селезнева А.И., Соколова А.П., Ходько С.В. – СПб.: Изд-во «ЛЕМА». – 2013. – С.17-33.

УДК 57.026:615.213:616.895.4

**ГАБАПЕНТИН УСТРАНЯЕТ ПРОЯВЛЕНИЯ
ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОГО ПОВЕДЕНИЯ,
ИНДУЦИРОВАННЫЕ СНИЖЕНИЕМ УРОВНЯ
ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ НА ФОНЕ
ОВАРИЭКТОМИИ У КРЫС**

Шекунова Е.В.^{1,2}-к.б.н., старший научный сотрудник, Белозерцева И.В.¹ – к.б.н., зав. лабораторией экспериментальных доклинических исследований с виварием отдела психофармакологии, ¹ Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана, СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, ² Санкт-Петербургский Институт Фармации



РЕФЕРАТ

Половые гормоны оказывают модулирующее влияние на развитие аффективных состояний у женщин. Снижение уровня половых гормонов во время менопаузы часто является причиной возникновения психических и физиологических нарушений. Одной из экспериментальных моделей, воспроизводящих гормональные отклонения периода менопаузы, является овариэктомия самок грызунов. Результаты исследований показывают, что овариэктомия ведет к увеличению проявлений депрессивноподобного и тревожного поведения, и как следствие, может вызывать нарушения социального поведения.

Габапентин – препарат, изначально разработанный для лечения эпилепсии, показал свою эффективность в клинике тревожных расстройств. Было высказано предположение, что габапентин может быть использован и в терапии аффективных расстройств, вызванных гормональным дефицитом. Целью данного исследования была оценка изме-

нений социального поведения самок крыс после овариэктомии и изучение эффектов габапентина на вызванные снижением уровня половых гормонов нарушения поведения, оцениваемые в тесте парного взаимодействия. Учитывая влияние социального окружения на поведение индивидуумов, эффекты овариэктомии и габапентина оценивали, как на социально депривированных самках, содержащихся в индивидуальных клетках, так и на самках, живущих в группах сородичей.

После овариэктомии у самок крыс, содержащихся в группе, снижалась длительность элементов социального поведения. Отсутствие значимого эффекта овариэктомии на поведение самок, содержащихся в изоляции, может быть связано с повышением уровня общительности, происходящим у интактных животных на фоне социальной депривации. Введение габапентина снижало выраженность элементов депрессивноподобного поведения овариэктомированных самок крыс, содержащихся в группе, однако габапентин не оказал влияния на поведение циклирующих самок. Полученные данные позволяют предположить перспективность применения габапентина в клинике аффективных расстройств у женщин в период менопаузы.

Ключевые слова: аффективные расстройства, экспериментальные модели, овариэктомия.

ВВЕДЕНИЕ

Женщины в два раза чаще, чем мужчины, страдают психическими заболеваниями, связанными с нарушением аффекта (униполярная депрессия; дистимия; панические, тревожные и посттравматические стрессовые расстройства) [10, 16]. Критическим этапом для проявлений заболеваний у женщин является переход к менопаузе и ранняя менопауза - периоды прогрессирующего снижения уровня половых гормонов [20]. Клинические проявления изменений функций систем организма в менопаузе состоят в появлении приливов и повышенной потливости, гипертонии, развитии ожирения, нарушении психофизиологической сферы, что проявляется беспокойством, бессонницей, появлением болевого синдрома и когнитивных расстройств. Одной из стратегий лечения является гормональная заместительная терапия [20], однако наличие определенных побочных эффектов у данного вида терапии делает актуальным поиск новых средств лечения ассоциированных с менопаузой аффективных расстройств. Успеху такого поиска будет способствовать создание экспериментальных моделей, воспроизводящих патогенез заболевания [15].

Овариэктомия самок грызунов, результатом которой становится значительное снижение естественного уровня половых стероидов, является одним из методов, позволяющих частично моделировать наблюдаемые в течение менопаузы изменения в психоэмоциональной сфере. Результаты экспериментальных исследований показывают, что овариэктомия может вызывать проявления депрессивноподобного и тревожного поведения у самок грызунов [3, 4, 7, 13, 22, 23]. Так у овариэктомированных самок крыс увеличивается время неподвижности в тесте Порсолта [4, 21], что свидетельствует о развитии депрессивноподобного состояния вследствие гормонального дефицита. Угнетение социального поведения, наряду с ангедонией, наблюдается при моделировании депрессивноподобных состояний у животных под воздействием хронического умеренного стресса [6, 24] и многократных поражений в социальных конфронтациях [17]. Показано также, что социальное поведение крыс подавляется на фоне хронического болевого синдрома [2].

В последнее время появляются данные об эффективном применении противосудорожных препаратов в клинике аффективных расстройств. Так, разработанный

для лечения эпилепсии препарат прегабалин, в настоящее время имеет как одно из показаний к применению - лечение генерализованных тревожных расстройств [1, 12]. Другой противосудорожный препарат – габапентин, с 1993 года используемый для лечения эпилепсии, в настоящее время применяется также как средство для лечения нейропатической боли [11]. Есть данные, что габапентин помимо противосудорожных и антиноцицептивных свойств, обладает и анксиолитической активностью [11]. Можно предположить, что габапентин окажется эффективным и в лечение аффективных расстройств, ассоциированных с дефицитом половых гормонов. В связи с этим целью данного исследования было моделирование нарушений социального поведения самок крыс в результате создания дефицита половых гормонов и оценка антидепрессивного действия габапентина. Кроме этого, было оценено влияние условий содержания животных (изолированно или в группе) на успех моделирования депрессивноподобного поведения, вызванного дефицитом половых гормонов. Отсутствие социальных контактов при изолированном содержании является стрессовым фактором для лабораторных грызунов. Ранее нами было показано, что выраженные признаки депрессивноподобного поведения самцов крыс с хронической нейропатической болью присутствуют только у изолянтов, тогда как социальная поддержка животных с болевым синдромом (содержание в группах) препятствует развитию депрессивноподобного состояния [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные и условия их содержания

Эксперименты выполнены на самках крыс стока Вистар массой 200-250 г (питомник «Рапполово», Россия). Животных содержали в условиях 24-часового фоторежима (12 ч день:12 ч ночь, вклю-

чение света в 8:00), контролируемой температуры ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) и влажности ($65\% \pm 10\%$) воздуха при свободном доступе к очищенной воде и полнорационному комбикорму (ПК-120, «Лабораторкорм», Россия).

Для содержания крыс использовали стандартные ТШ и ТIV клетки (Velaz, Чешская Республика), в которых размещали животных индивидуально или группами по 6 особей соответственно. В качестве подстилки использовали сухую древесную стружку мягких пород древесины, обработанную шоковой температурой (500°C) для устранения эмиссии смол (Tierwohl, JRS GMBH+Co, Германия).

Дизайн эксперимента

В начале эксперимента животных случайным образом разделили на две группы и разместили в индивидуальные (*первая экспериментальная группа, N=9*) или групповые клетки (*вторая экспериментальная группа, N=8*). На первом этапе эксперимента у всех самок ежедневно брали влагалищные мазки и в эксперимент были взяты только те самки, которые демонстрировали стабильный 4-дневный эстральный цикл. Через 2 недели после формирования экспериментальных групп проводили два теста парного взаимодействия с интервалом в 7 дней, и в эти дни влагалищные мазки брали по окончании теста. За 60 мин до теста самки внутривенно получали инъекцию 0,9% изотонического раствора NaCl (растворитель) или габапентина (Sigma-Aldrich, USA) в дозе 25 мг/кг. Порядок получения растворителя и/или габапентина определяли по факторному плану 2x2 во избежание влияния повторности тестирования на выявляемые эффекты. Так, половине животных из каждой экспериментальной группы вводили растворитель перед первым тестом и габапентин – перед вторым, а второй половине животных инъекции делали в обратной последовательности.

Спустя сутки после второго теста все самки были овариэктомированы (ОВЭ) под легким галотановым наркозом. Самок первой экспериментальной группы через три дня после операции поместили в группы до окончания периода послеоперационного восстановления (14 дней) и вновь рассадил в индивидуальные клетки за 2 недели до начала второго этапа эксперимента. Таким образом, длительность изоляции крыс из первой экспериментальной группы перед вторым блоком тестов была такой же, как и перед тестами первого этапа эксперимента. Третий и четвертый тесты парного взаимодействия также были выполнены по описанному выше плану. Результаты более ранних экспериментов (данные не представлены) показали, что повторные тестирования с частотой 1 раз в неделю не оказывают значимого влияния на регистрируемые показатели поведения при условии проведения каждого нового теста с новым оппонентом.

Тест парного взаимодействия

Социальное поведение крыс оценивали на нейтральной территории в экспериментальном боксе (25см x 35,5см x 34см) с чистым подстилочным материалом, содержащим 3 гранулы комбикорма. В качестве «стандартного оппонента» использовали незнакомую, неагрессивную ОВЭ самку, содержащуюся в группе сородичей. Первым в бокс помещали тестируемое животное, а через минуту подсаживали оппонента. Далее в течение 8 минут с помощью программы "Ethograph" (версия 2.07, RITEC, Санкт-Петербург, Россия) регистрировали последовательность и длительность 40 элементов поведения: индивидуального (локомоция, сидение, груминг, грызение корма и др.) и социального (обнюхивания партнера, груминг тела партнера и др.).

Статистическая обработка

В статистическую обработку (программа SPSS v.16) были взяты пока-

затели общей продолжительности отдельных элементов и/или функциональных групп элементов поведения: вертикальная двигательная активность (подъемы на задние лапы); локомоторная активность, общительность (обнюхивание партнера и аллогруминг), агрессивного поведения (интенсивный аллогруминг, угрозы, атаки, укусы). Полученные данные обрабатывали с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Для сравнения двух групп использовали t-критерий Стьюдента, анализ качественных переменных (доля животных, проявивших агрессию) выполняли с помощью критерия хи-квадрат.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Влияние условий содержания и овариэктомии на поведение самок крыс

Влияние овариэктомии на поведение самок в тесте парного взаимодействия было оценено как у животных, содержащихся в индивидуальных клетках (в течение двух-трех недель), так и самок, постоянно живущих в группе. Тесты были выполнены через 4 недели после операции, когда концентрация эстрадиола в плазме крови существенно снижается по сравнению с наблюдаемой у циклирующих самок [8].

Во время тестов до операции ОВЭ соотношение самок, находящихся на разных стадиях эстрального цикла - проэструс: эструс: метэструс/диэструс было сходным в обеих экспериментальных группах и составляло 4:3:2 для изолянтов и 2:3:3 - для групповых животных. Условия содержания оказывали существенное влияние на поведение крыс в тесте. Самки-изолянты демонстрировали повышенный уровень общительности по сравнению с самками, содержащимися в группе (рис.1). Дисперсионный анализ с повторными измерениями («условия содержания» - межгрупповой фактор, «овариэктомия» - внутригрупповой фактор) выявил значимое влияние обоих фак-

торов на длительность социального поведения самок крыс ($F_{1,15}=19,4$; $p<0,01$ – для фактора «условия содержания»; $F_{1,15}=6,73$; $p<0,05$ – для фактора «овариэктомия»). Длительность общения животных из разных экспериментальных групп различалась как до, так и после овариэктомии ($p<0,05$, post-hoc сравнения по тесту Бонферрони). Кроме этого, циклирующие самки-изолянты были более агрессивны по отношению к «стандартному оппоненту», чем содержащиеся в группе: у шести из девяти крыс, содержащихся в изоляции, наблюдали эпизоды агрессивного поведения, тогда как среди самок, содержащихся в группе, агрессивных животных выявлено не было ($\chi^2 = 8,24$, $p<0,01$). Вертикальная и горизонтальная двигательная активность не зависели от условий содержания экспериментальных животных (рис.1).

После овариэктомии у самок обеих групп снизилась длительность общения (значимо - у самок, содержащихся в группе; рис.1). Кроме этого ОВЭ повлияла на уровень агрессивности самок-изолянтов. Количество животных, демон-

стрировавших элементы агрессивного поведения более 10 секунд за тест, уменьшилось с пяти из девяти, до одного из девяти ($\chi^2 = 4,0$; $p<0,05$). Несмотря на некоторое уменьшение продолжительности горизонтальной и вертикальной двигательной активности, наблюдаемые изменения не достигали уровня статистической значимости (рис.1).

2. Влияние габапентина (25 мг/кг) на поведение самок крыс в тесте парного взаимодействия

У циклирующих самок введение габапентина не оказало статистически значимого эффекта на уровень общительности (рис.2), исследовательскую и локомоторную активность. Однако у ОВЭ самок габапентин значимо понижал уровень общительности как у самок-изолянтов, так и у самок, содержащихся в группе (рис.2), не влияя при этом на двигательную активность. Кроме этого после введения габапентина была отмечена активация пищевого поведения (грызение и перетаскивание корма), однако качественные и количественные показатели данного поведения не достигали уровня значи-

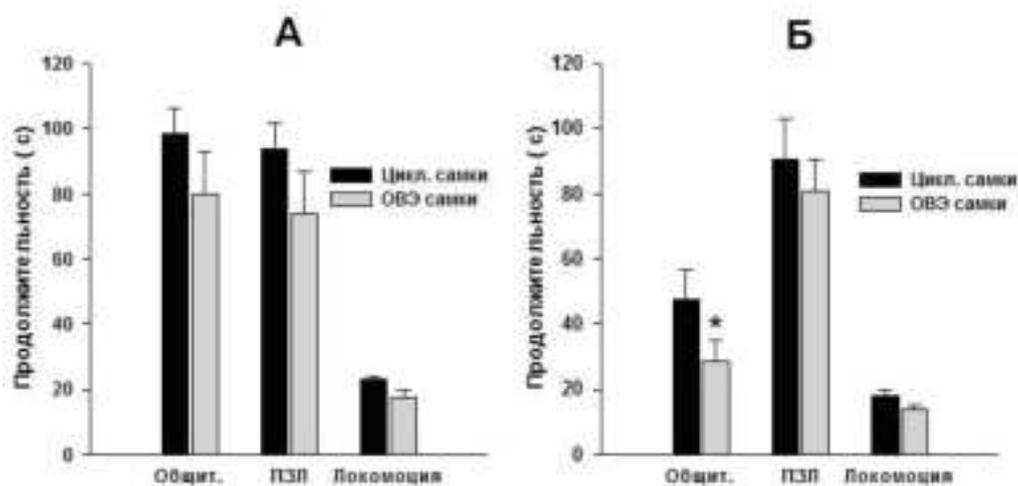


Рис. 1. Влияние овариэктомии на поведение самок крыс в тесте парного взаимодействия. А – самки, содержащиеся в изоляции; Б - самки, содержащиеся в группе. Общит. – общительность, ПЗЛ – подъемы на задние лапы. Цикл. самки - циклирующие самки. * - $p<0,05$, значимое отличие от соответствующего показателя циклирующих самок (t-тест Стьюдента)

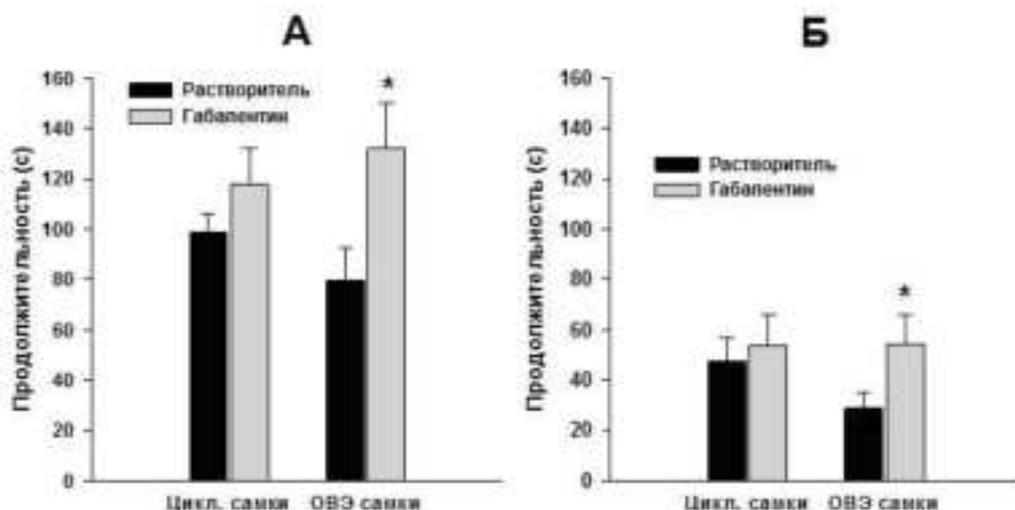


Рис. 2. Влияние габалентина (25 мг/кг) на социальное поведение самок крыс в тесте парного взаимодействия. А – самки, содержащиеся в изоляции; Б - самки, содержащиеся в группе. Цикл. самки – циклирующие самки, ОВЭ самки – овариэктомированные самки. Растворитель – 0,9% изотонический раствор NaCl. * - $p < 0,05$, значимое отличие от соответствующего показателя после введения растворителя (t-тест Стьюдента)

мости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Овариэктомия самок крыс является одной из широко используемых моделей для воспроизведения функциональных нарушений, наблюдаемых в менопаузе. Чаще всего, данный методический подход применяется для индукции остеопороза – заболевания, которое у женщин в постменопаузальном возрасте связано со снижением естественного уровня половых гормонов [9]. Однако применение данного метода позволяет оценивать и поведенческие изменения, которые в определенной мере отражают нарушения психоэмоциональной сферы, нередко встречающиеся в период менопаузы. Полученные данные подтвердили целесообразность использования данной модели для воспроизведения нарушений поведения, обусловленных дефицитом половых гормонов. Так овариэктомия самок крыс приводила к снижению уровня их общительности, что может быть признаком развития у них депрессивноподобного состояния. Наибо-

лее очевидным эффект овариэктомии был у крыс, содержащихся в группе. В тесте парного взаимодействия самки, содержащиеся в индивидуальных клетках, имели повышенный уровень общительности как проявление «депривационного эффекта», связанного с дефицитом социальных контактов.

Полученные данные подтверждают гипотезу о роли половых стероидов в развитии патологии аффективной сферы. Известно, что введение половых гормонов овариэктомированным крысам значительно снижает у них проявления тревожно-депрессивного поведения. Например, при однократном введении эстрадиола самки больше времени проводят в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта, уменьшается время неподвижности в тесте Порсолта, а наблюдаемые изменения сопровождаются снижением уровня кортикостерона в плазме крови [22]. Однако длительное введение этого гормона крысам в режиме гормональной заместительной терапии не дава-

ло отчетливого фармакологического эффекта [7, 13, 14].

В клинике заместительная терапия эстрадиолом была эффективна у женщин перименопаузального периода, страдающих депрессией, и менее эффективна у женщин в менопаузе [5, 18]. По другим данным, у женщин с тревожными расстройствами более низкий уровень тревожности как раз отмечался на фоне низкого уровня эстрадиола [19]. Хотя все эти данные свидетельствуют об участии половых стероидов в развитии аффективных расстройств, роль гормонов еще не до конца понятна.

Применение противосудорожных препаратов для лечения тревожных расстройств [1, 12] открывает перспективы поиска новых лекарственных средств среди препаратов данной группы для коррекции нарушений психоэмоциональной сферы, связанных с менопаузой. Результаты проведенного исследования показали, что габапентин уже при однократном введении способствует значительному увеличению уровня общительности животных, устраняя таким образом проявления депрессивноподобного поведения, вызванные овариэктомией, при этом не оказывает существенного влияния на поведение циклирующих самок. Учитывая тот факт, что препарат также обладает хорошим обезболивающим действием, его применение в клинике аффективных расстройств может иметь хороший терапевтический эффект при применении у женщин в период менопаузы.

Овариэктомия самок крыс ведет к снижению уровня их общительности в тесте парного взаимодействия, что свидетельствует о развитии депрессивноподобного состояния.

Условия содержания животных (групповое или индивидуальное) оказывают влияние на поведение в тесте парного взаимодействия. Изолянты демонстрируют повышенный уровень общительно-

сти, при этом овариэктомия не оказывает значимого влияния на показатели социального поведения.

Габапентин потенцирует общительность овариэктомизированных самок, содержащихся как в группе, так и индивидуально, при этом практически не оказывает влияния на социальное поведение циклирующих самок.

Препарат габапентин может иметь терапевтический эффект в клинике аффективных расстройств у женщин в период менопаузы.

Gabapentine restores social deficit induced by ovariectomy in female rats.

E. Shekunova, I. Belozertseva.

ABSTRACT

Modulating effects of sex steroids may underlie the development of mood disorders in women. A decline in ovarian hormones contributes to physiological and psychological aging associated with menopause. Ovariectomy is one of the current rodent models of menopause. Results from most experimental studies show that ovariectomy increases depressive-like or anxiety-related behaviors in females and, as consequences, may induce social deficit.

Gabapentin is a medication originally developed for the treatment of epilepsy is useful in the treatment of anxiety. It is reasonable to predict that gabapentin therapy may also have benefits in the treatment of mood disorders associated with ovarian hormone decline. The present study was aimed to evaluate the effects ovariectomy on female rat social behavior by using social interaction paradigm and to assess the effect of gabapentin on social behavior of cycling and ovariectomized female rats. Given that housing conditions may profoundly affect test outcome, gabapentin effects was estimated in individually and group-housed female Wistar rats.

Ovariectomy decreased duration of the social interaction in the group-housed female rats. Absence of the significant effects of

OVX in the isolated rats may be explained by elevated sociability evolved as a result of social deficit. Gabapentin improved signs of social deficit in the group-housed OVX rats; however had no significant effects on the social behavior of cycling rats. Data obtained suggest therapeutic potential of gabapentin for the treatment of menopause-associated affective disorder.

Key words: affective disorder, experimental models, ovariectomy.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alvarez E., Olivares J.M., Carrasco J.L., Lopez-Gomez V., Rejas J. Clinical and economic outcomes of adjunctive therapy with pregabalin or usual care in generalized anxiety disorder patients with partial response to selective serotonin reuptake inhibitors // *Ann.Gen.Psychiatry* - 2015. -Vol.14. - P.2.
2. Belozertseva I., Shekunova E., Nagel J., Danysz W. Further validation of social interaction test for estimation of pain-related behavioral alteration in rats with neuropathic pain // *Soc.Neurosci.Abst.* -2009. - Vol.39. - P. 457-524.
3. Bernardi M., Vergoni A.V., Sandrini M., Tagliavini S., Bertolini A. Influence of ovariectomy, estradiol and progesterone on the behavior of mice in an experimental model of depression // *Physiol Behav.* - 1989. - Vol.45 - P. 1067-1068.
4. Citraro R., Gallelli L., Leo A., De F.P., Gallelli P., Russo E., De S.G. Effects of chronic sodium alendronate on depression and anxiety in a menopausal experimental model // *Pharmacol.Biochem.Behav.* -2015. -Vol.129. -P. 65-71.
5. Cohen L.S., Soares C.N., Poitras J.R., Prouty J., Alexander A.B., Shifren J.L. Short-term use of estradiol for depression in perimenopausal and postmenopausal women: a preliminary report // *Am. J. Psychiatry.* -2003. -Vol.160. -P.1519-1522.
6. D'Aquila P.S., Brain P., Willner P. Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression // *Physiol Behav.* - 1994 - Vol.56 - P.861-867.
7. Diaz-Veliz G., Alarcon T., Espinoza C., Dussaubat N., Mora S. Ketanserin and anxiety levels: influence of gender, estrous cycle, ovariectomy and ovarian hormones in female rats // *Pharmacol.Biochem.Behav.* - 1997. -Vol.58. -P. 637-642.
8. Hu M., Becker J.B. Acquisition of cocaine self-administration in ovariectomized female rats: effect of estradiol dose or chronic estradiol administration // *Drug Alcohol Depend.* - 2008. -Vol.94. -P.56-62.
9. Jee W.S., Yao W. Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis // *J. Musculoskelet. Neuronal. Interact.* -2001. -Vol. 1. -P. 193-207.
10. Kessler R.C., McGonagle K.A., Zhao S., Nelson C.B., Hughes M., Eshleman S., Wittchen H.U., Kendler K.S. Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States // *Results from the National Comorbidity Survey. Arch. Gen. Psychiatry.* 1994. -Vol.51. -P.8-19.
11. Khezri M.B., Oladi M.R., Atlasbaf A. Effect of melatonin and gabapentin on anxiety and pain associated with retrobulbar eye block for cataract surgery: a randomized double-blind study // *Indian J. Pharmacol.* - 2013. -Vol.45. -P.581-586.
12. Kustermann A., Mobius C., Oberstein T., Muller H.H., Kornhuber J. Depression and attempted suicide under pregabalin therapy // *Ann. Gen. Psychiatry.* -2014. -Vol.13.-P. 37.
13. Mora S., Dussaubat N., Diaz-Veliz G. Effects of the estrous cycle and ovarian hormones on behavioral indices of anxiety in female rats // *Psychoneuroendocrinology.* - 1996. -Vol.21. - P. 609-620.
14. Morgan M.A., Pfaff D.W. Effects of estrogen on activity and fear-related behaviors in mice // *Horm.Behav.* -2001. -Vol.40. - P. 472-482.
15. Mueller S.C., Grissom E.M., Dohanich G.P. Assessing gonadal hormone contributions to affective psychopathologies across humans and animal models // *Psychoneuroendocrinology.* -2014. -Vol.46. - P.114-128.

16. Regier D.A., Narrow W.E., Rae D.S., Manderscheid R.W., Locke B.Z., Goodwin F.K. The de facto US mental and addictive disorders service system. Epidemiologic catchment area prospective 1-year prevalence rates of disorders and services // Arch. Gen. Psychiatry. -1993. -Vol.50. -P.85-94.
17. Rygula R., Abumaria N., Flugge G., Fuchs E., Ruther E., Havemann-Reinecke U. Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress // Behav. Brain Res. - 2005. -Vol.162. - P.127-134.
18. Schmidt P.J., Nieman L., Danaceau M.A., Tobin M.B., Roca C.A., Murphy J.H., Rubinow D.R. Estrogen replacement in perimenopause-related depression: a preliminary report // Am. J. Obstet.Gynecol. -2000. - Vol.183. -P.414-420.
19. Schmidt P.J., Nieman L.K., Danaceau M.A., Adams L.F., Rubinow D.R. Differential behavioral effects of gonadal steroids in women with and in those without premenstrual syndrome // N. Engl. J. Med. -1998 - Vol.338. -P. 209-216.
20. Soares C.N. Mood disorders in midlife women: understanding the critical window and its clinical implications // Menopause. - 2014. -Vol.21. -P.198-206.
21. Vega-Rivera N.M., Fernandez-Guasti A., Ramirez-Rodriguez G., Estrada-Camarena E. Acute stress further decreases the effect of ovariectomy on immobility behavior and hippocampal cell survival in rats // Psychoneuroendocrinology. -2013. -Vol.38. -P. 1407-1417.
22. Walf A.A., Frye C.A. Antianxiety and antidepressive behavior produced by physiological estradiol regimen may be modulated by hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity // Neuropsychopharmacology. -2005. - Vol.30. - P. 1288-1301.
23. Walf A.A., Frye C.A. Antianxiety and antidepressive behavior produced by physiological estradiol regimen may be modulated by hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity // Neuropsychopharmacology. -2005. - Vol.30. -P. 1288-1301.
24. Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS // Neuropsychobiology. -2005. - Vol.52. -P.90-110.

УДК: 612.67

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА СТЕПЕНИ РАЗВИТИЯ ПАТОЛОГИИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АДЬЮВАНТ-ИНДУЦИРОВАННОГО АРТРИТА У КРЫС

Кашкин В.А.^{1,2}-к.м.н., старший научный сотрудник, Шекунова Е.В.^{1,2}-к.б.н., старший научный сотрудник, Мужикян А.А.¹ - м.н.с., Макарова М.Н.¹ - д.м.н., профессор, зам. ген. директора по науке, Макаров В.Г.¹ - д.м.н., профессор
¹ – Санкт-Петербургский Институт Фармации, ² - Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова



РЕФЕРАТ

Экспериментальный артрит, вызванный введением полного адьюванта Фрейнда, широко используется для изучения специфической противовоспалительной и противоревматоидной активности фармакологических веществ. Успех моделирования АА в эксперименте зависит от ряда факторов, в том числе линии и пола экспериментальных животных, способа введения и дозы индуктора. В данном исследовании с использованием модифи-

цированной модели индукции АА (у самок крыс линии Вистар) были детально изучены клинические и гистопатоморфологические признаки. Для полуколичественной оценки состояния суставов были использованы адаптированные шкалы Hegen и соавт. (2003) и Mankin и соавт., (1971). В качестве референтного препарата, подтверждающего валидность примененного методического подхода, был использован метотрексат. Показано, что предложенная комплексная шкала оценки тяжести развития патологии позволяет использовать данную модель для скрининга антиревматоидной и противовоспалительной активности новых лекарственных кандидатов.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, метотрексат, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Ревматоидный артрит это хроническое системное заболевание соединительной ткани аутоиммунной природы, при котором поражаются суставы. Ревматоидным артритом страдает приблизительно 1% населения земного шара. Частота встречаемости увеличивается с возрастом, заболевание наиболее распространено среди женщин. Хотя причины возникновения ревматоидного артрита окончательно не ясны, хорошо изучены механизмы воспалительного процесса, который приводит к постепенному разрушению суставов [Joseph и соавт., 2010]. Воспаление приводит к прогрессирующей деструкции хрящевой ткани суставов, синовиальной гиперплазии, синовиту, эрозии костной ткани, наблюдается повышение уровня медиаторов воспаления.

Экспериментальный артрит, вызванный введением полного адьюванта Фрейнда, широко используется для изучения специфической противовоспалительной и противоревматоидной активности фармакологических веществ. При использовании данной модели клинические признаки артрита появляются приблизительно через 10 дней после введения адьюванта. Адьювантный артрит (АА) это Т-лимфоцитозависимый артрит, который во многом схож с ревматоидным артритом, включая развитие отека околосуставных тканей, деграцию хряща, потерю функциональной активности сустава, лимфоцитарную инфильтрацию внутрисуставной полости. При АА наблюдается ре-

зорбция костной ткани, однако поражения хряща выражены в меньшей степени, чем при экспериментальном артрите, вызванном введением коллагена [Hegen и соавт., 2008].

Успех моделирования АА в эксперименте зависит от ряда факторов, в том числе линии и пола экспериментальных животных [Whitehouse, 2007; Hegen и соавт., 2008], способа введения индуктора. Важную роль играет своевременное определение и фиксация маркеров, характеризующих развитие патологии. В данном исследовании с использованием модифицированной модели индукции АА (у самок крыс линии Вистар) были детально изучены клинические и гистопатоморфологические признаки, характеризующие динамику развития АА. В качестве референтного препарата, подтверждающего валидность примененного методического подхода, был использован метотрексат [Fitzpatrick и соавт., 2011]. Полученные результаты могут служить основой для исследований лекарственных препаратов с антиревматоидным, противовоспалительным и(или) иммуномодулирующими свойствами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на самках крыс линии Вистар массой 200-250 г (питомник «Рапполово», Россия). Животных содержали в условиях 24-х часового фоторежима (12 ч день:12 ч ночь, включение света в 8:00), контролируемой температуры ($22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) и влажности ($65\% \pm 10\%$) воздуха при свободном доступе к

очищенной воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм).

Индукция артрита

Для индукции артрита крысам в плантарную поверхность задней лапы вводили полный адъювант Фройнда (complete Freund adjuvant (CFA)) (Sigma-Aldrich) в объеме 100 мкл [Bartlett и Schleyerbach, 1985; Blackham, и соавт., 1977].

Клинические наблюдения

До введения CFA и далее на протяжении всего эксперимента дважды в неделю регистрировали массу тела и проводился клинический осмотр животных с оценкой тяжести развития патологии в баллах. При отсутствии изменений инъецированной лапы присваивалась оценка «0», при наличии слабовыраженного отека – «1», при наличии отека и слабовыраженного покраснения «2», при наличии значительного отека и сильно выраженного покраснения – «3», при наличии сильно выраженного отека и покраснения, затрагивающих все суставы инъецированной лапы, и/или при генерализации процесса (вовлечение суставов контрлатеральной лапы, суставов в основании хвоста, передних лап) – оценка «4» [Fitzpatrick и соавт., 2011].

До введения CFA и далее дважды в неделю на протяжении всего эксперимента по объему вытесняемой жидкости с использованием метода водной плетизмографии измеряли объем лапы [Bartlett и Schleyerbach, 1985; Badger и соавт., 2000].

Изучение влияния метотрексата на развитие патологии

На 7-ой день после введения CFA на основании данных массы тела животных, клинического осмотра, размера отека лапы животные были разделены на две экспериментальных группы (по 12 животных в каждой) так, чтобы степень тяжести развития заболевания не различалась между группами. Далее одна из групп, начиная с 7-о дня эксперимента (после распределения животных по группам) получала

метотрексат – в дозе 0,1 мг/кг один раз в день, перорально, другая получала растворитель (1% коллоидный раствор крахмала) в течение 21 дня.

Патоморфологическое и гистологическое исследования

На 29-й день эксперимента животные были эвтаназированы в CO₂-камере. Исследуемые отделы конечностей ампутировали на уровне нижней трети голени, рассечением мягких тканей, большой и малой берцовой костей, без нарушения целостности суставов. Далее проводилась фиксация материала для гистологического исследования.

Гистологическому исследованию были подвергнуты пораженные суставы крыс, в том числе заплюсневый сустав, образованный блоком костей голени, костями заплюсны и проксимальным концом плюсневых костей, включающий в себя art. tarsocruralis, aa. intertarsae (представленный a. talocalcaneonavicularis, a. talocalcanea, a. calcaneocuboidea, a. cuneonavicularis), art. tarsometatarsae, а также плюснофаланговые, венечные и дистальные межфаланговые суставы пальцев стопы. Для этого конечности крыс фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, затем декальцинировали в электролитном растворе на основе муравьиной и соляной кислот (производства - ООО «Первая лабораторная компания») в течение 14 дней, после чего делили на сегменты (рис. 1) и заливали в парафин. Затем изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином.

Морфологическое исследование гистологических препаратов проводилось при помощи светооптического микроскопа Carl Zeiss (Германия) при увеличении 100 и 200. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Axio Scope A1 (Германия).

Структуры заплюсневого сустава и мягких тканей изучали на сагиттальных и

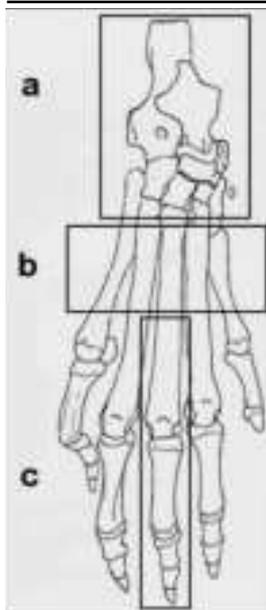


Рис. 1. Разделение тазовой конечности на сегменты для гистологической обработки

плантарных срезах конечности (рис. 1 – a, b), для изучения межфаланговых суставов дистальную часть конечности отделяли поперечным разрезом плюсневых костей, а суставы, образованные плюсневыми костями, проксимальными, средними и дистальными фалангами изучали на сагиттальных срезах (рис. 1 – c). Таким образом, от каждого животного было исследовано не менее 10 суставов, попавших на срез. Критериями гистологической оценки служили изменения околоуставного аппарата (фиброзной и синовиальной капсулы), наличие воспалительного инфильтрата, состояние суставного хряща и костной ткани. В баллах от «0» (норма) - до «5» (максимальная выраженность патологии) оценивали шесть параметров.

Оценивали степень поражения суставов по модифицированной шкале Неген et al. (2003), при этом оценивали следующие показатели:

1. выраженность общего воспаления сустава (наличие инфильтрата, эдемы, выпота),
2. степень сужения суставной полости,
- 3.3) изменения костной ткани (остеолизис),
4. изменения синовиальной оболочки (гиперплазия),
5. выраженность паннуса (наличие в субинтимальном слое суставной капсулы грануляционной ткани с высоким содер-

жением фибробластов, лимфоцитов и макрофагов),
6. степень дегенерации хряща.

При максимальной выраженности патологического процесса комплексная оценка для одного животного составляет 30 баллов.

Более детально оценивали характер и выраженность изменений хрящевой ткани сустава по модифицированной шкале Mankin в баллах от 0 (норма) до 3 [Chang и соавт., 2010; Mankin и соавт., 1971]. Анализировали следующие показатели:

1. структура поверхности (1 балл - неровности, эрозии, 2 балла - трещины, 3 балла – расслоение);
2. клеточный состав (1 балл - незначительное снижение количества хондроцитов, 2 балла - значительное снижение количества хондроцитов, 3 балла – нет клеток);
3. окрашивание (1 балл - незначительное снижение окрашивания, 2 балла - значительное снижение окрашивания, 3 балла – нет окрашивания);
4. пролиферация клеток (1 балл – изогенные группы хондроцитов (по две клетки в группе), 2 балла – изогенные группы хондроцитов (по две и три клетки в группе), 3 балла – очаги пролиферации (более 3-х клеток в группе));

При максимальной выраженности патологического процесса комплексная оценка для одного животного составляет 12 баллов.

Статистическая обработка

Для анализа данных использовался однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с повторными измерениями. Для анализа непараметрических данных применяли критерий Фридмана, тесты Манна-Уитни, Вилкоксона. Различия были определены при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ выполнялся с помощью программного обеспечения Статистика 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Масса животных

Взвешивание проводилось дважды в неделю еженедельно. Масса тела животных несколько снижался после введения CFA к 4-му дню исследования ($206,3 \pm 4,6$ г до введения, $204,5 \pm 4,64$ г – на 4-й день), однако эта тенденция не была статистически значимой (t-тест, $p > 0,05$). К 7-му дню исследования положительная динамика массы тела восстановилась ($210,2 \pm 3,98$ г).

Объем лапы

Выраженность отека оценивали по объему вымещаемой жидкости. Рассчитывали разницу между объемом лапы после введения CFA и до введения CFA. Данные представлены в таблице 1. Несмотря на некоторую тенденцию к снижению объема лапы к окончанию периода лечения, двухфакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями не выявил статистически значимой разницы объема лапы между контрольной группой и группой, получавшей метотрексат ($F_{1,22}=1,79$; $p=0,19$).

Клинический осмотр

Дважды в неделю по результатам клинического осмотра оценивалась степень выраженности патологии в баллах. Введение полного адьюванта Фрейнда крысам

привело к развитию отека и покраснения (эритема) околосуставных тканей, отек развивался уже в течение первых суток после введения адьюванта. Отечность окружающих сустав тканей (эдема) в той или иной степени сохранялась на протяжении всего эксперимента. К концу второй недели после введения адьюванта у большинства (84%) животных стали проявляться внешние признаки ревматоидного артрита, а именно деформация конечностей, в основном, в области межфаланговых суставов, прогрессирование эдемы и эритемы. Приблизительно у 25% животных наблюдалась мощная генерализация патологического процесса, затрагивающая суставы контралатеральной задних и передних передних лап, а также суставы в основании хвоста. У 16% животных наблюдали менее выраженную генерализацию патологического процесса, затрагивающую суставы контралатеральной по отношению к стороне инъекции задней лапы. У 16% животных наблюдали на протяжении эксперимента постепенное снижение выраженности эдемы и эритемы, что может говорить об отсутствии развития артрита у этих крыс.

Исследуемый препарат начинали вводиться с 7-ого дня эксперимента. Данные

Таблица 1

Разность (в мл) между объемом вытесненной лапой жидкости после введения и до введения CFA (n=12). Данные представлены как $M \pm m$

Группа	7-ой день	11-ый день	14-ой день	18-ый день	22-ой день	26-ой день	28-ой день
Контрольная группа	$1,5 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,2$
Метотрексат	$1,5 \pm 0,2$	$1,7 \pm 0,1$	$1,8 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	$1,2 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$

Таблица 2

Динамика развития патологии. Данные представлены как сумма баллов по группе

Группа	4-ый день	7-ой день	11-ый день	14-ой день	18-ый день	22-ой день	26-ой день	28-ой день
Контроль	34	37	31	34	34	35	35	34
Метотрексат	37	36	35	36	34	32	28	25*

Примечание: *- $p < 0,05$, достоверное отличие от исходного уровня (до лечения), тест Вилкоксона

по клиническому осмотру представлены в таблице 2. Положительная динамика (снижение выраженности патологии в ходе лечения с 7ого по 28-й день) наблюдалась в группе получавшей препарат метотрексат (критерий Фридмана для зависимых групп, $df=7$, $p<0,001$). Улучшение клинической картины на 28-й день лечения в группе, получавшей лечение метотрексатом по сравнению с исходным уровнем (табл.2), однако отличий от контрольной группы не было обнаружено ($p>0,05$, тест Манна-Уитни).

Гистологический анализ

Комплексная оценка состояния суставов включала в себя анализ основных изменений, характерных для ревматоидного/адьювантного артрита, а именно:

- выраженность общего воспаления сустава,
- изменения костной ткани,
- изменения синовиальной оболочки (гиперплазия),
- степень сужения суставной полости (анкилоз сустава),
- выраженность паннуса, степень дегенерации хряща.

У всех животных контрольной группы в той или иной мере были обнаружены изменения суставного аппарата различной степени тяжести, характерные для ревматоидного артрита. Изменения проявлялись, прежде всего, усиленной пролиферацией синовиоцитов, гиперплазией, отеком и утолщением синовиальной оболочки с нечеткими контурами и наличием на синовиальной интима темных луковичеобразных ворсин (рис. 1, 2). В строме обнаруживался умеренный периваскулярный инфильтрат, представленный в основном лимфоцитами и плазматическими клетками. Прослеживалась картина развития негнойного пролиферативного синовита. Наблюдались выраженные признаки отека околосуставных тканей.

В большинстве случаев нормальная синовиальная оболочка замещалась молодой грануляционной тканью, состоящей из аморфного межклеточного вещества, содержащего многочисленные кровеносные сосуды, а также клеток фибробластического ряда, макрофагов, нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов. У всех животных в разной степени отмечался паннус, образованный активно пролиферирующей грануляционной тканью, врастающей в субинтимальную оболочку фиброваскулярного слоя синовиальной оболочки. Процесс формирования паннуса (от нормы до максимальной степени выраженности) представлен на рисунке 3.

В 70% случаев грануляционная ткань паннуса замещалась зрелой фиброзной, что приводило, в том числе к глубоким изменениям гиалинового хряща, проявляющимся в формировании узур и трещин, набухании и вакуолизации матрикса, развитию дистрофических и некротических поражений хондроцитов. В хрящевой ткани обнаруживались поверхностные эрозии (рис. 4). Снижалась степень окрашивания хряща, указывающая на деструктивные изменения межклеточного матрикса, границы между слоями были размыты (рис. 5).

В тяжелых случаях отмечалось истончение и обеднение клетками хрящевой ткани, с очагами пролиферации, встречающиеся часто при сужении суставного пространства, вызванного главным образом поражением околосуставного аппарата. У таких животных обнаруживались также субхондральные кисты и очаги остеопороза (рис. 6-7).

Таким образом, гистологический анализ подтвердил наличие патоморфологических изменений, характерных для ревматоидного/адьювантного артрита. В контрольной группе только у 4-х животных из 12-и наблюдались незначительные изменения (меньше 10 баллов по комплексной шкале оценки), у остальных

Таблица 3

Результаты оценки развития патологии суставов. Данные представлены в виде суммы баллов по каждой группе животных

Показатели	Контроль	Метотрексат
Общее воспаление	39	18*
Сужение суставной полости	36	2*
Изменения костной ткани	17	2*
Изменения синовиальной оболочки	39	32
Формирование паннуса	39	30
Дегенерация хряща	28	16*
<i>Сумма</i>	<i>199</i>	<i>98*</i>

Примечание: * $p < 0,05$, достоверное отличие от контрольной группы, тест Манна-Уитни

Таблица 4

Результаты оценки развития патологии суставного хряща. Данные представлены в виде суммы баллов по каждой группе животных

Показатели	Контроль	Метотрексат
Состояние поверхности	13	10
Клеточный состав (снижение количества хондроцитов)	7	6
Снижение степени окрашивания	11	3*
Образование клеточных клонов	17	10*
<i>Сумма баллов</i>	<i>48</i>	<i>29*</i>

Примечание: * $p < 0,05$, достоверное отличие от контрольной группы, тест Манна-Уитни

животных наблюдалось развитие артрита в средней и тяжелой форме (более 11 баллов).

Наличие патоморфологических признаков артрита в меньшей степени наблюдалось и в группе, получавшей метотрексат. В таблице 3 представлены данные о полуколичественной оценке степени поражения суставов в экспериментальных группах.

Действительно, патологический процесс, вызванный введением адьюванта, приводил к изменениям синовиальной оболочки, изменениями костной ткани (формирование новой костной ткани, остеолитичес), формированию паннуса, что сопровождалось критическим сужением суставной полости, изменениями хрящевой ткани.

Состояние хряща более детально оценивалось также по модифицированной шкале Mankin. [Chang и соавт., 2010; Mankin и соавт., 1971]. Как видно из таб-

лицы 4, введение адьюванта к развитию максимальных поражений хрящевой ткани (сумма баллов – 48, при максимально возможной – 144). В группе, получавшей лечение, поражения хрящевой ткани были менее выражены.

Таким образом, гистологическое исследование подтвердило развитие ревматоидного/адьювантного артрита в тазовых конечностях крыс. В сравнении с контрольной группой, где наблюдалось значительное увеличение паннуса, были более выражены дегенеративные изменения хрящевой ткани, остеолит, наблюдался фиброзный анкилоз суставов, терапия метотрексатом уменьшила степень воспаления околоуставного аппарата, практически не были обнаружены изменения костной ткани, поражения хряща были минимальны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение полного адьюванта Фрейнда крысам привело к развитию дегенеративных поражений суставного аппарата, ха-

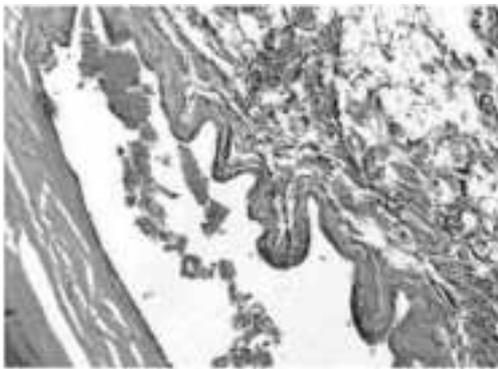


Рис. 1. Гиперплазия и утолщение синовиальной оболочки. Строма оболочки отечна. В полости сустава воспалительный инфильтрат. Ув. 100.

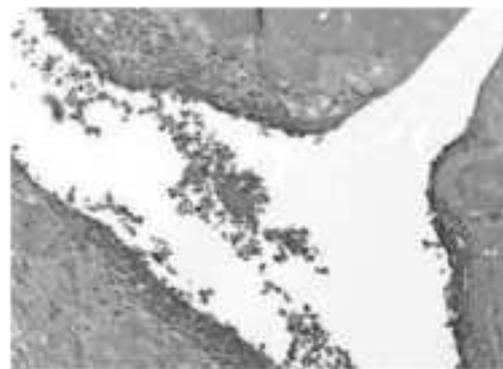


Рис. 2. Инфильтрация клетками грануляционной ткани синовиальной оболочки и проникновение их суставную полость. Умеренное воспаление. Ув. 100.

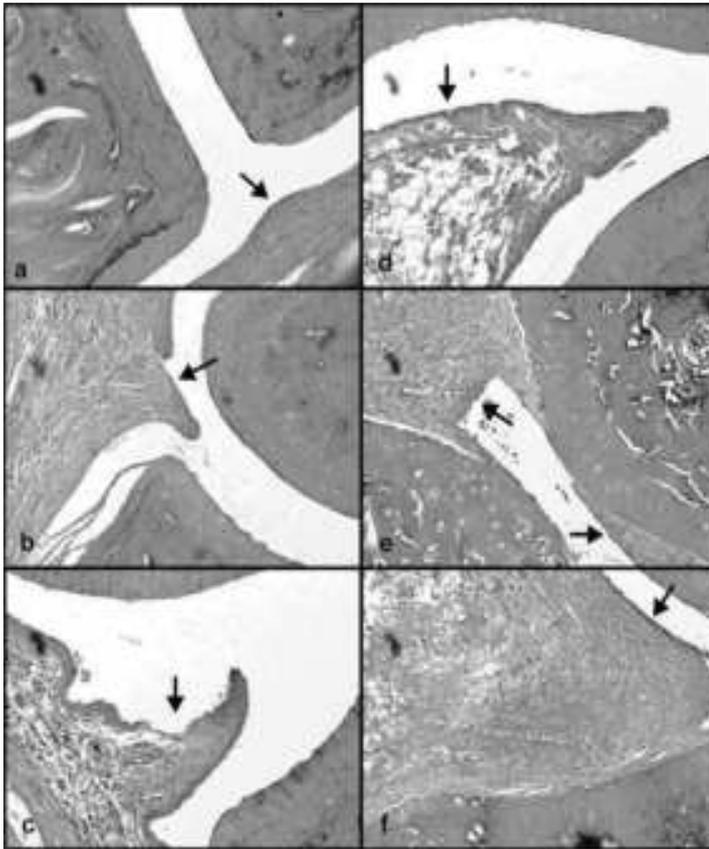


Рис. 3. Формирование паннуса

Формирование паннуса:

a – норма;
b – умеренная лимфоидная инфильтрация синовиальной и фиброзной оболочек, начало формирования паннуса;
c – проникновение молодой грануляционной ткани в синовиальную оболочку. Активная пролиферация синовиоцитов и врастание паннуса в суставную полость;
d – строма сформированного паннуса бедна клеточными элементами, обнаруживаются многочисленные кровеносные сосуды;
e – значительное разрастание паннуса, замещение грануляционной ткани фиброзной. В суставной полости воспалительный инфильтрат;
f – полное замещение грануляционной ткани фиброзной. Критическое разрастание

паннуса, приводящее к фиброному анкилозу сустава.

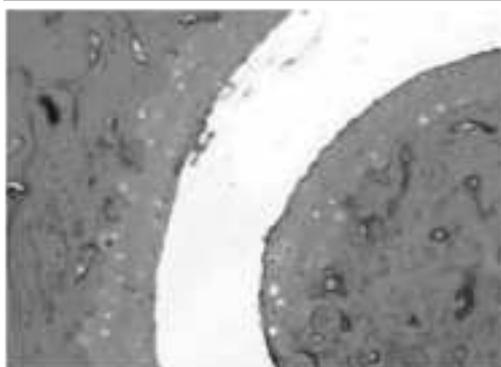


Рис. 4. Незначительные повреждения суставного хряща. Обнаруживаются поверхностные эрозии и очаговая вакуолизация матрикса. Ув. 100.

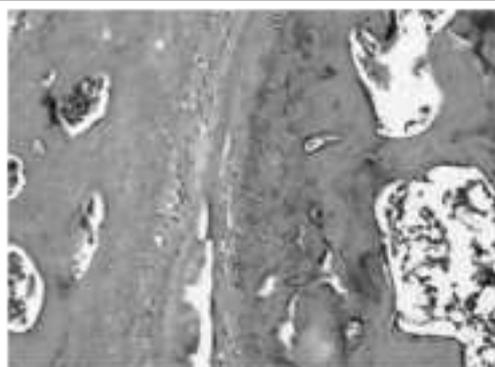


Рис. 5. Тяжелые дегенеративные изменения хряща, вызванные критическим сужением суставной полости. Отмечаются глубокие язвы и трещины, исчезновение поверхностного слоя хряща, дистрофия и некроз отдельных хондроцитов. Ув. 100.

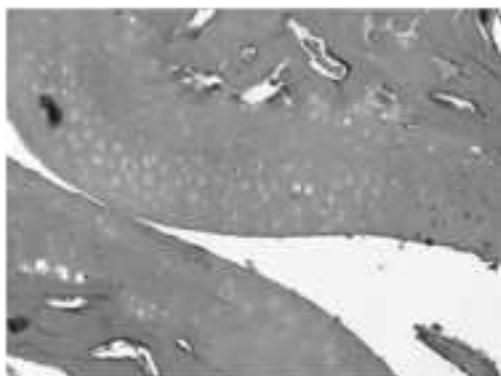


Рис. 6. Значительное сужение суставного пространства. Минимальные повреждения костной ткани с формированием участков лакунарного рассасывания. Ув. 100.

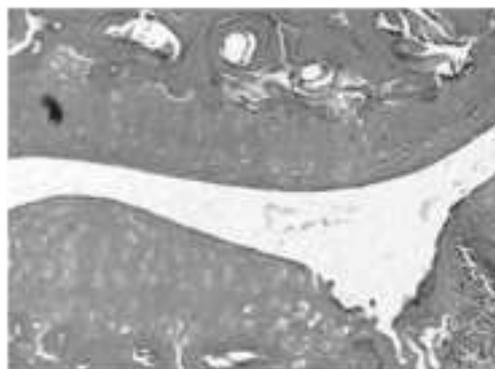


Рис. 7. Незначительная резорбция костной ткани и поверхностные повреждения суставного хряща. Ув. 100.

рактерных для ревматоидного/ адьювантного артрита. В ходе наблюдения у животных наблюдалось развитие отека и покраснения (эритема) околосуставных тканей, отек развивался уже в течение первых суток после введения адьюванта, что характеризует присутствие острого воспалительного процесса. Отечность конечности, развивающаяся в результате накопления жидкости в тканях, окружающих сустав (эдема) [Whitehouse, 2007], в той или иной степени сохранялась на протяжении всего эксперимента. В течение первой недели после введения адьюванта наблюдалось некоторое замед-

ление динамики набора веса, что также может отражать последствия развития острого воспалительного процесса. К концу второй недели после введения адьюванта у большинства животных (84%) стали проявляться признаки артрита, а именно, деформация конечностей, в основном, в области межфаланговых суставов, приблизительно у 25% животных наблюдалась генерализация патологического процесса, затрагивающая суставы контралатеральной задней лапы и/или суставов передних лап и/или суставов в основании хвоста. Временные характери-

стики развития экспериментального артрита соответствовали данным литературы. Так, очевидные клинические признаки адьювантного артрита (АА) наблюдают с 9-10-го [Bendele и соавт., 1999] по 14-й [Hegen и соавт., 2003; Fitzpatrick и соавт., 2011] день после введения адьюванта.

Гистопатоморфологическое исследование подтвердило наличие признаков изменения суставного аппарата различной степени тяжести, характерных для ревматоидного артрита. Изменения проявлялись, прежде всего, усиленной пролиферацией синовиоцитов, гиперплазией, отечностью и утолщением синовиальной оболочки. У всех животных в разной степени отмечался паннус, образованный активно пролиферирующей грануляционной тканью, врастающей в субинтимальную оболочку фиброваскулярного слоя синовию. В тяжелых случаях отмечалось истончение и обеднение клетками хрящевой ткани, с очагами пролиферации, встречающееся часто при сужении суставного пространства, вызванного главным образом поражением околосуставного аппарата. У таких животных обнаруживались также субхондральные кисты и очаги остеопороза. Снижалась степень окрашивания хряща, указывающая на деструктивные изменения межклеточного матрикса, границы между слоями были размыты. Однако изменения хряща были относительно невелики по сравнению с другими наблюдаемыми патологическими изменениями суставного аппарата, что характерно для адьювантного артрита [Bendele и соавт., 1999].

На 7-ой день после введения адьюванта животные были распределены на две группы: животным в терапевтическом режиме вводили метотрексат или его растворитель с 7-ого по 28-й день эксперимента. В целом, данные клинического наблюдения выявили улучшение клинического состояния у животных, получав-

ших терапию метотрексатом по сравнению с контрольной группой. У этих животных наблюдалась тенденция (статистически незначимая) к снижению выраженности отека и улучшению клинического состояния (балльная шкала оценки). Отсутствие выраженного терапевтического эффекта введения метотрексата в дозе 0,1 мг/кг, по всей вероятности, вполне закономерно. Метотрексат, действительно, является широко используемым референс агентом в исследованиях экспериментального артрита. Однако большое, если не критическое, влияние на его эффективность в модели адьювант-индуцированного артрита оказывают путь введения, доза, время начала лечения и линия экспериментальных животных. При проведении мета-анализа Hegen и его коллегами (2008) было выяснено, что введение метотрексата на модели адьювант-индуцированного артрита может быть эффективно в профилактическом (начало лечения на следующий день после введения адьюванта) и мало эффективно в терапевтическом (как в настоящем исследовании) режиме (начало введения метотрексата спустя 7-14 дней после введения адьюванта). По данным литературы, метотрексат в диапазоне доз от 0,945 мг/кг до 0,075 мг/кг оказывал положительное воздействие исключительно в профилактическом режиме [Bendele и соавт., 1999]. В терапевтическом режиме при начале лечения с 10-ого дня наблюдалось снижение клинических проявлений артрита в диапазоне доз от 0,1 мг/кг до 1 мг/кг при внутрибрюшинном введении метотрексата [Ainooson и соавт., 2012].

Результаты гистологического исследования в целом подтвердили полученные в ходе эксперимента результаты. У животных, получавших метотрексат, обнаруживалась положительная динамика: снижалась выраженность внутрисуставного воспаления, сужения внутрисуставной полости, нормализовалась структура ко-

стной ткани.

Таким образом, в целом результаты исследования показали, что введение в плантарную поверхность задней лапы крысы полного адьюванта Фрейнда ведет к развитию полиартрита, по многим признакам воспроизводящим клинику ревматоидного артрита. Предложенная комплексная шкала оценки тяжести развития патологии позволяет использовать данную модель для скрининга антиревматоидной и противовоспалительной активности новых лекарственных кандидатов.

Estimation of disease severity in the model of adjuvant-induced arthritis.

V. Kashkin, E. Shekunova, A. Muzikjan, M. Makarova, V. Makarov.

ABSTRACT

Rat adjuvant arthritis (AA) is an experimental model of polyarthritis which has been widely used for preclinical testing of numerous anti-arthritic agents. Various factors including strain and sex of experimental animals, injection site, adjuvant dosing can influence the disease progression. In this research clinical and *histopathological* signs of arthritis progression were studied in female Wistar rats with AA. Modified Hegen score and Mankin score were used to assess disease progression. Methotrexate was used to estimate the efficacy of proposed scoring method. Data obtained supported the usefulness of scoring method for testing of innovative substances.

Key words: rheumatoid arthritis, methotrexate, rat.

ЛИТЕРАТУРА

1. Joseph A., Brasington R., Kahl L., et al. Immunologic rheumatic disorders // *J. Allergy Clin. Immunol.* -2010.-Vol.125. –P. 204-215.
2. Coffey G., DeGuzman F., Inagaki M., et al. Specific inhibition of spleen tyrosine kinase suppresses leukocyte immune function and inflammation in animal models of rheumatoid arthritis // *J. Pharmacol Exp. Ther.* -2012. –Vol.340. –P. 350-359.

3. Hegen M., Keith J.C., Collins M., et al. Utility of animal models for identification of potential therapeutics for rheumatoid arthritis // *Ann. Rheum. Dis.* -2008. –Vol.67. –P. 1505-1515.

4. Bendele A., McComb J., Gould T., et al. Animal models of arthritis: relevance to human disease // *Toxicol. Pathol.* -1999. – Vol.27. –P.134-142.

5. Whitehouse M.W. Adjuvant arthritis 50 years on: The impact of the 1956 article by C.M. Pearson 'Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvants' // *Inflamm. Res.* -2007. –Vol.56. – P.133-138.

6. Cook C.D., Nickerson M.D. Nociceptive sensitivity and opioid antinociception and antihyperalgesia in Freund's adjuvant-induced arthritic male and female rats // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* -2005. –Vol. 313. – P.449-459.

7. Ganesan K., Selvam R., Abhirami R., et al. Gender differences and protective effects of testosterone in collagen induced arthritis in rats // *Rheumatol. Int.* -2008. –Vol.28. –P. 345-353.

8. Altman D.G., Bland J.M. How to randomize // *BMJ.* -1999. –Vol.319. –P.703-704.

9. Bartlett R.R., Schleyerbach R. Immunopharmacological profile of a novel isoxazol derivative, HWA 486, with potential antirheumatic activity--I. Disease modifying action on adjuvant arthritis of the rat // *Int. J. Immunopharmacol.* -1985. –Vol.7. –P. 7-18.

10. Blackham A., Burns J.W., Farmer J.B., et al. An X-ray analysis of adjuvant arthritis in the rat. The effect of prednisolone and indomethacin // *Agents Actions.* -1977. – Vol.7. –P. 145-151.

11. Fitzpatrick L.R., Green C., Frauenhoffer E.E., et al. Attenuation of arthritis in rodents by a novel orally-available inhibitor of sphingosine kinase // *Inflammopharmacology.* -2011. –Vol.19. –P. 75-87.

12. Badger A.M., Griswold D.E., Kapadia R., et al. Disease-modifying activity of SB 242235, a selective inhibitor of p38 mitogen-

activated protein kinase, in rat adjuvant-induced arthritis // *Arthritis Rheum.* -2000. – Vol.43. -P.175-183.

13. Hegen M., Sun L., Uozumi N., et al. Cytosolic phospholipase A2alpha-deficient mice are resistant to collagen-induced arthritis // *J. Exp. Med.* -2003.-Vol.197. –P.1297-1302.

14. Chang T.K., Huang C.H., Huang C.H., et al. The influence of long-term treadmill exercise on bone mass and articular cartilage in ovariectomized rats // *BMC Musculoskelet Disord.* -2010. –Vol.11. –P. 185.

15. Mankin H.J., Dorfman H., Lippiello L.,

Zarins A.: Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data // *J. Bone. Joint. Surg. Am.* -1971. – Vol.53. –P.523-537.

16. Ainooson G.K., Owusu G., Woode E., et al. *Trichilia monadelph*a bark extracts inhibit carrageenan-induced foot-oedema in the 7-day old chick and the oedema associated with adjuvant-induced arthritis in rats // *Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med.* -2012. – Vol9. –P.8-16.

УДК: 615.032

ГАРМОНИЗАЦИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ В СООТВЕТСТВИИ С РОССИЙСКИМИ И ЗАРУБЕЖНЫМИ ТРЕБОВАНИЯМИ

Авдеева О.И. – ведущий научный сотрудник, к.фарм.н., Макаренко И.Е. – младший научный сотрудник, Макарова М.Н. – д.м.н., Шекунова Е.В. – старший научный сотрудник, к.б.н., Кашкин В.А. – старший научный сотрудник, к.б.н., Макаров В.Г. – д.м.н., профессор, Институт экспериментальной фармакологии



РЕФЕРАТ

Исследование токсикологических аспектов лекарственных средств (ЛС) является одной из основных целей проведения доклинических исследований. Главным результатом данных исследований является доказательство безопасности применения ЛС для проведения клинических исследований. В последнее время происходит активная интеграция требований министерства здравоохранения РФ с нормами, предложенными Организацией экономического сотрудничества и развития (ОЭСР). В связи с этим, важным представляется проведение исследований в соответствии с международными нормами, но тем не менее не противоречащим Российскому законодательству. В данной статье рассмотрены основные проблемы, возникающие при проведении острой токсичности, приведены некоторые алгоритмы их решения.

Ключевые слова: классификация токсичности веществ; летальная доза; безопасность; доклинические исследования; классификация по К.К.Сидорову.

ВВЕДЕНИЕ

Доклинические токсикологические исследования направлены на выявление и оценку выраженности токсических эф-

фектов, возникающих при взаимодействии фармакологического вещества с организмом лабораторных животных. Согласно Федеральному закону от 12 апреля

2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» они являются неотъемлемой частью доклинических исследований, направленных на получение доказательств безопасности лекарственных средств (ЛС). Конечной целью доклинических токсикологических исследований является получение данных, достаточных для определения возможности и риска проведения клинических исследований (КИ) ЛС.

Острая токсичность — токсиметрическая характеристика фармакологического вещества или лекарственного средства, выражающая его способность вызывать гибель животных при однократном введении или при введении через короткие (не более 6 ч) интервалы времени в течение суток [1]. Дозы для введения не должны превышать предельно максимальные для данного вида животных [2].

Целью изучения острой токсичности является определение переносимых, токсических и летальных доз фармакологического вещества и причин наступления гибели животных с анализом клинической картины интоксикации.

Объем исследования острой токсичности:

- Летальность
- Клиническая картина интоксикации
- Динамика массы тела

- Оценка поведенческих реакций
- Макроскопическое исследование внутренних органов с оценкой их массовых коэффициентов
- Микроскопическое исследование (при недостаточности макроскопических исследований для однозначного выявления органа-мишени)

Основные классификации

По результатам изучения острой токсичности лекарственное средство или фармакологическая субстанция должны быть отнесены к определенному классу (категории) токсичности.

На сегодняшний день широко используются несколько классификаций.

1. Классификация Globally Harmonised hazard classification and compatible labeling System (GHS) [3]:

- ЛД₅₀ в/ж до 5 мг/кг – категория 1,
- ЛД₅₀ в/ж до 50 мг/кг – категория 2,
- ЛД₅₀ в/ж до 300 мг/кг – категория 3,
- ЛД₅₀ в/ж до 2000 мг/кг – категория 4,
- ЛД₅₀ в/ж до 5000 мг/кг – категория 5.

2. Hodge и Sterner [4].

3. Классификация по К.К.Сидорову [5].

4. ГОСТ 12.1.007-76 [6].

В целом различия между классификациями, при пероральном введении ЛС не столь велики, и во многом перекликаются (рис. 1).

Существует ряд вариантов изучения

Таблица 1

Классы токсичности по Hodge и Sterner (1943)

Класс токсичности	Используемый термин	Путь введения			Вероятная летальная доза для человека
		В/ж LD ₅₀ (крыса) мг/кг	Ингаляция LC ₅₀ (экспозиция крыс 4 часа) ppm	Наружное нанесение LD ₅₀ (кролик) мг/кг	
1	Чрезвычайно токсично	<1	<10	<5	Следы, 1 гран (0,07 г)
2	Высокотоксично	1-50	10-100	5-43	4 мл
3	Умеренно токсично	50-500	100-1000	44-340	30 мл
4	Малотоксично	500-5000	1000-10000	350-2810	600 мл
5	Практически нетоксично	5000-15000	10000-100000	2820-22590	1 л
6	Относительно безвредно	>15000	>100000	>22600	>1 литра

Таблица 2

Классы токсичности по Сидорову К.К. (1977)

Класс токсичности	Степень токсичности	Средняя смертельная доза (мг/кг) при введении:	
		под кожу	в брюшную полость
1	Чрезвычайно токсично	≤ 0,3	≤ 0,2
2	Высокотоксично	0,4 - 15	0,3 - 10,0
3	Умеренно токсично	16 - 150	11 - 100
4	Малотоксично	151 - 1500	101 - 1000
5	Практически нетоксично	1501 - 4500	1001 - 3000
6	Относительно безвредно	> 4500	> 3000

Таблица 3

Классы опасности по ГОСТ 12.1.007-76

Показатели	Класс опасности			
	Чрезвычайно опасные	Высоко опасные	Умеренно опасные	Малоопасные
ЛД ₅₀ внутрижелудочно, мг/кг	<15	15-150	151-5000	>5000
ЛД ₅₀ в подкожно, мг/кг	8	>8-80	>80-2000	>2000
ЛД ₅₀ внутрибрюшинно, мг/кг	4	>4-40	>40-1250	>2500
ЛД ₅₀ внутривенно, мг/кг	2	>2-20	>20-700	>700

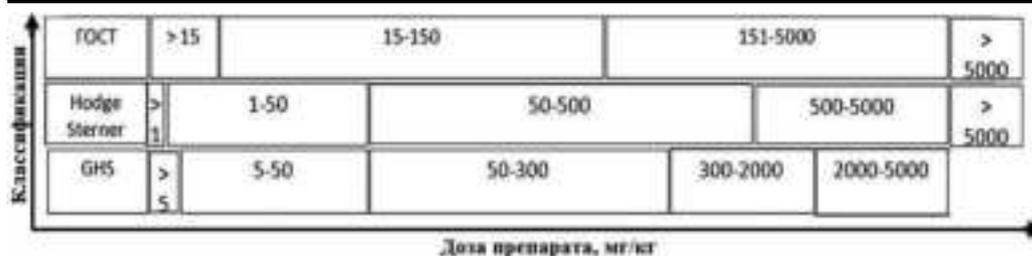


Рис. 1. Обобщенная схема классификации токсичности ЛС

острой токсичности, согласно отечественным и зарубежным нормативным документам. Но независимо от того, какой дизайн исследования будет выбран, основанием для выбора экспериментальных доз являются:

- литературные данные о летальных дозах ЛС,
- литературные данные о летальных дозах структурных аналогов ЛС,
- прогноз о токсичности на основании химической структуры вещества.

Схема изучения предполагает оценку токсичности ЛС по наблюдению за животными на протяжении 14 суток после введения. Оценку массы тела в динамике,

оценку массовых коэффициентов органов.

При регистрации сроков развития интоксикации оценивают первые 30 мин после введения препарата (или последней дозы дробного введения), затем ежедневно в течение 4 часов, затем через 24 часа.

Критериями являются: поведение, реакция на раздражители, состояние кожных покровов, слизистых оболочек, выделения: из глаз/из носа/из анального отверстия/из уретры, тонус мускулатуры, нарушение координации движений, одышка; смерть.

Клинический осмотр животных проводят на 1, 2, 7 и 14 дни, кроме случаев,

когда они должны быть удалены из группы и гуманно эвтаназированы или найдены мертвыми.

Выполняют подробный осмотр животного в клетке содержания, в руках и на открытой площадке. Отмечают проявление и выраженность, где приемлемо, признаки интоксикации.

Критериями являются: поведение, реакция на раздражители, упитанность, тонус мускулатуры, состояние шерсти, кожных покровов, их тургор, цвет, целостность, пальпируемые образования, состояние слизистых оболочек, глаз, носовой и ротовой полости. Также оценивают положение тела в пространстве, нарушение координации движения, тип дыхания, дефекация, и мочеиспускание.

Примеры

Изучение острой токсичности для токсичных веществ согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012).

Данное исследование направленно на изучение токсичности соединений, которые заведомо, на основании имеющихся данных, не могут быть отнесены к группе нетоксичных или малотоксичных веществ (LD_{50} (внутрижелудочно (в/ж)) < 2000 мг/кг).

Полученные результаты должны адекватно обеспечить возможность вычисления LD_{50} , что предполагает наличие среди изучаемых групп одной группы со 100% летальностью и одной, в которой гибель животных отсутствует.

К достоинствам данного метода можно отнести пригодность для любого пути введения, количество животных в группах достаточно для статистической обработки данных.

К недостаткам метода следует отнести большой расход животных, как следствие, высокая стоимость исследования.

Результат (LD_{50}) рассчитывается методом пробит-анализа.

Изучение острой токсичности для токсичных веществ методом up/down (вверх/вниз) на основании OECD 425

сичных веществ методом up/down (вверх/вниз) на основании OECD 425

Исследование основано на 425 Руководстве по изучению острой токсичности при внутрижелудочном введении – на основании процедуры вверх/вниз [7]. Использование данного подхода позволяет классифицировать химические субстанции на основании международной гармонизированной системы классификации опасности OECD.

Вариант 1. LD_{50} известна (рис.1.).

Коэффициент 3,2 - является половинным логарифмом от предыдущей дозы и также необходим для построения дозозависимых кривых и вычисления LD_{50} .

Как правило, при такой схеме эксперимента количество животных в эксперименте составит 6 самцов и 6 самок (т.е. если LD_{50} по литературным данным совпадет с экспериментальным значением). Результат рассчитывается методом максимальной вероятности.

Вариант 2. LD_{50} неизвестна, вещество считается высокотоксичным (рис.2).

Используя фактор прогрессии по умолчанию, дозы отбирают из последовательности 1.75, 5.5, 17.5, 55, 175, 550, 2000 (или 1.75, 5.5, 17.5, 55, 175, 550, 1750, 5000 для конкретных нормативных потребностей). Результат рассчитывается методом максимальной вероятности.

Изучение острой токсичности для нетоксичных веществ (на основании OECD 420)

Данное исследование направленно на изучение токсичности соединений, которые заведомо, на основании имеющихся данных, могут быть отнесены к группе нетоксичных или малотоксичных веществ. Исследование основано на 420 Руководстве по изучению острой токсичности при внутрижелудочном введении – на основании процедуры фиксированной дозы [8,9].

Вариант 1. Экспериментатор располагает достоверной информацией о том, что

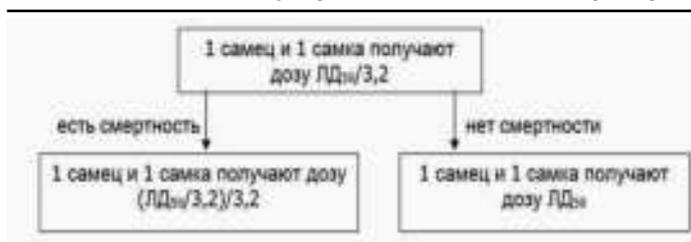


Рис.1. Схема при известном LD_{50}



Рис. 2. Схема при неизвестном LD_{50} и токсичном веществе



Рис. 3. Схема если экспериментатор располагает достоверной информацией о том, что исследуемое вещество нетоксично

исследуемое вещество нетоксично (рис. 3.)

Вариант 2. На основании имеющихся данных вещества могут быть отнесены к группе малотоксичных веществ: $2000 \text{ мг/кг} < LD_{50} < 5000 \text{ мг/кг}$

В исключительных случаях, когда это действительно необходимо, может быть протестирована доза 5000 мг/кг. Следуя гуманным принципам обращения с животными, тестирование дозы 5000 мг/кг следует избегать и тестирование проводить только тогда, когда полученные данные действительно внесут существенный вклад в изучение безопасности данного вещества (для людей, животных, окру-

жающей среды).

1. Предварительное исследование – выбор стартовой дозы.

Вариант 3. Максимальная доза ограничена предельными объемами для введения

Исследование направлено на изучение сравнительной токсичности лекарственных форм, применение которых заведомо не позволит достичь максимальных доз, приемлемых для изучения острой токсичности.

1. Предварительное исследование – выбор оптимальной стартовой дозы. Критерий выбора – умеренная картина интоксикации (рис. 4.).

Таким образом, основным отличием изучения острой токсичности ЛС по OECD планам исследования является бережное отношение к лабораторным животным, использование их только в минимальных количествах, необходимых

для оценки действия препарата.

Еще одним важным отличием является использование интервала между введениями различных доз, обусловленное характером течения интоксикации. Введение следующей дозы следует начинать только в том случае, если есть уверенность в том, что все животные на текущей дозе выживут. Рекомендуется интервал в 3-4 дня между тестированиями, что также обеспечивает экономное расходование лабораторных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, руководствуясь биоэтическими принципами обращения с

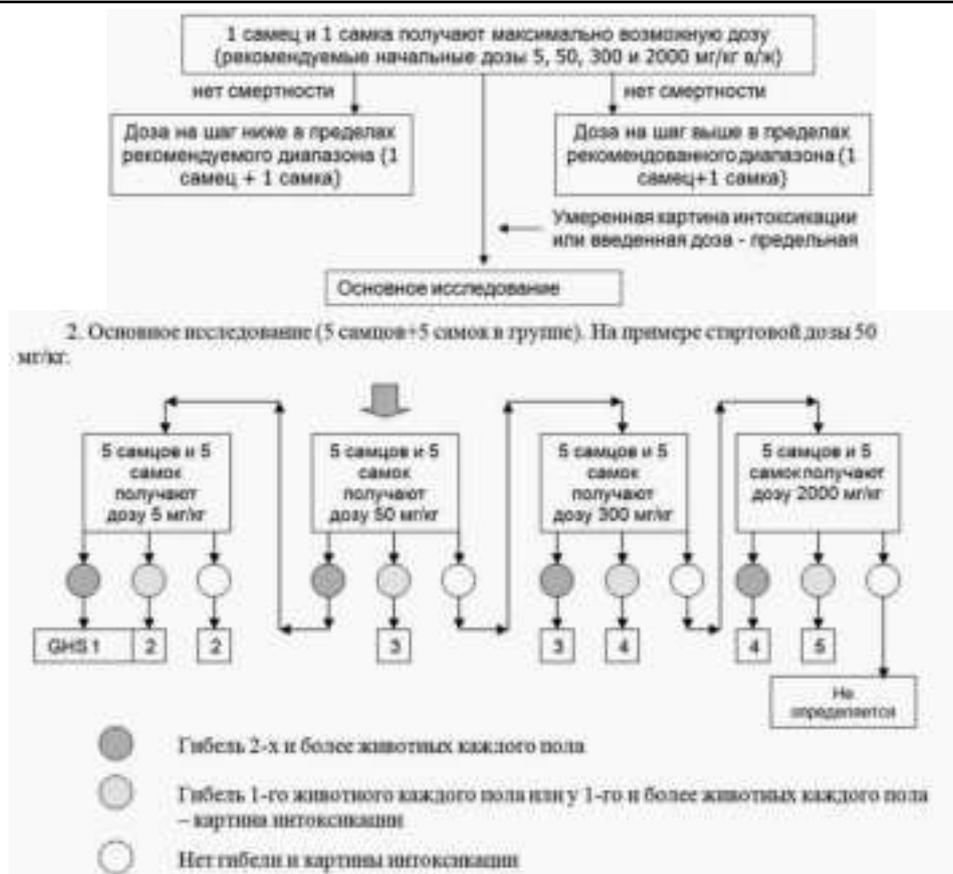


Рис. 4. Схема предварительного исследования – выбор оптимальной стартовой дозы. Критерий выбора – умеренная картина интоксикации

лабораторными животными, целесообразно использовать различные методы изучения острой токсичности, не уступающие друг другу по информативности. Выбор метода зависит от имеющихся данных о лекарственном веществе.

Harmonization studies of the acute toxicity in accordance with Russian and international requirements

O. Avdeeva, I. Makarenko, M. Makarova, E. Shekunova, V. Kashkin, V. Makarov.

ABSTRACT

The toxicological aspects study of a medicines is one of the main objectives of the preclinical trial. The main result of this

research is to prove the safety of drugs for clinical trials. There is an active integration requirements Ministry of Health of the Russian Federation with the standards proposed by the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). In this regard, important to conduct research in accordance with international standards, but nevertheless do not contradict the Russian law. This article describes the main issues arising in the course of acute toxicity, are some algorithms for their solution.

Key words: classification of toxic substances, lethal dose, security, preclinical studies, GHS, Hodge and Sterner.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – М.: Гриф и К. -2012. – 944с.
2. Макаренко И.Е., Авдеева О.И., Ванатиев Г.В., Рыбакова А.В. Ходько С.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным // Международный вестник ветеринарии. -2013. -№3. –С. 78-84.
3. Globally Harmonised System of classification and labelling of chemicals (GHS) Fifth revised edition. United Nations. New York and Geneva. -2013. -P.530.
4. Hodge H.C., Gosselin R.E., Smith R.P., Gleason M.N. Clinical Toxicology of Commercial Products // Acute Poisoning. 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. -1975. -P.427.
5. Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии: справочник.- М. -1977.- 240 с.
6. ГОСТ 12.1.007-76. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.
7. OECD (2008) Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP) No 425.
8. OECD (2001) Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure No 420.
9. Guidance Document on Acute Oral Toxicity No 24: Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment / OECD. Paris, № 24. 2001. 24 p.

