



ISSN 2072-2419

№ 1

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

INTERNATIONAL BULLETIN
OF VETERINARY MEDICINE



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2016

www.spbgavm.ru

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 29.03.2016

Подписано к печати 29.03.2016

Формат 70×100 1/16.

Бумага глянцева № 1. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 5,2+1,63 цв. вкл.

Усл. Кр.-отт. 18,2. Тираж 1001 экз.

Editor –in– chief

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

Managing Editor

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

Editorial Board

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

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

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

Technical Department

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

Sent to 03/10/2015

Signed for printing 14/09/2015

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: Университет ветеринарной медицины г. Вена, является старейшим академическим учебным и научным учреждением ветеринарной медицины в немецкоязычном мире. Он считается одним из лучших учебных заведений ветеринарной медицины в Европе. Его центральное внимание уделяется охране здоровья человека и животных и контролю за производством пищевых продуктов. Ветеринарные лечебницы являются интегрированным компонентом университета.

**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

Инвазионные болезни	<ul style="list-style-type: none"> • Сравнительная эффективность пиретроида и фипронилсодержащих препаратов при хориоптозе крупного рогатого скота. <i>Гаврилова Н.А.</i> 	7
Фармако-логия, токсикология, фармация	<ul style="list-style-type: none"> • Импортзамещение ветеринарных препаратов (необходимость, алгоритм разработки, регламентация). <i>Андреева Н.Л., Соколов В.Д., Лунегов А.М.</i> • Эффективность различных доз препарата Азифлумин при лечении острой бронхопневмонии поросят. <i>Лобова П.С., Абрамов В.Е.</i> • Аспекты решения проблемы антибиотикотерапии в ветеринарной практике. <i>Барышев В.А, Глушкова О.С., Лунегов А.М.</i> 	12 18 23
Зооигиена, Санитария, Кормление	<ul style="list-style-type: none"> • Симбиоз стрептомицина и ярко-красного антибиотика живого тела растений и животных. <i>Кулясов П.А</i> • Волховская губа ладожского озера как ист очник загрязнения р.Невы. <i>Арианица Н.М., Ляшенко О.А., Гребцов М.Р., Стекольников А.А. , Колосовская Е.В.</i> • Положительные и отрицательные аспекты диагностического использования мультиплексной полимеразной цепной реакции в реальном времени (REAL - TIME PCR). <i>Сухинин А.А., Макавчик С.А, Прасолова О.В.</i> 	28 35 41
Биохимия, анатомия, физиология	<ul style="list-style-type: none"> • Эхиноцитоз, интоксикация эритроцитов крыс фосфаколом и изменение уровня молекул средней массы. <i>Алистратова Ф. И. , Скопичев В.Г.</i> • Разработка энергометаболического состава и его эффективность для нормализации биохимических процессов при метаболическом ацидозе и кетозе у коров. <i>Евглевский А.А., Геков И.А., Михайлова И.И., Евглевская Е.П., Михайлова О.Н.</i> • Влияние доксирубина и экспериментальной коррекционной схемы на гистологические характеристики миокарда. <i>Олейников Д.А., Яшин А.В.</i> • Определение остаточных количеств цифлутрина в молоке овец после применения препарата Цифлунит-флок. <i>Глухарева Е.В., Бальшев А.В., Кочетков П.П, Кашковская Л.М.</i> • Антиагрегационные влияния сосудов на тромбоциты у телят молочного питания. <i>Завалишина С.Ю.</i> 	46 52 59 63 67
Экспериментальная фармакология	<ul style="list-style-type: none"> • Оценка стабильности суспензий лекарственных препаратов для введения лабораторным животным. <i>Косман В.М., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Гуцина С.В., Макарова М.Н.</i> • Анатомо-физиологическая характеристика пищеварительного тракта у человека и лабораторных животных. <i>Макарова М.Н., Рыбакова А.В., Гуцин Я.А., Шедько В.В., Мужижян А.А., Макаров В.Г.</i> • Экспериментальные модели когнитивных нарушений. <i>Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i> 	71 82 105

CONTENTS

Invasive disease	• Comparative effectiveness of pyrethroid and fipronil based drugs in cattle chori-optic mange. <i>N. Gavrilova.</i>	7
Pharmacology, toxicology, pharmacy	• Import substitution of veterinary drug (necessity, algorithm of development, regulation). <i>N. Andreeva, V. Sokolov, A. Lunegov.</i>	12
	• Efficacy of different dose regimens of Aziflumin in treatment of acute bronchopneumonia in pigs. <i>P. Lobova.</i>	18
	• Aspects to solve the problem antibiotic therapy in veterinary practice. <i>V. Barishev, O. Glushkov, A. Lunegov.</i>	23
Zoohygiene, Sanitation, Feeding	• Symbiosis of Streptomycin and Bright Red Antibiotic of Living Body of Plants and animals. <i>P. Kulyasov.</i>	28
	• The Volkhov Bay of Ladoga Lake as a Source of Pollution of the Neva River. <i>N. Arshanitsa, O. Liashenko, M. Grebtsov, A. Stekolnikov, E. Kolosovskaia.</i>	35
	• Positive and negative aspects of diagnostic usage of multiplex polymerase chain reaction in real time (Real - time PCR). <i>Suchinin A.A., Makavchik S.A., Prasolova O.V.</i>	41
Biochemistry, anatomy, physiology	• Echinocytosis, fosfakol intoxication of erythrocytes of rats and change of the level of molecules of average weight. <i>F. Alistratova, V. Skopichev.</i>	46
	• Development of energymetabolic composition and its effectiveness for normalization of biochemical processes in cows with metabolic acidosis and ketosis. <i>A. Evglevsky, I. Mikhailova, E. Evglevskaya, O. Mikhailova, I. Gecov.</i>	52
	• Influence of doxorubicin and experimental correction scheme on histological characteristics of cardiac muscle. <i>Oleinikov D.A., Iashin A.V.</i>	59
	• Determination of residues of cyfluthrin in milk of sheeps after treatment by Ciflunit-Flock. <i>E. Gluchareva, A. Balishev, P. Kochetkov.</i>	63
	• Antiaggregation influence vessels on platelet calves milk supply. <i>S. Zavalishina.</i>	67
Experimental pharmacology	• . Evaluation of stability of solid drugs suspensions for administration to laboratory animals. <i>V.M. Kosman, O.N. Pozharitskaya, A.N. Shikov, S.V. Gushcina, M.N. Makarova.</i>	71
	• Anatomical and physiological characteristics of digestive tract in humans and laboratory animals. <i>M. Makarova, A. Rybakova, Ya. Gushchin, V. Shedko, A. Muzhikyan, V. Makarov.</i>	82
	• Modeling of cognitive impairment. <i>Shekunova E., Kashkin V., Makarova M., Makarov V.</i>	105



СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПИРЕТРОИДА И ФИПРОНИЛСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ХОРИОПТОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Гаврилова Н.А. - к.в.н., доцент каф. паразитологии,
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты изучения эффективности эмульсии неостомазана и порошков, содержащих различную концентрацию фипронила, которые использованы при хориоптозе крупного рогатого скота. Длительное применение пиретроидов привело к снижению чувствительности к ним, в том числе и к тетраметрину. Неостомазан длительное время применяется при лечении животных, больных хориоптозом, что могло привести к появлению резистентных форм клещей. Возникла необходимость уточнить эффективность препарата, кратность обработок и сравнить его акарицидные свойства с препаратами, имеющими аналогичный механизм действия. Для определения эффективного препаратов и метода обработки при хориоптозе крупного рогатого скота на пораженные участки кожи применен порошок, содержащий 0,01% и 0,05% фипронила и эмульсия неостомазана (в разведении 2 мл на 400 мл воды). Кратность обработок определяли повторным взятием соскобов и обнаружением клещей или фаз их развития. Кроме того, определяли остаточное акарицидное действие препаратов на клещей рода *Chorioptes*. При хориоптозе у коров поражается корень хвоста, зеркало вымени, внутренняя поверхность бедер, поэтому необходимо применять такие формы лекарственных средств, которые легко наносятся и длительное время оказывают акарицидное действие. В результате эксперимента отмечено наиболее выраженное акарицидное действие при хориоптозе крупного рогатого скота у эмульсии неостомазана. Порошки, содержащие фипронил, обладают акарицидными свойствами в меньшей степени. Для лечения крупного рогатого скота целесообразно применять порошок, содержащий фипронил в концентрации не менее 0,05% и неостомазан. Рекомендовано, учитывая цикл развития паразита, обработки проводить этими препаратами с интервалом 7 дней, кратность обработок должна быть не менее трех.

Ключевые слова: хориоптоз, крупный рогатый скот, тетраметрин, фипронил, порошок.

ВВЕДЕНИЕ

Хориоптоз (кожеедная чесотка) широко распространен у крупного рогатого скота всех пород практически во всех климатических зонах. В Российской Федерации по данным Пузановой Е.В. (2011), Токарева А.Н. (2010), Лопатнико-

вой С.А. (2011) и др., инвазия зарегистрирована в разное время в Московской, Ленинградской, Псковской, Калининградской и др. областях [1,3, 5]. Отмечены случаи заражения крупного рогатого скота в Европе, Америке, в некоторых странах Азии. В отдельных случаях заражен-

ность крупного рогатого скота достигает 60% [2, 6, 7].

Хориоптоз крупного рогатого скота приносит хозяйствам значительный экономический ущерб. Лопатникова С.А. (2011), Токарев А.Н. (2010), Yeruham I. (1999) отмечали, что при данной инвазии удои снижаются на 20 %, ухудшается качество кожаного сырья, хозяйства несут экономические потери от затрат на проведение лечебно-профилактических мероприятий по ликвидации инвазии [1, 5, 6].

В настоящее время во многих животноводческих хозяйствах Северо-Западного округа наблюдается рост заболеваемости хориоптозом крупного рогатого скота [5]. Изучение эпизоотологических данных, клинических признаков болезни, методов и средств лечения и профилактики остается актуальной задачей для ветеринарных специалистов.

Средствами борьбы с акариформными клещами, в том числе и хориоптесами, являются препараты, относящиеся к различным классам соединений. Они отличаются по своей структуре и механизму действия, токсичностью для теплокровных, скоростью и характером метаболизма в организме и продолжительностью акарицидного действия [1, 2, 4, 7, 8].

При выборе метода обработки животных необходимо учитывать особенности биологии клеща, место обитания, способ добычи пищи. Хориоптесы паразитируют на поверхности кожи, что значительно облегчает достижение лечебного эффекта при использовании различных методов нанесения препаратов на кожу больного животного. Следует помнить, что после обработки погибают только активные фазы клещей (личинка, нимфы и имаго). В настоящее время не существует акарицидных препаратов, обладающих 100% овицидным действием, поэтому, учитывая цикл развития клеща, определяется время для последующих обработок [3, 6,

7].

Цель исследования. Препарат неостомазан, относящийся к группе синтетических пиретроидов, в качестве действующего вещества содержит 0,005% тетраметрина по ДВ. Длительное применение пиретроидов привело к снижению чувствительности к ним, в том числе и к тетраметрину [4, 7]. Так как неостомазан уже продолжительное время применяется при хориоптозе крупного рогатого скота, возникла необходимость выяснить его эффективность, уточнить кратность обработок и сравнить его акарицидные свойства с препаратами с аналогичным механизмом действия. Для сравнения различных форм препаратов решили выяснить эффективность порошков, содержащих фипронил - вещество из группы фенилпирозолов в различной концентрации. Фипронил так же, как и пиретроиды, блокирует ГАМК-зависимые рецепторы членистоногих, приводящие к параличу и гибели клещей. После нанесения препарата на кожу происходит постепенное распределение его по всей поверхности тела и, практически не всасываясь в системный кровоток, он накапливается в липидном слое, оказывая длительное контактное акарицидное действие [8].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Производственные опыты по изучению акарицидной активности препаратов проводили в период с января 2015 по январь 2016 года в АО ПЗ «Красногвардейский» Гатчинского р-на Ленинградской области.

С целью определения наиболее эффективного препарата и метода обработки при хориоптозе крупного рогатого скота на пораженные участки кожи наносили порошок, содержащий 0,01% и 0,05% фипронила и эмульсию неостомазана (в разведении 2 мл. на 400 мл воды).

Для сравнения эффективности препаратов сформировали 4 группы коров, больных хориоптозом, по 10 голов в каж-

дой. Животным из первой группы на места поражения в области корня хвоста, внутренней поверхности бедер наносили порошок, содержащий 0,01% фипронила. Коровам во второй группе обработку делали порошком с 0,05% содержанием фипронила. Животным из третьей группе на пораженные участки с помощью безыгольного шприца наносили эмульсию неостомазана. За животными четвертой (контрольной) группы вели наблюдение, очищали пораженные участки от корок, препаратов не применяли. Все группы были сформированы из коров в возрасте 3-4 лет, по принципу аналогов. Обработки повторяли с интервалом раз в 7 дней и их кратность определяли повторным взятием соскобов и обнаружением клещей или фаз их развития.

Кроме того, определяли остаточное акарицидное действие препаратов на клещей рода *Chorioptes*. Для этого от больных хориоптозом животных отбирали по 20 клещей и помещали их на салфетки размером 3x3 см, пропитанные вышеуказанными препаратами. Эти салфетки выкладывали в чашки Петри, нумеровали и далее хранили в термостате при температуре + 20 С° и влажности 87%. Согласно методике по отбору акарицидов, чашки Петри посматривали под микроскопом МБС-1 два раза в сутки, в течение двух недель, при этом обращали внимание на подвижность клещей, их активность и жизнеспособность.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

До начала эксперимента при обследовании поголовья различных возрастных и физиологических групп установили хориоптоз с ярко выраженной клинической картиной у дойных коров, которым инъекционные формы акарицидов применять крайне нежелательно (Рис.1). Для лечения животных в период лактации необходимо использовать наружные обработки. Учитывая тот факт, что при хориоптозе у коров поражается корень хвоста, зеркало

вымени, внутренняя поверхность бедер, необходимо применять такие формы лекарственных средств, которые легко наносятся и длительное время оказывают акарицидное действие.

При обработке пораженных мест порошком, содержащим фипронил в концентрации 0,01%, отметили, что у животных клинические признаки болезни не проходили после однократной обработки и в соскобе были обнаружены клещи *Ch.bovis* на всех фазах развития. После второй обработки отмечали незначительное улучшение состояния животного. Во время соскабливания корочек с пораженных участков животные оглядывались, прогибая спину, что является одним из признаков проявления зуда. В соскобах были обнаружены все фазы клещей, в незначительном количестве. В результате трехкратной обработки корочки стали тонкие, вновь образованных повреждений не наблюдали, однако в соскобах находили взрослые особи клещей, преимущественно самок, а также единичные яйца.

Во второй группе у животных, обработанных порошком с фипронилем в концентрации 0,05% улучшение состояния, уменьшение и размягчение корок, наступило после второй обработки, т.е. через 14 дней. При взятии соскобов животные проявляли беспокойство, в соскобах были обнаружены все фазы развития хориоптосов. В результате трехкратной обработки в соскобах находили толь имагинальные формы, яиц клещей не обнаружили. Корочки отторгались легко, кожа оставалась грубой, без шерстного покрова.

После обработки пораженных мест эмульсией неостомазана улучшение состояния кожного покрова, характеризующееся размягчением и отторжением корочек, наступило после однократного применения препарата. При взятии соскоба отмечали проявление зуда у животных и в соскобе были обнаружены все фазы развития паразита. Спустя две недели, после

двух обработок на коже в области пораженных участков кожа была чистая, гладкая, при микроскопии соскобов обнаружены единичные имагинальные формы. В результате трехкратного применения препарата в соскобах клещей хориоптесов и фаз их развития обнаружено не было.

У животных четвертой группы состояние не изменилось, животные при прикосновении к пораженным участкам кожи испытывали зуд, оглядывались, переступая конечностями прогибали спину, в соскобах находили большое количество клещей (до 10 особей в поле зрения при ув.7х8) на всех фазах развития, включая копуляцию (Рис.2).

Изучая остаточное акарицидное действие установили, что у порошка с содержанием фипронил 0,01% оно составляет 8 дней, у порошка с содержанием 0,05% фипронил оно длится 10 дней, у неостомазана 12 дней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате эксперимента отмечено наиболее выраженное акарицидное действие при хориоптозе крупного рогатого скота у неостомазана, несмотря на длительное использование его в терапевтических целях. Порошки, содержащие фипронил, обладают акарицидными свойствами в меньшей степени. Для лечения крупного рогатого скота целесообразно применять порошок, содержащий фипронил в концентрации 0,05% и неостомозан.

Учитывая цикл развития паразита, уничтожение препаратами только активных фаз клеща, необходимо обработки порошками, содержащими фипронил, проводить с интервалом 7 дней, а обработки неостомазаном, учитывая его остаточное акарицидное действие, с интервалом 10 дней. Кратность обработок должна быть не менее трех.

При наличии массивных корок необходимо провести их удаление, а затем препараты наносить не только на пораженные участки, но обязательно захваты-

вать около 2 см здоровой кожи.

Comparative Effectiveness of Pyrethroid and Fipronil Based Drugs in Cattle Chorioptic Mange.

N. Gavrilova.

ABSTRACT

The article presents the results of the research into efficiency of Neostomasan emulsion and powders containing Fipronil in various concentrations, used for treating chorioptic mange in cattle. Long-term use of Pyrethroid drugs, including Tetramethrin, has caused a reduction in sensitivity to them. Neostomasan has been used for treatment of animals with chorioptic mange for a long time, which could have resulted in emergence of resistant mites. Therefore, there is a need to clarify the drug efficiency and the treatment multiplicity, and to compare its acaricidal properties to those of drugs with similar mechanism of action. To estimate the drug efficiency and the effective treatment method for cattle with chorioptic mange, powder containing 0,01% and 0,05% Fipronil and Neostomasan emulsion (2 ml diluted to 400 ml with water) was applied on the affected skin area. The treatment multiplicity was estimated by re-scraping and detecting mites or their development stages. Furthermore, the residual acaricidal drug effect on *Chorioptes* mites was defined. Chorioptic mange in cows causes lesions on the tail head, rear udder and inner thighs; therefore, it is necessary to use drugs that are easily applied and have prolonged acaricidal action. The experiment revealed that Neostomasan emulsion had the most pronounced acaricidal effect on chorioptic mange in cattle. The acaricidal properties of Fipronil-containing powders are less pronounced. Fipronil-containing powders (with at least 0,05% Fipronil concentration) and Neostomasan should be used to treat cattle. Taking into consideration the parasite life cycle, it is recommended to apply these drugs at least 3 times, with a 7-day break.

Key words: Chorioptic mange, cattle,

Tetramethrin, Fipronil, powder.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лопатникова, С.А. Распространение хориоптоза крупного рогатого скота в хозяйствах Центральной полосы РФ, усовершенствование мер борьбы / С.А. Лопатникова, М.Ш. Акбаев // Российский паразитологический журнал. - 2011.- № 4. -С. 73 – 76.
2. Мешков, С. Оценка лечебной эффективности синтетического пиретроидного препарата баррикейд при хориоптозе крупного рогатого скота / С. Мешков, Д. Железков, Г. Пирнаев // Ветеринарна сбирка . – София. – 1984. –Т.82. – Вып. 1. –С. 31-32.
3. Пузанова, Е.В. Сравнительная характеристика морфологических особенностей клещей рода Chorioptes / Е.В. Пузанова // Ветеринарная патология. –2011. –№4. – С.137-138.
4. Ткачев, А.В. Пиретроидные инсектициды- аналоги природных защитных веществ растений / А.В. Ткачев // Соросовский образовательный журнал.– 2004.– Т.8.–№2.
5. Токарев, А.Н. Паразиты крупного рогатого скота, обнаруженные в хозяйствах Ленинградской области / А.Н. Токарев, С.В. Енгашев // Международный вестник ветеринарии. –2010. –№4. – С. 10-12.
6. Yeruham I., Rosen S., Hadani A. Chorioptic mange (Acarina: Psoroptidae) in domestic and wild ruminants in Israel // Exp. Appl. Acarol., 1999.- V.23.-№11.-P.861-869.
7. Haratym-Maj A. Hematological alternations after pyrethroids poisoning in mice / A. Haratym-Maj // Ann Agric Environ Med. – 2002. – Vol. 9. –P. 199-206.
8. Dryden, M. Control of fleas on naturally infested dog and cats and in private residences with topical spot applications of fipronil or imidacloprid / M. Dryden, T. Magid-Denenberg, S. Bunch // Veterinary Parasitology. – 2000. – Vol. 93.–P 69-75.



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК 619.615

ИМПОРТЗАМЕЩЕНИЕ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ (НЕОБХОДИМОСТЬ, АЛГОРИТМ РАЗРАБОТКИ, РЕГЛАМЕНТАЦИЯ)

Андреева Н.Л. - д.б.н., профессор, зав. кафедрой, Соколов В.Д. - д.вет.н., профессор, Лунегов А.М. - к.вет.н., доцент, кафедра фармакологии и токсикологии.
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Импортзамещение ветеринарных препаратов давно необходимо в России, из-за отсутствия государственной ветеринарной фармации, поскольку частные фармацевтические предприятия пока не в состоянии обеспечить рынок. В этом плане, разработка новых эффективных комбинированных лекарственных средств является существенным дополнением при создании новых лекарственных препаратов. Комбинированные лекарственные средства издавна производятся и применяются в медицине и ветеринарии. Однако эту работу следует значительно активизировать. Как? Срочно задействовать фармакологов сельхозвузов и НИИ. На кафедре фармакологии и токсикологии СПбГАВМ на протяжении ряда лет с успехом проводится создание новых комбинированных лекарственных средств при различных патологиях животных. При этом, используются специальные алгоритмы, позволяющие более полно и последовательно учесть все стадии создания новых препаратов. Например, алгоритм включает в себя: Тщательно выясняются проблемные патологии в животноводстве и наиболее эффективные и менее токсичные лекарственные средства, используемые в данный момент, которые берутся за эталон. Новый препарат должен тогда удовлетворять исследователей, когда он превосходит по основным фармакологическим позициям (эффективность и безвредность), или быть не хуже выбранного препарата сравнения и обязательно дешевле. Самым сложным моментом является регламентация разработанных препаратов, из-за большой дороговизны и целого вороха различных бумаг для контролируемых органов. Именно из-за этого у многих исследователей пропадает интерес заниматься этим нужным делом. Процесс усугубляется тем, что регламентацией новых препаратов занимается один центральный монополист на всю необъятную Россию. В свое время мы пытались доказать, что необходимы дополнительные альтернативные структуры при крупных научных структурах, способных с успехом дополнять работу центрального органа.

Ключевые слова; ветеринарная фармация, комбинированные препараты, алгоритм разработки, регламентация.

ВВЕДЕНИЕ

Вопрос не нов и связан не только с зарубежными санкциями по поставке лекарственных средств, поскольку наша отечественная фармация уже давно полностью не обеспечивает рынок необходимыми препаратами, как в медицине, так и в ветеринарии. При этом, если импорт лекарственных средств для плотоядных не особенно тревожит госструктуры – владелец любимой собачки или кошечки выложит любые деньги за препарат, то в животноводстве ситуация иная, хотя и в нем государство практически не регулирует ситуацию, а импортные препараты всегда, в том числе и сейчас, значительно дороже отечественных, а их-то, как раз и не хватает. Вот почему многие фармакологи ветеринарных и сельскохозяйственных вузов, а также НИИ занимались разработкой новых лекарственных средств, чтобы восполнить этот пробел. Естественно, речь не шла о создании совершенно нового оригинального лекарственного средства, а готовились в основном комбинированные препараты. Разработкой подобных лекарственных средств уже сравнительно длительное время занималась и наша кафедра. Оправдана ли подобная работа? Нам кажется, вполне. За это время были разработаны и внедрены в производство весьма эффективные и практически безопасные препараты при желудочно-кишечных, гинекологических, респираторных, хирургических и некоторых других патологиях сельскохозяйственных животных [16, 23, 26]. Многие из разработанных ранее препаратов до сих пор не утратили своей эффективности, причем при сравнении уже с новейшими импортными средствами, хотя стоимость их значительно дешевле. Идиллия? Не совсем так. Каждый препарат для того, чтобы его использовать для лечения животных должен быть регламентирован, то есть, рассмотрен в специальных государственных структурах, сертифицирован

и утвержден. Вот тут-то и начинались, впрочем, как и сейчас, основные сложности. Чтобы пройти подобное чистилище разработчик за один такой препарат должен выложить четверть миллиона, этой структуре, контролирующей качество ветеринарных препаратов в России. Скажите, у кого из исследователей найдутся такие средства? Нам кажется, и не без основания, что этот контролирующий орган является своеобразным тормозом и делает все, чтобы не допустить отечественные комбинированные средства в животноводство. Сотрудники этого удивительного органа обычно отвечают, что фармакологи просто смешивают первые попавшие под руку лекарственные средства и предлагают их для лечения. Пытаюсь объяснить, что это далеко не так.

При этом всевозможные трудности и различные субъективные и объективные помехи начинаются сразу при возникновении идеи разработки подобного комбинированного средства. Это и отсутствие средств на проведение НИР, (нет, не для самих разработчиков, а для лабораторных животных и кормов на их содержание, приобретение необходимых реактивов и лекарственных средств и т.д.), и определенный психологический барьер между людьми, контролирующими и регламентирующими новые лекарственные средства и масса других неувязок. Ведь чиновникам все эти неувязки также известны и они естественно с большим недоверием относятся к любой отечественной разработке, представленной из ВУЗа или НИИ. Им, почему то не понять, что многие исследователи, практически без личной материальной заинтересованности любыми путями и средствами выполняют подобную работу. Как, например, мы выходим из подобной тупиковой ситуации? Изыскиваем источники субсидирования среди заинтересованных лиц, хозяйств, организаций, используем студенческий и аспирантский потенциал (тяга к

новому). То есть, затрачиваем массу своего свободного времени. А это делать могут далеко не все. Нам кажется, что подобные исследователи «не от мира сего», особенно когда спотыкаемся на последнем этапе – регламентации разработанного средства. Не случайно, многие разработчики после одного-двух подобных финалов, теряют интерес к любым исследованиям. И, наконец, один из главных движителей в проведении подобных исследований – глубокие знания своей науки и патологии, против которой разрабатывается препарат. Потому что, без подобных знаний браться за эту работу, весьма сложно. К сожалению, правда, весьма редко, подобные разработки (даже регламентированные!) встречаются. Следует добавить, что очень важным моментом при разработке новых комбинированных средств, является ранее накопленный научный потенциал с находками эффективных препаратов. Не случайно, что почти во всех ранее разработанных препаратах мы использовали диоксидин, метилурацил и натрия хлорид [1, 18, 21, 27, 28]. Кстати, все эти препараты, весьма эффективны при многих болезнях, сопровождающихся воспалительными процессами и патогенной микрофлорой. Используем эти препараты и в настоящее время. Конечно, добавляем и новые. Еще ранее мы установили, что ионное (коллоидное) серебро проявляет выраженный синергизм антимикробного действия со многими антимикробными химиопрепаратами, что было подтверждено и в условиях производства [13, 20]. Недавно, на основе этого препарата разработан эффективный антисептик фурагент [2, 8, 9, 10], а затем совместно с кафедрой эпизоотологии и исследователями из Московского НИИ – препарат аргумистин, для лечения сельскохозяйственных животных. Считаем, что это направление будет также весьма перспективным [12].

Таким образом, на кафедре фармако-

логии и токсикологии СПбГАВМ на протяжении ряда лет с успехом проводится создание новых комбинированных лекарственных средств при различных патологиях животных. При этом используются специальные алгоритмы, позволяющие более полно и последовательно учесть все стадии создания новых препаратов [4, 5]. В тоже время, алгоритм не является незыблемой, устоявшейся догмой, он постоянно дополняется новыми сведениями, хотя основные его стадии сохраняются. Именно эти стадии позволяют создать высокоэффективный и не токсичный препарат. Эти стадии алгоритма включают в себя: 1. Тщательно выясняются проблемные патологии в животноводстве и наиболее эффективные и менее токсичные лекарственные средства, используемые в данный момент, которые берутся за эталон. 2. Не менее тщательно изучается патогенез болезни, для лечения которой разрабатывается препарат. 3. Определяются основные патологические мишени болезни. 4. Подбираются лекарственные вещества, воздействующие на эти мишени, с обязательным учетом минимального побочного действия. 5. Определяется совместимость подобранных веществ. 6. Готовится наиболее оптимальная лекарственная форма. 7. Испытывается полученный препарат на лабораторных животных. 8. По всем параметрам изучается токсичность сначала на лабораторных животных. 9. Изучается эффективность препарата, в зависимости от патологии. 10. Проводятся предварительные производственные испытания на ограниченном контингенте пользовательных животных. Новый препарат должен тогда удовлетворять исследователей, когда он превосходит по основным фармакологическим позициям (эффективность и безвредность), или быть не хуже выбранного препарата сравнения и обязательно дешевле. 11. Регламентация нового препарата. Так, например, был разработан антидиа-

рейный препарат «Диарин», который и в настоящее время является одним из лучших при лечении желудочно-кишечных болезней молодняка сельскохозяйственных животных и плотоядных. Производственные испытания, проведенные на многотысячном поголовье разных видов животных, показали высокую лечебно-профилактическую эффективность диарина не только в России, но и за ее пределами [3, 6, 7, 17]. По подобным алгоритмам разрабатывались и другие наши препараты: гинекологические – метрин, мастин, антидиарейные – диарин, энтерин и др., противопаразитарные – акаробор, отин и др., хирургические препараты – мази диметол, химедим, присыпка ЗАП, иммуностимулирующие –эраконд, маримикс 5:0 и др., позволяющие значительно повысить эффективность химиотерапии [19, 24, 25]. Кстати, новое научное направление ветеринарной фармакологии – ветеринарная иммунофармакология, было представлено и обсуждено на первой нашей научной конференции в 1989 году [14, 15, 16]. При этом совместно с некоторыми фирмами нам удалось разработать и получить отдельные оригинальные препараты, например, иммуностимулятор из гнотобионтов, проявляющий целую серию позитивных фармакологических эффектов (препарат регламентирован) и антимикробный препарат из нового химического соединения (проходит апробацию) [11, 22]. Справедливости ради, следует заметить, что некоторые российские структуры вдруг обратили внимание на подобные исследования и нам по кластеру выделили определенные средства для разработки новых и завершения начатых научных разработок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опыт прошедших лет убедительно показал, что исследователи сельскохозяйственных вузов и НИИ могут активизировать работу по разработке новых лекарственных средств для животных, снижая

их дефицит и стоимость. Этот процесс может значительно оживиться, если появятся альтернативные структуры по регламентации новых препаратов. Предлагалось пять подобных центров: в Санкт-Петербурге, Воронеже, Новосибирске, Краснодаре, Троицке. Появление подобного органа при Всероссийском НИВИ патологии, фармакологии и терапии (г.Воронеж) вселяет оптимизм и надежду у исследователей. Возможно, наконец-то «лед тронулся», о чем мы твердили еще в Союзе. Конечно, одного подобного альтернативного органа недостаточно, но как говорят «лиха беда начало».

Import substitution of veterinary drug (necessity, algorithm of development, regulation).

N. Andreeva, V. Sokolov, A. Lunegov.

ABSTRACT

Import substitution of veterinary drugs has been necessary in Russia for a long time ago, due to the lack of the state veterinary pharmacy, because the private pharmaceutical factories aren't able to provide the market yet. At this point of view, the development of the new effective combined medicines is essential addition in creation of new medicines. The combined medicines have been produced for a long time ago and applied in medicine and veterinary science. However this work should be activated considerably. How? We have to involve immediately pharmacologists of agricultural higher education institutions and scientific research institutions. On department of pharmacology and toxicology of Saint-Petersburg State Academy of Veterinary Medicine for a row of years with success creation of the new combined medicines at various pathologies of animals is carried out. Thus the special algorithms are applied, that allow more fully and consistently all stages of creation of new preparations to be used. For example, the algorithm includes: clarification of problem pathologies in livestock farming and the most effective and less toxic medicines

which are used at present time and taken as a standard. Not less careful studying of pathogenesis of an illness for which treatment the preparation is developed. Definition of the main pathological targets of an illness. Selection of the medicinal substances influencing these targets with the obligatory accounting of the minimum side effect. Check of compatibility of the picked-up substances. Choice of the most optimum dosage form. Testing of the developed drug on laboratory animals. Studying all parameters of toxicity of a drug on laboratory animals. Studying of efficiency of a preparation, depending on pathology. Preliminary production tests on the limited contingent of the used animals. The new drug has to satisfy researchers in the cases, when it exceeds at the main pharmacological positions (efficiency and harmlessness), or when is not worse than the chosen drug of comparison and it is obligatory cheaper. And regulation of a new drug. So, for example, antidiarrheal, gynecologic, surgical, some antiparasitic, immunostimulating drugs were produced which nowadays don't conceded to the import ones. Unfortunately, the most difficult moment is the regulation of the developed drugs, because of the high cost and the great amount of various papers for control organizations. Exactly because of this factor many researchers lose their interest to be engaged in this necessary business. Process is aggravated with the fact that one central monopolist to all immense Russia is engaged in a regulation of new drugs. Some time ago we tried to prove the necessity of the additional alternative structures at the large scientific structures which are capable to compliment with success the work of the central structures.

Key words: veterinary pharmacy, combined drugs, algorithm of development, regulation.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Н.Л., Бацанов В.Д. Войтенко. Фармако-токсиколо-гические свойства диарина // Ветеринария. -2002. -№8. -С.

44-45.

2. Андреева Н.Л., Лунегов А.М. Новый антисептик в ветеринарии // Ветеринарная медицина домашних животных. – Казань. -2007. – №4. – С. 29 – 30.

3. Андреева Н.Л., Власова Л.М., Петрова О.Г., Усмонова Н.П. Изучение эффективности противозндометритных и антидиарейных средств // Мат. 4 съезда вет. фарм-в и ток-в России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации». -М. – 2013. – С.45-48.

4. Андреева Н.Л., Соколов В.Д. Алгоритм разработки комбинированных лекарственных средств // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – №3. – С.18-23.

5. Андреева Н.Л., Соколов В.Д. Научные подходы к разработке комбинированных препаратов (алгоритм разработки) // Проблемы и пути развития ветеринарии высокотех-го живот-ва. Мат. межд. науч.-пр. конф. -2015. -С. 48-50.

6. Власова Л.М. Разработка и испытание антидиарейного средства энтерин // Ветеринарная практика. -СПб. -2008. - №3. С.108-110.

7. Петрова О.Г., Соколов В.Д. Проверка эффективности антидиарейных // Мат. II меж. кон. вет. фар-в и ток-в, посвящённого восьмидесятилетию засл. деят. науки РФ, проф. Соколова В.Д. «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии». СПб., 2012. С.208-209.

8. Лунегов А.М. Антимикробные свойства фураргента // Мат. Вт. Всерос. науч.-пр. кон. «Ветеринарная медицина – теория, практика и обучение». – СПб., 2007. – С. 42.

9. Лунегов А.М. Фармакологическая характеристика антисептического препарата фураргент // Международный вестник ветеринарии. – 2008. – № 1. – С. 33 – 38.

10. Лунегов А.М. Фураргент – новый эффективный антисептик / Н.Л. Андреева, А.М. Лунегов // Ветеринарная практика –

2008. № 1 (40). – С. 48 – 50.
11. Ришко О.А. Исследование эффективности применения кормовых добавок «Гастровет» и «Гидроактив» при диспепсии у новорожденных телят в условиях хозяйства // *Международный вестник ветеринарии* – 2014. – №1. – С.20-25.
12. Скриплева Т.А. Применение ветеринарного препарата на основе наночастиц серебра для лечения телят с желудочно-кишечными болезнями / Т.А. Скриплева, В.А. Кузьмин, А.М. Лунегов, А.В. Забровская, Ю.А. Крутяков // *Международный вестник ветеринарии* – 2015. – №3. – С.43-48.
13. Соколов В.Д. Применение аэрозолей ионного серебра при пуллорозе-тифе и колибактериозе цыплят / В.Д.Соколов, Н.А. Соловьян // *Ветеринария*. – 1973. – №8. – С.72.
14. Соколов В.Д. Новые научные направления ветеринарной фармакологии // Тезисы докладов 1-й науч.-пр. кон. «Новые фармакологические средства в ветеринарии». – Л. 1989. – С.3-4-
15. Соколов В.Д. Комбинированное применение антимикробных средств / В.Д.Соколов // *Сборник трудов ЛВИ*. – Л. – 1990. – С.5-9.
16. Соколов В.Д. Больше внимания лекарственной токсикологии / В.Д.Соколов // *Ветеринария*. – 1991. – №5. – С.67-69.
17. Соколов В.Д. Этот чудодейственный Диарин / В.Д.Соколов, Н.Л.Андреева, Н.П.Бацанов и соавт. // *Методические рекомендации*. – СПб. – 1999. – 11с.
18. Соколов В.Д. Комбинированные лекарственные средства (сообщение 1 Диарин) / В.Д.Соколов, Н.Л. Андреева, В.Д. Войтенко, Т.В. Абакумова // *Зооиндустрия*. – 2004. – №9. – С.8-10.
19. Соколов В.Д. Эффективность и безопасность лекарственных средств (проблемы, подходы к решению) / В.Д.Соколов, Н.Л. Андреева // *Международный вестник ветеринарии* – 2008. – №2. – С.6-11.
20. Соколов В.Д. Перспективы использования ионного серебра в птицеводстве / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева, А.М. Лунегов // *Мат. сем. «Перспективы и преимущества применения ветеринарных препаратов и пищевых добавок на основе молочной кислоты»*. – СПб., 2008. – С. 36-39.
21. Соколов В.Д. Диоксидин и препараты на его основе / В.Д.Соколов, Н.Л. Андреева, В.Д. Войтенко, В.Е. Абрамов // *Ветеринария*. – 2010. – № 11. – С.44-48.
22. Соколов В.Д. Новый биологически активный препарат Маримикс 5:0 / В.Д. Соколов, Н.Л.Андреева, О.С. Попова // *Международный вестник ветеринарии*.– 2011.–№1. – С.6-10.
23. Соколов В.Д. Перспективные НИР в фармакологии, токсикологии и фармации / В.Д. Соколов, Н.Л.Андреева // *Мат. 4-го съезда вет. фарм-в и токсикологов России*. М. –2013. – С.529-532.
24. Соколов В.Д. Повышать эффективность и безопасность лекарств / В.Д. Соколов, Н.Л.Андреева // *Международный вестник ветеринарии*. – 2014. –№4. – С.8-13.
25. Соколов В.Д. Проблемы известны, по возможности их необходимо решать / В.Д. Соколов, Н.Л.Андреева // *Материалы 5-го съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России*. Витебск. –2015. – С.9-10.
26. Яшин А.В. Комплексный метод лечения диареи телят с использованием средств фитотерапии / А.В.Яшин, П.С. Киселенко // *Международный вестник ветеринарии* – 2014. – №1. – С.12-15..
27. Lazon J. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies / J.Lazon, V.H.Pomeranz, P.N.Corey // *Jama*, 1998. – Vol. 279 (15) – P. 1200-1205.
28. Moore N. Frequency and cost of serious adverse drug reactions in a department of general medicine / N.Moore, D.Lecoinere, C.Noblet, M. Mobbille // *Brit J. Pharmacol*. 1998. - Vol. 45. P.301-308.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ПРЕПАРАТА АЗИФЛУМИН ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОСТРОЙ БРОНХОПНЕВМОНИИ ПОРОСЯТ

Лобова П.С. - к.б.н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»,

Абрамов В.Е. - д.в.н., профессор, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ "Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрабина"



РЕФЕРАТ

Статья посвящена установлению эффективной терапевтической дозы нового антибактериального препарата Азифлумина на основе азитромицина (10%) и флуниксина (5%), рекомендованного для лечения бронхопневмонии поросят. В качестве препарата сравнения использовали Энроксил, содержащий в качестве действующего вещества 10% энрофлоксацина. В опыте были испытаны 2 дозы Азифлума: 0,04 и 0,05 мл/кг массы животного. Обе дозы вводили двукратно с интервалом 24 часа. Нормализацию состояния поросят отмечали на 3 сутки эксперимента: снижение температуры тела, уменьшение кашля и носовых истечений, облегчение дыхания. Уровень лейкоцитов соответствовал физиологической норме у поросят, получавших Азифлумин в дозе 0,05 мл/кг, на 7 сутки опыта; у поросят в другой опытной и в контрольной группе этот показатель снизился до нормального уровня на 14 сутки от начала лечения. Другие гематологические и биохимические показатели соответствовали физиологической норме на 7 сутки опыта во всех группах. Обе испытанные дозы Азифлума оказали необходимое терапевтическое действие при лечении острой бронхопневмонии поросят и не уступали по эффективности препарату сравнения Энроксилю. При введении Азифлума в дозе 0,05 мл/кг выздоровление наступало быстрее: через 7-10 суток клинические признаки заболевания у поросят отсутствовали. При введении препарата в меньшей дозе 0,04 мл/кг выздоровление наступало на 10-12 сутки, а в контрольной группе – на 8-12 сутки.

Ключевые слова: азитромицин, флуниксин, эффективность, бронхопневмония, поросята.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время ветеринарная медицина располагает значительным арсеналом эффективных и доступных с экономической точки зрения лекарственных препаратов. Тем не менее, из года в год уровень заболеваемости продуктивных животных, особенно инфекционными болезнями, не только не уменьшается, но в некоторых регионах даже увеличивается, нанося серьезный экономический ущерб [2]. Часто причиной недостаточной эффективности лечебно-профилактических

мероприятий является устойчивость патогенной микрофлоры к антибактериальным соединениям, что в свою очередь обусловлено неправильным их применением [3]. В связи с этим по-прежнему актуальным остаётся разработка и внедрение в ветеринарную практику новых антибактериальных препаратов, к которым у микроорганизмов еще не сформировалась устойчивость. Другим важным аспектом, который необходимо учитывать при создании новых препаратов, является широкий спектр действия нового

лекарственного средства, так как в условиях хозяйства может быть затруднительно выделить, типировать бактерии и определить их чувствительность к антибиотикам.

В этой связи представляется перспективным использование азитромицина для лечения бактериальных инфекций животных, так как это соединение обладает как достаточно широким спектром антибактериального действия, так и активностью в отношении внутриклеточных возбудителей – микоплазм и хламидий, которые играют значительную роль в патологии инфекционных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных [1, 4, 5]. Для купирования воспалительного процесса и облегчения состояния животных в состав лекарственного препарата был введен второй компонент из группы нестероидных противовоспалительных средств – флуниксин. Целью данной работы было изучение эффективности лекарственного препарата на основе азитромицина и флуниксина при лечении острой бронхопневмонии поросят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опыт было отобрано 16 больных бронхопневмонией поросенка вислоухой белой породы в возрасте до 5 недель массой 12,0-14,0 кг и 6 больных подсвинков 3,5-4 месячного возраста массой 40 - 45 кг, из которых были сформированы 2 опытные и 1 контрольная группы. В каждой опытной группе было по 6 поросят-сосунов и по 2 подсвинка; в контрольной группе было 2 подсвинка и 4 поросенка-сосуна.

Диагноз ставили ветеринарные врачи свинокомплекса на основании клинических симптомов болезни, гематологических и биохимических исследований. Для гематологических и биохимических исследований кровь брали у поросят младшего возраста из хвостовой вены, у подсвинков из ушной вены до лечения, на 7 и 14 сутки эксперимента.

У больных бронхопневмонией поросят наблюдали угнетенное состояние и общую слабость, повышение температуры тела до 41⁰С, частый сухой и болезненный кашель, напряженное поверхностное дыхание, появление серозных, а затем серозно-катаральных носовых истечений. При аускультации легких отмечали бронхиальное дыхание и хрипы, при перкуссии - очаги притупления. Данные гематологических и биохимических исследований показали, что у поросят во всех группах до лечения было снижено или находилось на нижней границе физиологической нормы содержание гемоглобина и эритроцитов (88-90 г/л и 5,8-6,1 x10¹²/л соответственно); отмечено значительное повышение содержания лейкоцитов, которое превышало верхние границы физиологической нормы (19-21x10⁹/л).

За животными опытных и контрольных групп вели клиническое наблюдение, учитывая состояние поросят, аппетит, сроки выздоровления, количество павших и выздоровевших животных.

Каждой опытной группе поросят, больных бронхопневмонией, применяли препарат Азифлумин внутримышечно в область затылка в следующих дозах: 1-й группе 0,04 мл/кг, 2-й группе - 0,05 мл/кг массы животного, 2 дня подряд.

Контрольным животным применяли Энроксил внутримышечно в дозе 0,05 мл/кг массы животного в течение 2 дней подряд.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При лечении бронхопневмонии поросят 1 группы, которым Азифлумин вводили двукратно интервалом 24 часа в дозе 0,04 мл/кг массы животного, уже в первые сутки после введения препарата отмечали снижение температуры до 39,5-40⁰С, однако к концу первых суток температура снова повысилась до 40,5-40,8⁰С. Температура тела перестала повышаться на 3 сутки и составляла 39,5±0,3⁰С; серозно-катаральное истече-

Таблица 1
Эффективность разных доз Азифлумина при лечении острой бронхопневмонии поросят

Показатели	Группа животных		
	1 опыт	2 опыт	3 контр
Количество животных, голов	8	8	6
Доза препарата, мл/ кг массы	0,04	0,05	0,05 мл/кг
Кратность введения	2	2	2
Интервал между введениями, ч	24	24	24
Выздоровело, голов	8	8	6
Пало, голов	-	-	-
Вынужденно убитых, голов	-	-	-
Клиническое выздоровление, сутки	10-12	7-10	8-12
Сохранность, %	100	100	100

ние из носовых отверстий почти прекратилось на 8 сутки, кашель стал менее выражен на 4 сутки.

Результаты оценки эффективности лечения бронхопневмонии поросят Азифлумином в сравнении с Энроксилем представлены в таблице 1.

При проведении гематологических и биохимических исследований на 7 сутки эксперимента было установлено, что у поросят 1 опытной группы повысился уровень гемоглобина до $91,2 \pm 5,4$ г/л (на 3,05% по сравнению с исходным показателем), эритроцитов – до $6,2 \pm 0,2 \times 10^{12}$ /л (на 6,9%); снизилось содержание лейкоцитов до $18,6 \pm 0,9 \times 10^9$ /л (на 12,68%), общего белка – до $75 \pm 7,64$ г/л (на 2,6%), билирубина – до $1,02 \pm 0,08$ мкмоль/л (на 4,67%), уровень ферментов печени аланинаминотрансферазы и аспаратамино-трансферазы уменьшился соответственно до $29,5 \pm 4,16$ и $35,7 \pm 1,12$ ЕД/л (на 2,46 и

4,36%).

Клиническое состояние животных полностью нормализовалось на 10 - 12 сутки.

При аускультации в легких регистрировали чистое везикулярное дыхание. При перкуссии отмечали ясный легочный звук. Хрипы, очаги притупления в легких и кашель отсутствовали.

На 14 сутки опыта все гематологические показатели находились в пределах физиологической нормы; уровень лейкоцитов снизился до $15,2 \pm 1,03 \times 10^9$ /л по сравнению со значением до начала лечения – $21,3 \pm 1,22 \times 10^9$ /л.

Во второй группе поросят, которым Азифлумин вводили двукратно с интервалом 24 часа в дозе 0,05 мл/кг массы животного, температура тела поросят нормализовалась к началу 3-х суток. Клиническое выздоровление животных наблюдалось на 7-10 сутки опыта: прекраща-

лись истечения из носовых отверстий, не прослушивались хрипы при аускультации.

На 7 сутки при анализе гематологических и биохимических показателей было установлено, что у поросят во 2 опытной группе повысился уровень гемоглобина до $92,8 \pm 4,2$ г/л (на 2,9% по сравнению с исходным уровнем), эритроцитов – до $6,5 \pm 0,2 \times 10^{12}$ /л (на 6,6%); снизилось содержание лейкоцитов до $15,7 \pm 0,88 \times 10^9$ /л (на 16,49%), общего белка – до $77 \pm 7,73$ г/л (на 3,75%), билирубина – до $0,91 \pm 0,07$ мкмоль/л (на 5,2%); активность ферментов печени аланинаминотрансфераз и аспартатаминотрансферазы уменьшилась соответственно до $34,8 \pm 3,7$ и $28,1 \pm 1,83$ ЕД/л (на 1,78 и 4,13%).

На 14 сутки опыта все гематологические показатели находились в пределах физиологической нормы; уровень лейкоцитов снизился до $13,9 \pm 0,65 \times 10^9$ /л по сравнению со значением до начала лечения – $18,8 \pm 1,36 \times 10^9$ /л.

На 7 и 14 сутки исследований у поросят 1 и 2 опытных групп морфологические и биохимические показатели находились в пределах физиологической нормы.

Лечение бронхопневмонии поросят Энроксилем 10% способствовало понижению температуры тела до физиологической нормы к концу 4 суток. Клиническое состояние поросят нормализовалось на 8 - 12 сутки опыта. Дыхание у животных становилось мягче, хрипы практически не прослушивались. На 14 сутки очагов притупления в легких и хрипов у животных не обнаруживали.

При исследовании гематологических и биохимических показателей на 7 сутки было установлено, что содержание гемоглобина повысилось до $91,5 \pm 6,1$ г/л (на 2,57% по сравнению с исходным уровнем), количество эритроцитов – до $6,2 \pm 0,3 \times 10^{12}$ /л (на 5,08%), понизилось содержание лейкоцитов – до $17,9 \times 10^9$ /л (на 10,95%), общего белка – до $72 \pm 8,96$ г/

л (на 2,7%), билирубина – до $0,97 \pm 0,05$ мкмоль/л (на 4,9%) и активность ферментов печени аланинаминотрансфераз и аспартатаминотрансферазы уменьшилась соответственно до $33,8 \pm 5,22$ и $32,8 \pm 0,97$ ЕД/л (на 4,34 и 2,88%).

На 14 сутки опыта все гематологические показатели находились в пределах физиологической нормы; уровень лейкоцитов снизился до $15,4 \pm 0,74 \times 10^9$ /л по сравнению со значением до начала лечения – $20,1 \pm 1,06 \times 10^9$ /л.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что Азифлумин по эффективности лечения бронхопневмонии поросят не уступал широко применяемому в ветеринарной практике препарату Энроксил. Обе испытанные дозы Азифлумина – 0,04 и 0,05 мл/кг – были эффективны, что подтвердилось полным клиническим выздоровлением поросят в опытных группах на 7-12 сутки опыта и нормализацией гематологических и биохимических показателей. Следует отметить, что в группе поросят, которым вводили дозу 0,05 мл/кг, клиническое выздоровление наступало быстрее (на 7-10 сутки от начала лечения) как в сравнении с контрольной группой (выздоровление на 8-12 сутки), так и с группой, получавшей Азифлумин в дозе 0,04 мл/кг (выздоровление на 10-12 сутки). В группе, получавшей более высокую дозу экспериментального препарата, также быстрее нормализовалось количество лейкоцитов: уже на 7 сутки после первого введения препарата показатель соответствовал физиологической норме, в то время как в двух других группах через 7 суток этот показатель еще превышал нормальное значение.

Таким образом, можно рекомендовать применение Азифлумина для лечения острой бронхопневмонии поросят в дозе 0,05 мл/кг двукратно с интервалом 24 часа.

Efficacy of different dose regimens of

Aziflumin in treatment of acute bronchopneumonia in pigs.

P. Lobova.

ABSTRACT

The article is due to estimation of effective therapeutic dose of new antibacterial formulation called Aziflumin contained azithromycin (10%) and flunixin (5%) as active ingredients in treatment of acute bronchopneumonia in pigs. Enroxil was used as referent preparation for treatment of control group. 2 doses of Aziflumin were tested: 0,04 and 0,05 ml/kg b.w. Pigs were treated twice with 24 hour interval. Clinical condition was normalized on the 3rd day of experiment: declining of body temperature, reducing of cough and nasal expiration, relief of breathing. Leucocyte count reached physiological normal state on the 7th day in group treated with 0,05 ml/kg b.w. and on 14th day in group treated with 0,04 ml/kg Aziflumin and in control group. Other hematological and biochemical parameters normalized on the 7th day from the beginning of treatment. Both tested doses of Aziflumin were effective in the treatment of acute bronchopneumonia in pigs and comparable with referent formulation Enroxil. Pigs in test group dosed with 0,05 ml/kg of Aziflumin recovered more rapidly: on 7-10 day of experiment clinical symptoms of disease were absent. In lower dose group apparent clinical recovery was observed on 10-12 day and in control group – on 8-12 day.

Key words: azithromycin, flunixin, efficacy, bronchopneumonia, pigs.

ЛИТЕРАТУРА

1. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Макролиды в современной клинической практике, 2007. Болезни органов дыхания. 2012. № 1. с.14-22.
2. Шабунин С.В.// Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях / международная научно-практическая конференция, Воронеж, 17-19 сентября 2008 г.: материалы конф. Воронеж, Изд-во «Истоки», 2008. - С. 66-69.

3. Gerchman I., Lysnyansky I., Perk S., Levisohn S. In vitro susceptibilities to fluoroquinolones in current and archived Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma synoviae isolates from meat-type turkeys, Vet Microbiol, 2008, 131, 3-4, 266.

4. Gialdroni Grassi G, Grassi C. Clinical application of macrolides and azalides in Legionella, Mycoplasma, and Chlamydia respiratory infections. In: New Macrolides, Azalides, and Streptogramins in Clinical Practice. 1995; p. 147-54.

5. Landman W.J., Mevius D.J., Veldman K.T., Feberwee A. In vitro antibiotic susceptibility of Dutch Mycoplasma synoviae field isolates originating from joint lesions and the respiratory tract of commercial poultry. AvianPathol, 2008, 37, 4, 415.

АСПЕКТЫ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМЫ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ В ВЕТЕРИНАРНОЙ ПРАКТИКЕ

Барышев В.А.- ассистент, Глушкова О.С.- к.вет.н., Лунегов А.М.- к.вет.н.
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

При многих болезнях сельскохозяйственных животных, использование только одних антибиотиков или других антимикробных средств становится недостаточным. Применение антибиотиков в животноводстве приводит к ряду негативных моментов, как для самих животных, так и для человека, использующего в пищу про-

дукты от этих животных. Сроки необходимые для элиминации антибиотиков из организма при использовании мяса, молока и яиц после антибиотикотерапии животных, не всегда выдерживаются. Возникает необходимость поиска новых эффективных, менее опасных, экологически чистых лекарственных средств

Альтернативой антибиотикам могут быть и препараты из группы биологически активных веществ, которые, в последнее время, прочно вошли в арсенал лекарственных средств, используемых как в медицинской, так и ветеринарной практике. К таким веществам относятся средства, полученные на основе гидробионтов, в частности препарат из мидий – Маримикс 5:0.

Соединения серебра широко используются как эффективные антибактериальные агенты. В последнее время все чаще наночастицы серебра включают в состав многих лекарственных средств и лекарственных форм повышая их антибактериальную активность. К таким соединениям можно отнести такой препарат как Фурагент.

Заменить антибиотики при лечении маститов могут препараты на растительной основе, гомеопатические. Применение таких препаратов сводит до минимума возникновение побочных эффектов от применения синтетических и полусинтетических лекарств. При этом удается избежать кумуляции токсинов, не редко возникающих после применения химиотерапевтических средств. Как показали исследования, препарат Мастинол является эффективным средством для лечения субклинического мастита коров. Препарат показал 80% лечебный эффект.

Проведенные исследования на кафедре фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины препаратов Маримикс 5:0, Фурагента и Мастинола доказывают их эффективность, что дает возможность альтернативного лечения без применения антибиотиков.

Ключевые слова: серебро, антимикробное действие, биологические активные вещества, мастит.

ВВЕДЕНИЕ

Промышленное производство животноводческой продукции, автоматизация

многих производственных процессов создают ряд проблем, отрицательно влияющих на физиологическое состояние жи-

вотных. Большая скученность, стресс, нарушение многих зооигиенических норм содержания животных (качество воздуха, температурный режим) способствуют появлению иммунодефицитных состояний. Одновременно с этим, условно-патогенная микрофлора, многократно пассажируясь на ослабленных животных, приобретает патогенные свойства. Широкое использование антибиотиков в подобной ситуации способствует выработке устойчивости к ним у патогенной микрофлоры и нарушению нормального биоценоза кишечника [1,2].

При многих болезнях сельскохозяйственных животных, использование только одних антибиотиков или других антимикробных средств становится недостаточным. Применение антибиотиков в животноводстве приводит к ряду негативных моментов, как для самих животных, так и для человека, использующего в пищу продукты от этих животных. Сроки необходимые для элиминации антибиотиков из организма при использовании мяса, молока и яиц после антибиотикотерапии животных, не всегда выдерживаются. Возникает необходимость поиска новых эффективных, менее опасных, экологически чистых лекарственных средств [4,5].

На базе ФГБОУ ВО СПбГАВМ, сотрудниками кафедры фармакологии и токсикологии, были изучены препараты Фурагент, Маримикс 5:0 и Мاستиол.

Так, соединения серебра широко используются как эффективные антибактериальные агенты. В последнее время все чаще наночастицы серебра включают в состав многих лекарственных средств и лекарственных форм повышая их антибактериальную активность [9]. Альтернативой антибиотикам могут быть и препараты из группы биологически активных веществ (БАВ), которые, в последнее время, прочно вошли в арсенал лекарственных средств, используемых как в медицинской, так и ветеринарной практике. К

таким веществам относятся средства, полученные на основе гидробионтов, в частности препарат из мидий – Маримикс 5:0 [4].

Вопрос качества молока имеет особый экономический интерес, поскольку изменения в его составе являются серьезным препятствием в изготовлении определенного набора продуктов. Попадание антибиотиков в сборное молоко снижает его санитарное качество и не допускается к приемке. Заболевание коров маститом ухудшает молочную продуктивность и биохимический состав молока. Это выражается в снижении содержания жира, лактозы и казеина, а также в повышении сывороточных белков и соматических клеток. Поэтому при разработке нового противомаститного препарата необходимо учитывать его влияние на молочную железу и состав молока. [8,10]. Заменить антибиотики при лечении маститов могут препараты на растительной основе, гомеопатические. Применение таких препаратов сводит до минимума возникновение побочных эффектов от применения лекарств. При этом удается избежать кумуляции токсинов, не редко возникающих после применения химиотерапевтических средств [3,4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Антисептический препарат фурагент на основе ионов серебра был разработан на кафедре фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины. Целью исследований было изучение антимикробной активности фурагента, сроком хранения 6 лет, на штаммах микроорганизмов кишечной палочки (*E. coli*), золотистого стафилококка (*St. aureus*), синегнойной палочки (*Pseudomonas*) и протей (*Proteus*) методом серийных разведений на мясопептонном бульоне.

Производственные испытания препарата Маримикс 5:0 провели в два этапа на поросятах-отъемышах, обоих полов, в

АОЗТ совхоза «Октябрьский» Волосовского района, в период с 21 августа 2009 г. по 27 марта 2010 г. Животных содержали в одном боксе для поросят – отъемышей, при одинаковых условиях содержания для контрольных и подопытных групп. Животным скармливали готовый комбикорм, согласно рекомендованным рационам.

При отъеме поросят от свиноматок, с 28 по 35 день жизни, сформировали 2 группы. Животным подопытной группы внутримышечно, в течение 3 суток инъецировали препарат Маримикс 5:0 из расчета 0,2 мл/кг. Животным контрольной группы внутримышечно в тех же объемах вводили изотонический раствор натрия хлорида. В начале испытания поросят обеих групп взвешивали. Масса животных при отъеме составила $8,5 \pm 1,2$ кг. Наблюдение вели в течение 210 суток.

Для изучения препараты Мاستинол, было отобрано две группы коров по 35 голов в каждой. Первой группе в качестве лечения субклинического мастита коров применяли препарат Мاستинол. Испытуемое лекарственное средство вводи в надвыменную складку в дозе 5 мл на животное, 1 раз в день до клинического выздоровления животных. Второй группе для лечения мастита применяли Мاستисан А. Препарат вводили внутрицистернально в дозе 10 мл на каждую пораженную четверть вымени 1 раз в день до клинического выздоровления животных. Животных в подопытные группы подбирали по принципу аналогов (возраст, масса, продуктивность, сроки отела и т.д.).

Лечебный эффект каждого варианта лечения оценивали по количеству соматических клеток, считая, что содержание их менее 350 тыс. является показателем излеченной четверти вымени. Проводили исследования биохимических показателей секрета вымени: содержание казеина в молоке, количество сывороточных белков, иммунных глобулинов, содержание

лактозы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для определения антимикробной активности фурагента серию опытов проводили трижды.

В первом серийном разведении на МПБ рост всех микроорганизмов наблюдался в разведении фурагента в 12,5%-ной концентрации, в 25%-ном разведении рост был у золотистого стафилококка и синегнойной палочки, в 50%-ном – рост был только у синегнойной палочки.

Во второй серии опыта рост всех микроорганизмов был в разведении 12,5%, в 25%-ной концентрации роста не было только у стафилококка, в 50%-ной концентрации рост наблюдался только у синегнойной палочки.

В третьей серии опыта рост всех микроорганизмов наблюдался в разведении фурагента в 12,5% и 25%-ной концентрации, в 50%-ной концентрации рост был только у синегнойной палочки.

Во время проведения исследований нового биологического препарата Маримикс 5:0, регистрировали следующие показатели: количество случаев падежа в группе, частоту случаев появления диареи, результаты измерения массы тела в начале и в конце опыта. Первые два показателя проверяли во время ежедневного осмотра животных, и фиксировали все случаи в журнале для регистрации больных животных, формы №1-вет.

В подопытной группе поросята меньше болели диареей (количество зарегистрированных случаев 5%), по сравнению с контрольной группой, где число зарегистрированных случаев составило 55%. В этой группе пал один поросенок. К концу откорма средняя масса в подопытной группе составила $127,0 \pm 3,6$ кг, в контрольной группе $123,0 \pm 5,4$ кг. Общая масса животных подопытной группы составила 2540,0 кг, а контрольной группы 2337,0 кг.

В результате применения Мاستинола и

Мастисана А в опытных группах в биохимических показателях секрета вымени содержание казеина в молоке у выздоровевших животных возросло на 18,11% и на 11,9% соответственно ($P < 0,05$).

Количество сывороточных белков к моменту выздоровления снизилось на 22,62% и 14,94% в то время как количество иммунных глобулинов возросло на 21,61% и 15,69% ($P < 0,05$), что свидетельствует об активизации их синтеза. К концу лечения в молоке коров опытных групп достоверно возросло содержание лактозы на 6,73% и 6,53%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных опытов определение микробного действия антисептического раствора фурагента можно сделать вывод, что фурагент в 50%-ной концентрации обладает бактерицидными свойствами по отношению к протею, золотистому стафилококку и кишечной палочке и не потерял своей антимикробной активности при хранении в темном сухом месте во флаконах из темного стекла в течение 6 лет.

Применение препарата Маримикс 5:0 в дозе 0,2 мл/кг, в течение 3 суток можно рекомендовать, для коррекции отъемного стресса и повышения среднесуточных приростов живой массы поросят на откорме. Также для увеличения адаптационных возможностей организма так и для получения безопасных продуктов питания в условиях промышленного свиноводства.

В опытной группе, получавшей препарат Мастинол содержание казеина в молоке было выше на 6,21%, по сравнению с группой получавшей препарат Мастисан А. Количество иммунных глобулинов также было выше в опытной группе на 5,92%. Таким образом, применение препарата Мастинол способствовало улучшению биохимических показателей молока.

По результатам исследований можно сделать вывод, что препарат Мастинол

является эффективным средством для лечения субклинического мастита коров. Препарат показал 80% лечебный эффект.

Проведенные исследования на кафедре фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины препаратов Фурагент, Маримикс 5:0, Мастинол доказывают их эффективность, что дает возможность альтернативного лечения без применения антибиотиков.

Aspects to solve the problem antibiotic therapy in veterinary practice.

V. Barishev, O. Glushkov, A. Lunegov.

ABSTRACT

In many diseases of farm animals, the use of only one antibiotic or other antimicrobial agents becomes insufficient. The use of antibiotics in animal results in a number of negative aspects, both for animals and humans using food products from these animals. Time required to eliminate antibiotics from the body when using meat, milk and eggs after antibiotic therapy animals are not always kept. There is a need to find new, effective, less hazardous, environmentally friendly medicines

An alternative to antibiotics and drugs may be from the group of biologically active substances, which in recent years, become part of the arsenal of drugs used in medical and veterinary practice. These substances include funds received on the basis of aquatic organisms, in particular the preparation of mussels - Marimix 5: 0.

Silver compounds are widely used as effective antibacterial agents. Recently, more and more silver nanoparticles comprise the composition of many drugs and dosage forms of increasing their antibacterial activity. Such compounds include such preparation as Furagent.

Replace antibiotics in the treatment of mastitis may be plant-based preparations, homeopathic. The use of such drugs minimizes the occurrence of side effects from the use of synthetic and semi-synthetic drugs.

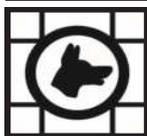
This avoids the accumulation of toxins, not infrequently occurring after use of chemotherapeutic agents. Studies have shown that Mastinol drug is an effective treatment for subclinical mastitis cows. The drug showed a 80% therapeutic effect.

The research at the Department of Pharmacology and Toxicology of the St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine drugs Marimiks 5: 0, and Furagenta Mastinola prove their efficiency, which makes it possible alternative treatment without the use of antibiotics.

Key words: silver, antimicrobial activity, biological active substances, mastitis

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Н.Л. Биологически активные вещества / Н.Л. Андреева // Матер. 11-ой межгосуд. Межвуз. научно-практической конф. «Новые фармакологические средства в ветеринарии». – СПб, 1999. – С. 56 - 57.
2. Андреева Н.Л. Новые биологически активные вещества // Н.Л. Андреева, В.Д. Соколов // Экспресс-информация «Новые фармакологические средства и кормовые добавки». – СПб, 2010. – №20. – С. 3- 4.
3. Барышев В.А. Влияние «Мастинола» и «Мастисана А» на биохимические показатели секрета вымени лактирующих коров / Барышев В.А.// Международный вестник ветеринарии. – 2013. – №1. – С. 34 - 36.
4. Войтенко В.Д. Целесообразность повышения эффективности химиотерпевтических средств //Фармакология практическому здравоохранению / Матер. 111 съезда фармакологов России. Том 7. – 2007. – С. 1-164
5. Попова О.С. Применение БАД в ветеринарии / О.С. Попова, В.Д. Соколов // Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки СПб, вып. 22, дополнение к материалам III съезда фармакологов и токсикологов России «Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации». – 2011. – С.35-37.
6. Соколов В.Д. Лечебно-профилактические корма, кормовые добавки и эрготропики / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева, Т.В. Абакумова // Современные проблемы ветеринарной диетологии и нутрициологии : Матер. первого междунар. симпозиума. СПб., 2001. – С. 130 - 133.
7. Соколов В.Д. Альтернатива кормовым антибиотикам/ В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева, В.Д. Войтенко, Т.В. Абакумова, В.Е. Богданов // Международный вестник ветеринарии. – 2007. – №1. – С. 39 - 46.
8. Касянчук В.В. Мастит: основы диагностики и лечения // Молочное и мясное скотоводство.-1992.-№4.-С. 14-15.
9. Лунегов А.М. Фармакологическая характеристика антисептического препарата фурагент // Международный вестник ветеринарии.- 2008. №1 С. 33-38.
10. Трошин А.Н. Усовершенствование лечебных и профилактических мероприятий при мастите у коров: Автореф. дисс...канд. вет. наук. Ставрополь.- 1996.- 24с.



СИМБИОЗ СТРЕПТОМИЦИНА И ЯРКО-КРАСНОГО АНТИБИОТИКА ЖИВОГО ТЕЛА РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

Кулясов П.А. - к.вет.н., доцент

Калмыцкий государственный университет имени Б.Б. Городовикова



РЕФЕРАТ

Туберкулезный микроб, открытый в 1882 году немецким микробиологом Робертом Кохом является одним из немногих инфекционных заболеваний, от которого до настоящего времени не разработана соответствующая вакцина для животных. Являясь постоянным обитателем легочной и пищеварительной систем организма, микобактерия Коха с особым трудом подавляет защитные иммунные свойства животного тела. Шагающий в неразрывной близости с живым миром млекопитающих, – туберкулез, как болезнь, не в состоянии нанести им заметного урона. Выделяясь во внешнюю окружающую среду и попадая на почву, возбудитель туберкулеза почти сразу погибает от антибактериального действия почвенного актиномицетного грибкового антибиотика – стрептомицина, остававшимся на многие годы единственным эффективным препаратом против туберкулезной бактерии. Туберкулезные микробные палочки, не погибшие в природной среде, также активно растворяются внутри тела животных, но, уже от антибактериального действия другого антибиотика, имеющего ярко-красный цвет и выделяющегося особым кислотоустойчивым слизисто-плесневым грибом, растущим внутри желудка и формировавшим грибковые колонии, в виде слизистых наложений на обширной питательной среде, состоящей из комплекса – химических стойких хлористых соединений (ХСХС), входящих в состав проглоченного животным корма.

Ключевые слова: стрептомицин, ярко-красный антибиотик, химические стойкие хлористые соединения (ХСХС), живой организм, гниение, растения, животные.

ВВЕДЕНИЕ

Проведенные в 40-х годах 20-го века исследования американского ученого российского происхождения Зельмана Ваксмана позволили достоверно утверждать, что в поверхностных слоях почвы локализуется, растет и размножается микроскопический лучистый грибок [1]. Ранее было замечено, что возбудитель хронического инфекционного заболевания, такого как – туберкулез (*Micobacte-*

rium tuberculosis), после своего попадания на землю, почти сразу же погибало. Данный научный факт, вызвал характерный интерес у американской научной общности и по просьбе правительства США, выходец из России и эмигрировавший в 1910 году в Америку микробиолог Ваксман в 1932 году плотно и основательно занялся данным запутанным и непростым вопросом.

Происследовав совместно с помощниками большой объем пластов земли, Вак-

сман установил нахождение в нем наличие лучистого грибка из рода *Актиномицетов* (*Actinomycetes*), хорошо растущего и активно размножающегося в плодородном черноземе. Проводя свои эксперименты дальше, Ваксману, благодаря своему терпению и настойчивостью удалось, путем химических превращений и тщательного экстрагирования полученного раствора выделить в чистом кристаллическом виде – антибиотик, получивший свое историческое название – стрептомицин, препарата, ставшим на многие десятилетия вперед основным медикаментозным лекарственным средством против смертельного туберкулеза [2].

Однако после смерти Зельмана Ваксмана в 1973 году, практические массовые изыскания о защитной роли антибактериального препарата – стрептомицина были практически прекращены, по причине, неправильного и неоправданного существования среди научной общественности мнения о снижении положительной роли стрептомицина на туберкулезную палочку по поводу так называемого привыкания микробной туберкулезной культуры к губительному бактерицидному влиянию антибиотика стрептомицина. Если лучистый грибок рода *Актиномицетов* растет и размножается в обычном черноземе, с наличием обильного количества пригодных для употребления питательных элементов, в виде навоза, гумуса, перегноя, и при этом успевший выделять во внешнюю среду антибиотик стрептомицин, то получается, что данное антибиотическое вещество, пропитывая своим содержимым все свободное вокруг себя пространство, должно также содержаться и в огромном процентном соотношении во всех растительных зеленых кормах [3].

Травы, кусты, деревья – растущие в дружеском симбиозе совместно с лучистым грибком рода *Актиномицета*, постоянно нагнетают его в свои растительные тела, умудряясь, таким образом, снабжать

их антибиотиком стрептомицином [4]. Заполняя каждый зеленый участок растения стрептомицином, они, всеми, доступными им силами пытаются защититься от неправильно расшифрованной людьми – эпифитной и, на первый взгляд, непатогенной микрофлоры растительного тела [5]. Наполняя стрептомицином, свои зеленые и древесные составляющие, растения пополняются этим спасительным антибиотиком, позволяющим им выжить в мире гнилостных бактерий.

Антибиотик стрептомицин – это первый грибковый бактерицидный барьер, вставший непреодолимой преградой на пути гнилостных бактерий и до последнего защищавший растение от гниения и разложения. Поедая зеленую траву, травоядные млекопитающие, совместно с бесконечным живым животным миром планеты Земля, неосознанно вносят, через пищеварительный тракт вовнутрь своих тел – антибиотик стрептомицин [6]. Всасываясь посредством слизистой оболочки желудка (сычуга) и тонкого отдела кишечника (двенадцатиперстной кишки), большие порции корма, совместно с белками, углеводами, жирами, витаминами и минералами, антибиотик стрептомицин, устремляется в кровь и с ее движением по кровеносным сосудам достигает самых отдаленных участков живого тела [7]. В свою очередь человек, потребляя продукты животного и растительного происхождения, совместно с ними вносит в себя большие порции антибиотика, заполняя им мышечную и костные ткани, кожный покров, внутренние и наружные органы и ткани, пропитывая стрептомицином каждый участок своего живого тела [8].

Но, здесь следует отметить, что, обладая защитным антибактериальным эффектом стрептомицин, и этот факт необходимо признать достоверно, все-таки является, чужеродным антибактериальным препаратом, получаемым из актиномицетного лучистого грибка, растущего в черно-

земе внешней окружающей среды, а, значит, обладающим не естественными биологическими требованиями к внутреннему строению любого живого туловища и способным вызывать различные побочные явления, например, аллергическую реакцию на введенный антибиотик [9].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходя из этих положений, на базе, вначале, в стенах Мордовского государственного университета (Аграрный факультет) с 2003-2009 годы, продолженные затем на практике, в животноводческом агропромышленном комплексе ООО «НДН-агро», размещающимся в трех районах республики Мордовия – Б.-Игнатовском, Ардатовском и Теньгушевском (2009 - первые два квартала 2015 года) и дополненные затем в Калмыцком государственном университете имени Б.Б. Городовикова во второй половине 2015 года были начаты и полностью завершены упорные, непрекращающиеся 13-ти летние лабораторно-практические исследования, позволившие приоткрыть основные закономерности иммунитета живого мира растений и животных [10].

Собрав воедино все химические компоненты в лабораторной стеклянной посуде, сходных по химическому ассортименту с компонентами желудка сельскохозяйственных животных, с соблюдением определенных соответствующих норм и требований (температуры, влажности и отсутствием света), искусственным путем был получена бурная химическая реакция, результатом которой стало наличие комплекса химических стойких хлористых соединений (ХСХС) или хлористых минеральных солей [11]. Все то, что находится внутри сычуга животных – коров, овец, свиней, собак, кошек, птиц, все, наиболее доступные и открытые людьми химические производные – раствор соляной кислоты, желудочный фермент пепсин, белки, углеводы, жиры, витамины и минералы, все то, что участвует в физио-

логическом пищеварении высших млекопитающих, собранные воедино и смешанные в однородную смесь в стеклянной емкости, через несколько недель приоткрыли удивительную тайну природной выживаемости всего животного мира, и с ним и растений в разлагающем мире гнилостных микроорганизмов [12].

Было обнаружено, что внутри данной химической среды, с наличием в ней комплекса химических стойких хлористых соединений (ХСХС) растет и функционирует особый кислотоустойчивый слизисто-плесневый грибок, выделяющий из своих грибковых производных – антибиотик, ярко-красного цвета [13]. Обволакивая внутреннюю слизистую оболочку желудочной камеры, и, ошибочно принятой ученым миром за слизь, на самом деле входящее в царство грибов, данный кислотоустойчивый желудочный грибок, произрастая внутри желудка, для спасения самого себя от попадающей из наружной окружающей среды агрессивной болезнетворной патогенной и сапрофитной гнилостной микрофлоры совместно с потоками воздуха, кормом и водой, уже много тысячелетий вырабатывает спасительный антибиотик, ярко-красного цвета [14].

В 2015 году путем продолжительных терпеливых изысканий в стволе дерева клена был обнаружен ярко-красный антибиотик [15]. Имея в составе древесного сока – сахар, и, по микробной обсемененности являясь хорошей питательной средой для благоприятного и быстрого развития и размножения гнилостных микробов, живые части дерева не только не подвергаются процессам гниения и разложения, но и за всю недолгую жизнь клена успевают нормальной развиваться, цвести и давать семена [16].

Наполненное до отказа кленовым сахарным соком, дерево, должно погибнуть уже в начальные дни повышенной весенней уличной температуры окружаю-



Рис. 1. Прижизненно выделяющийся ярко-красный антибиотик



Рис. 2. Антибиотик высших растений, ярко-красного цвета



Рис. 3. Ярко-красный антибиотик пораженной части дерева

щего воздуха, тем не менее, отчаянно сопротивляясь агрессии эпифитной микрофлоре, благодаря наличию в живом растительном организме ярко-красного антибиотика и своим желанием жить, заставляет отступить назад – колонии гнилостных бактерий [17]. Антибиотик, ярко-красного цвета, образуясь в корнях дерева, поднимаясь с древесным соком наверх, заполняет все видимые его участки, создавая, невыносимые фитонцидные условия для роста и развития гнилостной микрофлоры, что дает шанс растительной флоре пережить теплые летние микробные условия, успеть дать семена и с наступлением зимы перейти в покоящуюся стадию анабиоза [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Из года в год, неизвестный людьми процесс выживаемости всех абсолютно

видов растений и животных, позволил им, путем непрекращающейся борьбы с микробным гнилостным миром дожить до сегодняшних дней. По способу выделения двух совершенно разных антибиотиков, один из которых – стрептомицин, продуцируется телом актиномицетного лучистого грибка снаружи в природе, а другой – ярко-красный антибиотик, выделяющийся внутри живого тела у всех высших млекопитающих, позволил сделать обоснованное заключение о природной взаимовыручке живых существ [19]. Извлекая взаимную выгоду, друг от друга внешний стрептомицин и антибиотик, ярко-красного цвета живого тела, встретившись внутри растительного или животного организмов, подвергает стерилизации все их жизненные живые структуры, обеспечивая, таким образом, неприкосновенность к туберкулезу и гниению. Стрептомицин, выделяясь из тела лучистого грибка, стерилизует верхние поверхностные слои почвы, создает неблагоприятные природные условия для выживаемости туберкулезной палочки в земле, предотвращая этим неминуемое и обширное заражение всего живого животного мира.

Пропитывая стрептомициновым содержимым составные части растений – корни, кору, ствол, ветви, цветки, листья, семена, – антибиотик, при поедании растений травоядными животными, через

ротовую полость нагнетается в желудочную камеру – сычуг, где через его внутреннюю слизистую оболочку всасываясь в кровь, разносится по всему живому туловищу, заполняя стрептомицином легочную ткань. Мир млекопитающих, должный заразиться туберкулезом еще в первые сутки своего существования, не только не заражается им, но и превращает это смертельное заболевание, с характерным острым течением болезни, в длительный хронический инфекционный процесс.

Живой организм животного до последнего борется с данной туберкулезной заразой, посредством наличия в своем теле – защитных средств – лейкоцитов, специфических антител и др., отодвигая тем самым неизбежный процесс разрушения легочной ткани, размножения туберкулезного микроба, в целом внутри живой системы, отодвигая конечный хронический смертельный итог, давая живому телу огромный шанс побороться за целостность жизни с невидимой человеческим взглядом, но приводящее всю живую систему к саморазрушению туберкулезной бактерией. Туберкулез, как заболевание имеет некоторую схожесть с колониями гнилостных микробов, обсеменяющих животный организм изнутри и снаружи, где наибольшей вероятностью местом локализации служат – толстый отдел кишечника и кожный покров [20]. В месте поражения легочной ткани туберкулезом, происходит быстрое протекание гнилостного разложения, что заставляет микробиолога задуматься о причинах данного непонятного дружеского симбиоза бактерий.

Потребляя корм, животное вместе с ним вносит вовнутрь желудочно-кишечного тракта содержимое актиномицетного лучистого грибка – стрептомицин, обеспечивающий все его живые отделы, неприкасаемостью к туберкулезу, но в тоже время и внутри самого живого

тела, в непроглядной части пищеварительной системы рождается биологически нужный и так необходимый для жизни высших млекопитающих – ярко-красный антибиотик [21]. По воле случая, растительная флора повсеместно тоже образует и выделяет в зеленые и древесные части антибиотик, ярко-красного цвета [22].

Стрептомицин, образующийся в природе и попадающий с кормом в желудок животных, совместно с ярко-красным антибиотиком, выделяющимся, как в области корневой системы самих растений, так и внутри желудка живого организма – всю сравнительно недолгую жизнь животного, предохраняет его от заражения туберкулезом и гибели. Неподражаемый природный дар, позволил огромным стадам травоядных животных, мигрировать на дальние неизведанные расстояния, в движении ища от голода пропитания, охватывая своей численностью огромные нескончаемые просторы Земли [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Туберкулез, как хроническое инфекционное заболевание – неотступно следующее за движущим поголовьем не в состоянии причинить ему заметного вреда, не может вызвать острое течение болезни, а переводит в хронический затяжной рецидив, потому что на защиту живого животного организма встают два естественных природных антибиотика – грибковый стрептомицин, локализующийся в растениях и ярко-красный антибиотик желудка, в сумме создающие мощный антибактериальный заслон – двум группам бактерий – болезнетворной туберкулезной палочки и гнилостным микробам.

Потому, так мало животных погибших от туберкулеза в совместно собранных стадах, передвигающихся воедино в природной среде. Поедая траву, росшую из почвы, которая по мере роста на всем своем протяжении пропитывается антибиотиком стрептомицином, жвачные животные таким путем, вносят в себя доста-

точные порции растворенного в растительном соку стрептомицина, с током крови незамедлительно устремляющегося в самые дальние участки животного организма, отражая агрессию туберкулезных бактерий. А, помогают ему в этом, живой биологический совместимый антибиотик живого тела, ярко-красного цвета, сходным с цветом артериальной крови высших млекопитающих, что послужило главной причиной его скрытости от глаз человека.

Ярко-красный антибиотик – ярко-красная кровь. Тысячелетиями он был невиден и недоступен для объективной оценки его ярко-красного цвета и полезных бактерицидных свойств.

Symbiosis of Streptomycin and Bright Red Antibiotic of Living Body of Plants and animals.

P. Kulyasov.

ABSTRACT

Tuberculosis the causative agent of which was discovered by a German microbiologist Robert Koch in 1882, is one of the infectious diseases for which no proper vaccine for animals has been developed. Being a constant inhabitant of the pulmonary and digestive organism's systems, the Koch's mycobacterium suppresses the animal's body immune properties with difficulty. Though it exists extremely close to mammals, tuberculosis as a disease is unable to bring serious damage to them. When excreting in the environment and getting into the soil, the tuberculosis agent dies almost immediately from the antibacterial action of the soil-born actinomycetic fungoid antibiotic - streptomycin, which has remained an exclusive effective drug against tubercular bacteria for years. The tubercular bacilli, which don't get into natural environment, are actively dissolved inside the animal bodies, but this time their distraction is caused by the antibacterial action of another antibiotic. It has a rich - red color and is secreted by a specific acid - resisting mucous - moldy fungus, growing

inside the stomach and forming colonies that look like slimy masses on a vast nutrient medium. This medium consists of chemically resistant chloride complexes (ХСХС), which are the part of feed eaten by animals.

Key words: streptomycin, bright red antibiotic, chemically resistant chloride complexes (ХСХС), living body, plants, animal

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузин А.И. Туберкулез сельскохозяйственных животных и его профилактика /А.И. Кузин// М.: «Росагропромиздат», 1992. – 189 с.
2. Селянский В.М. Анатомия и физиология сельскохозяйственной птицы /В.М. Селянский// М.: «Агропромиздат», 1986. – 272 с.
3. Соколов В.Д. Фармакология /В.Д. Соколов, М.И. Рабинович, Г.И. Горшков// СПб.: Изд-во «Лань», 2010. – 560 с.
4. Егоров Н.С. Практикум по микробиологии: Учебное пособие /Н.С. Егоров// М.: Изд-во Московского ун-та, 1976. – 307 с.
5. Руденко А.В. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Учебное пособие /А.В. Руденко, О.Б. Генджиева // Элиста, 2012. – 224 с.
6. Панкратов А.Я. Микробиология /А.Я. Панкратов // М.: «Колос», 1981. – 248 с.
7. Мишустин Е.Н. Микробиология /Е.Н. Мишустин, В.Т. Емцев// М.: «Колос», 1970. – 320 с.
8. Кулясов П.А. Эволюционное взаимодействие желудочной соляной кислоты с комплексом минеральных веществ, поступающих в желудочно-кишечный тракт животных с кормом // Научная перспектива. Уфа. – 2012. – №1. – 34 с.
9. Кулясов П.А. Защитные соединения желудка /П.А. Кулясов// Вектор науки. – Уфа. 12.2011 – 01. 2012. – № 4-5. – С. 9-18.
10. Кулясов П.А. Антибиотик живого тела /П.А. Кулясов// Молодой ученый. – Чита. 2012. – № 5 (40). – С. 563-568.
11. Кулясов П.А. Роль гнилостных микроорганизмов в жизни живых существ /П.А.

- Кулясов// Ветеринарна біотехнологія. – 2012. – №20.– С. 90-97.
12. Кулясов П.А. Химическая реакция внутри живого тела // Успехи современного естествознания. Академия естествознания. – 2013.–№6.– С. 102-109.
13. Кулясов П.А. Гниение живого тела // Наука и Мир. Международный научный журнал, 2013.– №4 (4). – С. 54-61.
14. Кулясов П.А. Эволюция гниения // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. Академия естествознания. – 2014.– №4.– С. 115-119.
15. Кулясов П.А. Антибиотик желудка // Успехи современного естествознания. Академия естествознания. – 2014.– №5 (часть 1).– С. 89-94.
16. Кулясов П.А. Ярко-красный антибиотик /П.А. Кулясов, Э.Б. Найминова, В.С. Халаева// М.: «РИО ЕФИР». Перспективы модернизации науки. Сборник статей международной научно-практической конференции, 2015. – С. 129-133
17. Kulyasov P.A. Molding of albumen /P.A. Kulyasov // European Science and Technology. Munich-Germany, 2012. – P. 614-620.
- 18.Kulyasov, P.A. Rotting and Hydrosulphuriccas // Journal Science Education, Dezember, 18-19, Munich-Germany, 2012. P. 263-268.
19. Kulyasov P.A. Saprogenic microbes / P.A. Kulyasov// Science Technology and Higher Education. Westwood-Canada, 2012. – P. 503-516.
20. Kulyasov P.A. Discharging anti-bacterial preparation of intense red color from gastrointestinal tract of cows /P.A. Kulyasov// European Journal of Natural History. – 2013. – №1. – 83 p.
21. Kulyasov P.A. Synchronicity rotting dead body /P.A. Kulyasov// European Applied Sciences. Wissenschaftliche Zeitschrift. Stuttgart, Germany. – 2013. – №7 – P. 7-13.
- 22.Kulyasov, P.A. Bright red antibiotics. European Innovation Convention /P.A. Kulyasov// 1st International scientific conference.: Vienna, Austria. 20–21th December, 2013. – 164 p.
23. Kulyasov P.A. The problem of fight against brucellosis in farm animals /P.A. Kulyasov, S.S. Mashtykov, T. B. Tyurbeyev // European Cooperation. Scientific Approaches and Applied Technologies, 2015. -№ 6 (6) – P. 135– 148.

ВОЛХОВСКАЯ ГУБА ЛАДОЖСКОГО ОЗЕРА КАК ИСТОЧНИК ЗАГРЯЗНЕНИЯ Р. НЕВЫ

Аршаница Н.М.-к.б.н., ведущий научный сотрудник, Ляшенко О.А.-- к.б.н., заведующая лабораторией экологической токсикологии, Гребцов М.Р.-аспирант, Стекольников А.А.-аспирант, Колосовская Е.В. - м.н.с., ГосНИОРХ



РЕФЕРАТ

Эколого-токсикологические исследования реки Волхов, Волховской губы Ладужского озера и бухты Петрокрепость проводили в 2011-2015 гг. Применяли биологические (патологоанатомические исследования рыб и биотестирование с использованием ракообразного *Daphniamagna*) и аналитические (определение концентрации металлов) методы оценки качества воды. Результаты исследований показали, что уровень загрязнения этих акваторий достаточно высок и что они вносят существенный вклад как в загрязнение Ладужского озера в целом, так и в загрязнение истока р.Невы.

По результатам исследований на исследованных акваториях отмечено массовое поражение рыб токсикозами, а также нарушение естественного воспроизводства рыб. Содержание некоторых металлов в атмосферных осадках превышало предельно допустимые концентрации. Поступление загрязняющих веществ (включая металлы) преимущественно связано с поступлением сточных вод и выбросов в атмосферу промышленных предприятий городов В.Новгород, Кириши, Волхов, Сясьстрой, которые обуславливают сезонные особенности токсикологического режима этих акваторий. Выносы загрязняющих веществ рекой в комплексе с токсикантами, поступающими из местных источников и аэрогенным путём, обуславливают высокий уровень загрязнения акватории Волховской губы Ладужского озера, оказывающий отрицательное воздействие на водные организмы и, в частности, на рыб.

Гидрологические особенности Волховской губы, особенно в зимний период, способствуют выносу загрязняющих веществ с акватории залива в бухту Петрокрепость – исток р. Невы, которая является важнейшим рыбохозяйственным объектом и источником водоснабжения г. Санкт-Петербурга.

Результаты исследований подтверждают необходимость принятия практических мер для очистки сточных вод и атмосферных выбросов предприятий, находящихся в бассейне р. Волхов.

Ключевые слова: р. Волхов, Волховская губа, бухта Петрокрепость, р. Нева, рыба, вода, донные отложения, металлы, токсикоз, биоиндикация, биотестирование, ПДК, ДОК, токсичность.

ВВЕДЕНИЕ

Эколого-токсикологическое состояние р. Невы, Невской губы и восточной части Финского залива остается достаточно сложным, несмотря на принимаемые меры по очистке промышленных и хозяйственно-бытовых сточных вод г. Санкт-

Петербурга. Загрязнение р. Невы регистрируется уже в её истоке, принимающем воды бухты Петрокрепость, что неоднократно регистрировалось нашими исследованиями, начиная с восьмидесятых годов прошлого столетия (1). Исследования рыб показали их тотальное пора-

жение токсикозом, а биотестирование проб воды и донных отложений в ряде случаев выявило их токсичность. Наши исследования последних лет показали, что одним из важных источников поступления загрязняющих веществ к истоку р. Невы являются воды Волховской губы Ладожского озера, чему способствуют гидрологические особенности озера в целом и губы - в частности.

Волховская губа принимает воды одного из самых крупных и загрязнённых притоков Ладожского озера – р. Волхов, а также р. Сясь и стоки Сяського ЦБК. В общем объёме поступления биогенных веществ и нефтепродуктов преобладает вынос р. Волхов, учитывая характер стоков промышленных предприятий городов В. Новгород, Кириши и Волхов, а также Киришской ГРЭС-19, весьма велика доля выноса этой рекой комплекса различных токсикантов (2,3).

В результате выноса загрязняющих веществ рекой в Волховскую губу, она и в настоящее время, остается одной из наиболее загрязненных акваторий озера (4).

Гидрологической особенностью Волховской губы является её мелководность, характер донных отложений и наличие течений, что способствует выносу загрязняющих веществ за её пределы в озеро, откуда они поступают, в частности, в бухту Петрокрепость – исток р. Невы. В зимний период, под влиянием антициклональной циркуляции в озере, а также стока Невы, создаются условия для транзитного поступления загрязнённых вод реки Волхов к истоку Невы (5).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на пяти акваториях р. Волхов и шести акваториях Волховской губы, включая контрольную, а также трёх акваториях бухты Петрокрепость Ладожского озера в период 2011-2015 гг.

При проведении исследований были

использованы биологические (биоиндикация с использованием рыб и биотестирование на дафниях) и химико-аналитические методы контроля качества вод. Особое внимание было обращено на состояние рыб как индикаторов качества вод (6,7,8,9,10,11). Биотестирование проб воды и донных отложений проводилось по общепринятой методике в остром и хроническом экспериментах с использованием тест-функций «выживаемость» (острый опыт) и «выживаемость» и «плодовитость» (хронический опыт) (12).

Состояние рыб оценивали по пятибалльной системе, разработанной для оценки степени развития токсикоза и выраженности визуальных патологоанатомических повреждений (13).

Химико-аналитические исследования проб воды, донных отложений, атмосферных осадков и рыб проводились в испытательной лаборатории продуктов питания и объектов окружающей среды «АНАЛЭКТ» (аттестат аккредитации № РОСС.RU.0001.МН.38) института Минздрава РФ методов атомно-адсорбционной спектрометрии по утвержденным методикам. Определяли содержание следующих металлов: медь, цинк, никель, марганец, алюминий, кадмий, мышьяк, селен, свинец, хром, ртуть, молибден, кобальт. За нормативы содержания металлов в воде были приняты рыбохозяйственные ПДК, в рыбах – СанПиН 2.3.2.1078-01, а в донных отложениях – преимущественно кларковые величины (14).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты патологоанатомического исследования рыб р. Волхов показали, что поражения рыб хроническим токсикозом отмечены на всех акваториях, начиная с верховья реки и связаны не только с поступлением в реку промышленных и хозяйственно-бытовых сточных вод г. В. Новгорода, но и с выносом загрязнений

из оз. Ильмень, о неблагоприятной токсикологической ситуации в котором свидетельствуют как результаты исследования рыб, так и двустворчатых моллюсков Unionidae (15,16).

Поражение рыб токсикозом на акваториях ниже г. Кириши носит тотальный характер, а на примыкающей к плотине акватории Волховского руслового водохранилища ихтиофауна малочисленна и отсутствуют отдельные виды, обитающие на других акваториях. Чётко прослеживается нарушение процесса естественного воспроизводства рыб, что наблюдается с восьмидесятых годов прошлого столетия. Проявления токсикоза у личинок и мальков рыб показало, что среди них выявлены особи с особенностями, выражающимися в изменении окраски тела, низкой упитанностью, морфологических изменениях плавников, жаберных крышек, деформацией тела (сколиоз) и пр. Их доля в общей численности колебалась от 9 до 26% (3). Аналогичная картина нарушения естественного воспроизводства рыб была отмечена на наиболее загрязненных акваториях Волховской губы, тяготеющих к устьям рек Волхов и Сясь, и ранее и наблюдается в настоящее время (17, 18, 19).

Состояние рыб по результатам патологоанатомического исследования в Волховской губе неудовлетворительное – они в массе на всех акваториях поражены токсикозом, протекающим хронически, обострение отмечалось в весенний период на акваториях тяготеющих к источникам загрязнения – устью р. Волхов и Сясьскому ЦБК.

У обследованных рыб доля пораженных токсикозом изменялась от 40 до 80%. Все отмеченные визуально проявления токсикоза были в основном связаны с нарушением гемодинамики, реже с процессами перерождения, иногда с процессами некроза и развитием общей анемии.

Неоднократно отмечаемое массовое

поражение токсикозом рыб, отловленных в бухте Петрокрепость, в том числе – у истока р. Невы свидетельствует об эколого-токсикологическом неблагополучии и этой акватории.

Гистологические исследования органов половозрелых рыб показало следующее: сильная гиперемия органов, мелкоочечные кровоизлияния, отек эндометрия сосудов и в отдельных случаях диапедез элементов крови в окружающие ткани (печень, почки), процессы перерождения, дистрофии и пр.

Исследование преоптического ядра мозга рыб по таким показателям как содержание нейросекрета в клетках и их отростках, а также степень гиперемии сосудов и частота контактов нейросекреторных клеток с гликальными элементами свидетельствовали в пользу активации этой центральной преоптико-гипофизарной нейросекреторной системы на действие загрязняющих веществ (20).

Биотестирование проб воды и донных отложений в р. Волхов и Волховской губе в большинстве случаев показывало их токсичность (преимущественно хроническую), особенно в весенний период года. Осенью токсичность воды и донных отложений снижалась, что происходило одновременно с улучшением состояния рыб (3, 21).

Химический анализ проб воды, донных отложений и мышечной ткани рыб показал наличие в них всех исследованных металлов (медь, цинк, марганец, алюминий, кадмий, мышьяк, свинец, хром, ртуть, кобальт). В воде их содержание было максимальным в весенний период и превышало рыбохозяйственные ПДК по цинку, меди, свинцу, алюминию, марганцу, мышьяку, ртути. Достаточно высоким было их содержание в донных отложениях, в зимний период концентрации меди, алюминия, марганца, кобальта, хрома, цинка в р. Волхов превышали кларковые величины (14). Сезонные исследования

содержания металлов показали, что наиболее высокий уровень их содержания в воде отмечен в весенний период, а в донных отложениях зимой. На всех обследованных акваториях содержание меди, цинка, марганца, алюминия и ртути в воде было выше рыбохозяйственных ПДК. Так, содержание меди по акваториям изменялось от 0,003 до 0,011 (ПДК=0,001); цинка – от 0,012 до 0,014 (ПДК=0,01); марганца – от 0,019 до 0,033 (ПДК=0,01); алюминия – от 0,195 до 0,545 (ПДК=0,04); ртути – от 0,00008 до 0,00026 (ПДК=0,00001) мг/л. Содержание всех исследованных металлов в донных отложениях Волховской губы во все сезоны года, несмотря на их повышенные концентрации в воде, не достигало кларковых величин. Очевидно, это объясняется характером донных отложений и постоянным выносом загрязняющих веществ из этой акватории течениями (5).

Содержание всех металлов во все сезоны года в мышечной ткани различных видов рыб, за исключением ртути, оказалось ниже ДОК (допустимых остаточных количеств).

Что касается ртути, то период её выведения из организма очень длителен по времени (для щуки он составляет 780 суток), что является причиной ртутной интоксикации в результате кумулятивного эффекта. Также это связано и с тем, что ртуть вытесняет из биомакромолекул практически все другие металлы, образуя очень стойкие ртутьорганические комплексы (22,23). Превышения ДОК по ртути в мышечной ткани рыб отмечено и на других акваториях Ладожского озера.

Весьма существенно поступление металлов аэрогенным путем, в осадках побережья р. Волхов и Волховской губы, их концентрация была существенно выше, чем в воде. Так, содержание в осадках меди достигало 54 ПДК, цинка – 38 ПДК, ртути – 26 ПДК, алюминия – 13 ПДК, марганца и железа – 9 ПДК, кадмия – 9

ПДК и т.д. (24,25). При биотестирования осадков, как правило, выявляется их острое токсичное воздействие.

Результаты проведенных исследований показали, что река Волхов и Волховская губа остаются загрязненными водными объектами, что четко прослеживается во все сезоны года как по биологическим так и по химико-аналитическим критериям качества вод.

Ввиду того, что гидрологические особенности Ладожского озера способствуют поступлению загрязненных вод Волховской губы к истоку р. Невы, они могут отрицательно сказываться на её экологотоксикологическом состоянии, в частности, как источника питьевой воды г. Санкт-Петербурга. Для снижения антропогенной нагрузки на озеро и, в частности, для улучшения качества воды в р. Неве, необходимы действенные мероприятия по очистке сточных вод и выбросов в атмосферу промышленных предприятий в бассейне р. Волхов и Волховской губы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований, проведенных на р. Волхов и Волховской губе Ладожского озера, показали, что на этих акваториях бассейна Ладожского озера сохраняется высокий уровень загрязнения, что прослеживается во все сезоны года по биологическим и химико-аналитическим показателям.

Массовые поражения рыб токсикозом, локальное нарушение естественного процесса воспроизводства рыб, токсичность среды обитания гидробионтов, повышенное содержание исследованных металлов в воде и атмосферных осадках связано с наличием постоянных источников загрязнения – промышленных, хозяйственно-бытовых сточных вод, атмосферных выбросов промышленных предприятий.

Река Волхов является постоянным источником выноса загрязняющих веществ в Волховскую губу Ладожского

озера, в загрязнение которой вносят вклад также местные источники. Гидрологические особенности этой акватории препятствуют накоплению загрязняющих веществ в донных отложениях, вынося их за пределы губы, а в зимний период загрязненные воды р. Волхов поступают транзитом к истоку р. Невы, что негативно сказывается на эколого-токсикологическом состоянии этого рыбохозяйственного водного объекта, являющегося источником питьевого водоснабжения г. Санкт-Петербурга.

Учитывая значимость р. Волхов и Волховской губы как источников загрязнения озера в целом и р. Невы в частности, необходимы срочные практические мероприятия по повышению эффективности очистки сточных вод и атмосферных выбросов загрязняющих веществ на промышленных предприятиях региона, а также действенный контроль со стороны природоохранных ведомств за недопущением случаев новых поступлений загрязняющих веществ в воду и атмосферу.

The Volkhov Bay of Ladoga Lake as a Source of Pollution of the Neva River.

N. Arshanitsa, O. Liashenko, M. Grebtsov, A. Stekolnikov, E. Kolesovskaia.

ABSTRACT

The ecological and toxicological studies were carried out in the Volkhov River, in the Petrokrepost Bay, and the Volkhov Bay of Ladoga Lake in 2011-2015, with the use of biological (pathological fish study and bioassay with the Crustacea *Daphnia magna*) and analytical (detection of metal concentration) methods of water quality control. The results revealed that these water areas have sufficiently high level of pollution; they are considerably contributing to the pollution of Ladoga Lake as a whole and of the Neva River headspring in particular.

The mass affection of fish by toxicosis and damage of the fish natural reproduction process in the investigated areas were detect-

ed during the research in the water areas mentioned above. Concentrations of some metals in water and atmospheric precipitations exceeded maximum permissible concentrations. The inflow of pollutants (including metals) is mainly connected to the wastewater and air emissions by the industrial enterprises from V. Novgorod, Kirishi, Volkhov and Syasstroy, which stipulates specific seasonal features of toxicological regime in these water areas. The pollutant outflow with the river waters together with toxicants from local sources and precipitations cause high levels of pollution in the Volkhov Bay of Ladoga Lake, which has a negative impact on aquatic organisms and on fish in particular.

The Volkhov Bay's hydrological features, especially in the winter period, contribute to the outflow of pollutants from the water area into the Petrokrepost Bay – the Neva River headspring; importantly, the Neva River is an essential fishery area and the source of water supply for Saint-Petersburg.

The research results confirm the necessity of practical measures for purification of waste waters and emissions from enterprises located in the Volkhov basin.

Key words: r. Volkhov, Volkhov Bay, Petrokrepost Bay, r. Neva, fish, water, bottom sediments, metals, toxicosis, bioindication, biotesting, MPC, PRA, toxicity

ЛИТЕРАТУРА

1. Федорова Г.В., Аршаница Н.М. Действие антропогенных факторов на разные звенья экосистемы бассейна Ладожского озера. Сб. научн. тр. ГосНИОРХ, вып. 285. Л., 1988. – с.3-11.
2. Носков А.С. Воздействие ТЭС на окружающую среду и способы снижения наносимого ущерба (токсикологические перспективы). Аналитический обзор/ А.С.Носков [и др.] – Новосибирск, 1999 – 184с.
3. Стекольников А.А. Особенности сезонного эколого-токсикологического состоя-

- ния реки Волхов. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. №3 – 2014. – с.236-241.
4. Румянцев В.А. Формирование качества воды Ладожского озера в современных условиях как основа его природных ресурсов./В.А. Румянцев, В.Г. Дрябкова// Сб.научн.тр. – СПб; М. Товарищество научных изданий КМК, 2007. – Вып.337 – с.472-482.
5. Кондратьев С.А. Формирование качества воды в системе Ладожское озеро – река Нева – Невская губа Восточной части Финского залива./ С.А. Кондратьев [и др.] // Финский залив в экосистеме Северо-Запада России: - СПб, 2012 – с.77-101.
6. Браун В.М. Рыбы как индикаторы качества вод./В.М.Браун/. Научные основы контроля поверхностных вод по гидро-биологическим показателям. Л. 1977. – с.194-208.
7. Аршаница Н.М. Рыбы как индикаторы качества вод /Н.М.Аршаница/. Материалы Всесоюзной конференции «Методология экологического нормирования». Харьков 16-20 апреля 1990 г., секция 3, - Харьков, 1990. – с.31-35.
8. Кашулин Н.В. Рыбы пресных вод Субарктики как биоиндикаторы техногенного загрязнения/Н.В. Кашулин [и др.] – Апатиты, 1999. – 142с.
9. Аршаница Н.М. Ихтиотоксикологическое исследование озер-охладителей Калининской АЭС как интегральная характеристика их экосистемы/ Аршаница Н.М. [и др.]// Доклады Всероссийского гидрологического съезда. 28 сентября-1 октября 2006 г. Санкт-Петербург: Секция 4-М.: Гидрометеоиздат. – с.86-91.
10. Adams S.M. A comprasion of health assesment approaches for evaluating the effects of contaminant-related stress of fish populations./ S.M.Adams, M.G.Ryon.// Aquatic Ecosist. Health. – 1994. – Vol.3. – p.15-23.
11. Cash K.J. Assessing and monitoring aquatic ecosystem health approaches using individual, population and community ecosystem measurements/K.J.Cash/. N.O.NothernRiverBasinsStudyProjectReport , 1995. P. – 168.
12. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний; ФР.1.39.2007.03222. – М.:Акваросс., 2007. – 51с.
13. Аршаница Н.М., Лесников Л.А. Патологоморфологический анализ рыб в полевых и экспериментальных условиях. Методы ихтиотоксикологических исследований. – Л. 1987. – с.7-9.
14. Виноградов А.П. Введение в геохимию океана. М. Наука.,1967. 190с.
15. Стекольников А.А., Иванов Д.И., Аршаница Н.М. Содержание металлов в рыбах и среде их обитания в верховье р. Волхов. Международный вестник ветеринарии: №2. Санкт-Петербург, 2015. – с – 50-56.
16. Асанова Т.А., Аршаница Н.М. Результаты гистологического и химического обследования пищеварительной железы моллюсков семейства Unionidae из оз. Ильмень и р. Волхов, возможность их использования в биологической оценке качества вод. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии: №1. 2015 – с.178-182.
17. Аршаница Н.М. Материалы ихтиотоксикологических исследований в бассейне Ладожского озера, сб.научн.тр., ГосНИОРХ, вып. 258., Л., 1988, с. 12-23.
18. Огородникова В.А., Суслопарова О.Н. Распределение и численность ранней молодежи массовых видов рыб в южной части Ладожского озера, сб.научн.тр., ГосНИОРХ, вып.314. Санкт-Петербург, 1995., с.- 231-248.
19. Гребцов М.Р. Экологотоксикологическое состояние Волховской губы ладожского озера. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. №3 – 2014, - с.229-235.

20. Аршаница Н.М., Онищенко Л.С. Использование патологоанатомического и патоморфологического методов для оценки состояния рыб Ладожского озера. Проблемы ихтиопатологии в начале XXI века. Сб. научн. тр. ГосНИОРХ – 2009, вып.338. с. – 11-16.
21. Онищенко Л.С., Аршаница Н.М. Сравнительная характеристика различных методов оценки качества сточных вод предприятий целлюлозно-бумажной промышленности и их влияние на водоемы. Сб. научн. тр. ГосНИОРХ, вып.313. Л. 1990. С – 78-122.
22. Сейсума З.К. Тяжелые металлы в гидробионтах Рижского залива/З.К. Сейсума [и др.] – Рига, 1984 – 178 с.
23. Трахтенберг И.М. Ртуть и её содержание в окружающей среде./И.М. Трахтенберг, М.Н. Коршун/ - Киев: Высшая школа, 1990. – 232с.
24. Гребцов М.Р. Эколого-токсикологическая оценка аэрогенного пути загрязнения поверхностных вод./ М.Р.Гребцов, А.А. Стекольников//. Международный вестник ветеринарии – 2013. – №1. – с.47-51.
25. Гребцов М.Р. К вопросу аэрогенного поступления металлов в Волховскую губу Ладожского озера. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. №2, СПб, 2015. – с. 374-376.

УДК: 616-07:619

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ (REAL - TIME PCR)

Сухинин А.А.- д.б.н., профессор, Макавчик С.А.- к.в.н, доцент,
Прасолова О.В. -аспирант

Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Мультиплексная полимеразная цепная реакция (ПЦР) представляет собой вариант ПЦР, в которой с участием нескольких пар праймеров одновременно амплифицируются фрагменты генома разных микроорганизмов. Мультиплекс ПЦР в реальном времени очень удобен и прост в постановке. Значительно сокращает время и труд, снижает стоимость исследования. Достоинствами метода мультиплексной Real-time PCR являются высокая специфичность, чувствительность, универсальность процедуры, простота и удобство проведения анализа, автоматизация процессов, возможность выявления сразу нескольких патогенов в одной пробирке при наличии в реакционной смеси соответствующих праймеров и зондов (мультиплексная ПЦР-РВ). И что не маловажно – в несколько раз сокращается стоимость исследования. Поэтому данный вид ПЦР может быть доступен для массового исследования и проведения мониторинга на территории РФ. Мультиплексную полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени использовали для одновременного обнаружения *Actinobacillus Pleuropneumoniae*, *Pasterella Multocida*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis*. Выявление *Mycoplasma hyorhinis* в мазках из полости носа не является достаточным для диагностики заболеваний, вызванных этим патогеном. *Mycoplasma hyorhi-*

nis является синантропных верхних дыхательных путей свиней, как было отмечено производителем. Образцы материала от свиней изучали. В 55% из этих обнаруженных *Actinobacillus Pleuropneumoniae*, 25% - *Pasterellamultocida*, 75% - *Mycoplasma hyorhynis* обнаружены в 85% случаев. В качестве расширения практического использования ПЦР, этот метод имеет потенциал, чтобы произвести значительную экономию времени и труда в лаборатории. Основными критическими моментами, по нашему мнению, в постановке Real-Time PCR являются: качество забора биологического материала для идентификации всех возбудителей; нарушения на этапе транспортировки материала; присутствие в биологическом материале ингибиторов ПЦР; адекватность выбора методики выделения ДНК (пробоподготовки образца).

Ключевые слова: мультиплексная полимеразная цепная реакция в реальном времени (MultiplexReal - time PCR), бактериальные респираторные инфекции, животноводство.

ВВЕДЕНИЕ

С ростом популярности метода ПЦР неизбежно растет и предложение тест-наборов, в том числе и отечественного производства. Неподготовленному потребителю довольно трудно разобраться в качестве того или иного предлагаемого на рынке диагностического набора, независимо от наличия прилагаемых документов и коммерческой активности фирмы-производителя. В такой ситуации можно лишь порекомендовать потребителям самим испытать разные тест-системы и сравнить их качество. К сожалению, далеко не всегда и не у всех есть возможность экспериментировать с приобретаемыми тест-наборами. В этом случае весьма полезно попытаться выяснить у производителя как создавалась и проверялась предлагаемая тест-система.

Все бактериальные респираторные патогены, в зависимости от способности вызывать заболевание, подразделяют на три группы [3,5,6]. В первую группу входят основные (первичные) вдыхаемые бактериальные патогены, при введении которых в трахею поросятам развивается пневмония. Они имеют факторы патогенности, преодолевающие естественную защиту в легких. К этой группе относят *Mycoplasma hyorhynis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*.

Вторая группа включает второстепен-

ные (вторичные) вдыхаемые патогены, при введении которых в трахею поросятам не развивается пневмония. Для ее развития требуются повреждения легких, обусловленные пневмотропными вирусами или микоплазмами. В эту группу входят *Pasteurella multocida*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*, *Mycoplasma hyorhynis*.

В третью группу входят бактериальные патогены, переносимые кровью при развитии септицемии. К этой группе относят *Salmonella cholerae suis*, *Actinobacillus suis*, *Actinomyces pyogenes* (*Arcanobacterium pyogenes*).

Mycoplasma hyorhynis (МН) - основной бактериальный респираторный патоген. Она поражает эпителиальные клетки респираторного тракта, нарушает функцию бронхиального аппарата по удалению вдыхаемых частиц пыли и микробов и совместно с одним или несколькими второстепенными бактериальными патогенами вызывает бронхопневмонию. Заболевание, обусловленное МН и второстепенными бактериальными патогенами, называют энзоотической пневмонией. Поражения легких при этой болезни обнаруживают у 30-80% свиней при убое. МН сама по себе обладает минимальной патогенностью, однако она усиливает поражения легких, вызываемые другими респираторными патогенами.

Pasteurella multocida (PM) циркулиру-

ет почти во всех свиноводческих хозяйствах. Здоровые свиньи часто являются носителями пастерелл; их, как правило, обнаруживают в носовой полости и миндалинах.

Различают пять капсульных серотипов РМ (А, В, Д, Е, F) три из которых (А, В, Д) обнаружены у свиней. Серотип В не встречается у свиней в странах Европы и Северной Америки. Его изредка обнаруживают у свиней в странах Юго-Восточной Азии. Из пораженных легких часто выделяют серотип А и реже серотип Д. Различают также 16 соматических серотипов РМ, из которых третий и пятый изолируют чаще. В комбинации с другими патогенами тяжесть поражений легких увеличивается.

Actinobacillus pleuropneumoniae - APP (ранее *Haemophilus pleuropneumoniae*) широко циркулирует в свиноводческих хозяйствах и чаще вызывает субклиническую инфекцию, чем развитие геморрагической некротизирующей пневмонии и фибринозного плеврита. В хронически инфицированных хозяйствах заболевание чаще регистрируют у поросят 2-3-месячного возраста. Вспышки плевропневмонии происходят после воздействия различных стресс-факторов, нарушения параметров микроклимата и инфицирования поросят другими респираторными патогенами. Различают 15 капсульных серотипов APP, из которых пять (1, 7, 11, 12, 13) обладают большей вирулентностью, чем другие серотипы. APP продуцирует 4 экзотоксина, обладающие гемолитической и цитотоксической активностью. При разрушении бактериальных клеток выходит эндотоксин, играющий важную роль в развитии болезни.

Mycoplasma hyorhinis (MHR) обнаруживают в носовой полости примерно 10% здоровых свиноматок и 30-40% нормальных поросят в период дорастивания. Она вызывает фибринозный полисерозит и артриты у поросят 3-10-недельного воз-

раста. В пораженных легких, наряду с MHR, также обнаруживают *M. hyopneumoniae* и *P. multocida*.

Применение метода мультиплексной полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени для дифференциального выделения микроорганизмов респираторных инфекций свиней в различных биологических образцах. Анализ преимуществ и недостатков мультиплексного молекулярно-генетического метода и перспективы его использования в практической ветеринарии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

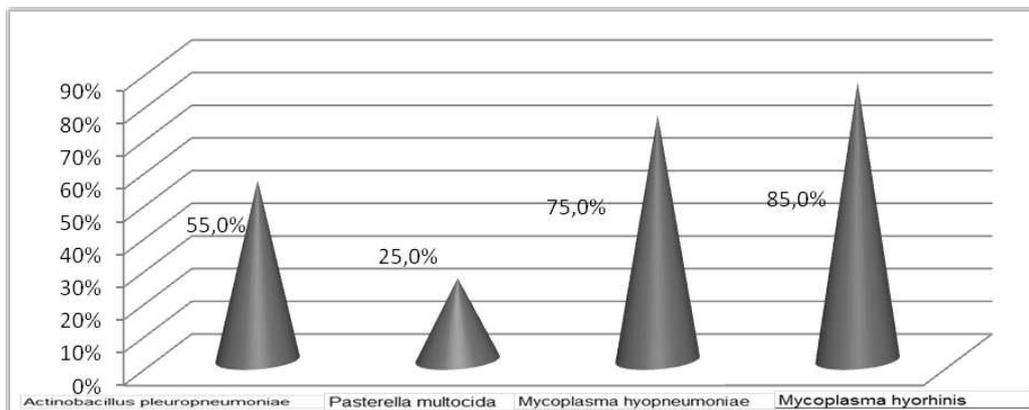
Выделение ДНК проводили из клинических образцов (носовые смывы, кусочки легких).

При постановке мультиплексной ПЦР использовали наборы «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» и «АмплиПраймРибо-преп». Измерение концентрации ДНК проводили с помощью прибора Qubit (Германия). Для проведения амплификации применяли наборы мультиплексов в соответствии с инструкцией производителя: - «Мик-диф», организация-производитель - ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, для идентификации *Mycoplasma hyopneumoniae* и *Mycoplasma hyorhinis*. - «Бактериальные респираторные инфекции свиней», организация-производитель - ЗАО «Синтол», г. Москва, для идентификации *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasterellamultocida*, *Actinobacilluspleuropneumoniae*. Амплификация специфических фрагментов ДНК осуществлялась в приборе "Rotor-Gene" производства CorbettResearch (Австралия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Подготовку проб исследуемых образцов осуществляли как с использованием стандартных методов (гомогенизация), так и методических подходов (соскоб, смыв и др.), позволяющих отойти от рутинных операций, тем самым сократив время пробоподготовки, не допустить

Диаграмма 1
Частота выявления возбудителей респираторных болезней свиней методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в реальном времени (Real - time PCR)



контаминации от пробе к пробе необходимо использовать стерильные инструменты).

Необходимо обеспечить отсутствие в пробирках с транспортной средой веществ, ингибирующих проведение реакции - кровь, слизь и т.д.

Важно также отметить, что выделение ДНК/ РНК необходимо проводить в условиях, исключающих перекрестное загрязнение исследуемых проб выделяемыми нуклеиновыми кислотами. Для исключения ложноположительного результата необходимо обязательное использование перчатокне обработанных тальком, качественных одноразовых пробирок и наконечников к автоматическим дозаторам, проведение предварительной ультрафиолетовой обработки помещения и рабочих поверхностей столов и приборов.

При проведении эксперимента нами подтверждена высокая специфичность и чувствительность двух тест-систем. Эффективность выделения ДНК подтверждена практически. И для набора с использованием сорбента, и при применении преципитата. Постановка амплификации удобна и проста. Амплификатор использует большинство каналов детекции (до 4 из 5). Исследовано 28 образцов ма-

териала от свиней. В 55% из них обнаружена *Actinobacillus pleuropneumoniae*, в 25% - *Pasterella multocida*, в 75% - *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Mycoplasma hyorhinis* выявлена в 85% случаев (диаграмма 1).

Установлено, что при респираторной патологии ведущую роль играют *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* (ранее *Haemophilus pleuropneumoniae*) и *Pasteurella multocida*. Однако, и другие инфекционные агенты могут играть существенную роль в инфекционной патологии свиней.

Необходимо отметить - выявление *Mycoplasma hyorhinis* в мазках из носовой полости не является достаточным для постановки диагноза болезни, вызванной этим возбудителем. *Mycoplasma hyorhinis* является комменсалом верхнего отдела респираторного тракта свиней, что отмечено самим производителем.

Однозначно интерпретировать результаты ПЦР - диагностики микоплазмозов на сегодняшний день довольно сложно. Основной недостаток данной диагностики связан с условно-патогенным характером микоплазм. Их обнаружение в клинических образцах не доказывает, что имен-

но микоплазмы являются причиной наблюдаемого воспалительного процесса. Оценить количество возбудителя посредством рутинной ПЦР нельзя. Поэтому при интерпретации положительного результата ПЦР необходимо учитывать результаты и других методов исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Достоинствами метода мультиплексной Real-time PCR являются высокая специфичность, чувствительность, универсальность процедуры, простота и удобство проведения анализа, автоматизация процессов, возможность выявления сразу нескольких патогенов в одной пробирке при условии наличия в реакционной смеси соответствующих праймеров и зондов (мультиплексная ПЦР-РВ). И что не маловажно – в несколько раз сокращается стоимость исследования. Поэтому данный вид ПЦР может быть доступен для массового исследования и проведения мониторинга на территории РФ.

Основными критическими моментами, по нашему мнению, в постановке Real-Time PCR в «преаналитическом» этапе являются: качество забора биологического материала для идентификации всех возбудителей; нарушения на этапе транспортировки материала; недостаточное количество жизнеспособных патогенов; присутствие в биологическом материале ингибиторов ПЦР; адекватность выбора методики выделения ДНК (пробоподготовки).

В «постаналитическом» этапе присутствуют элементы субъективной оценки при учете результатов - отсутствие диалога между лечащим врачом и врачом-лаборантом, неправильное назначение сроков проведения контрольных ПЦР исследований для оценки эффективности проведенной терапии, а так же квалификация персонала и организация работы ПЦР лаборатории.

Positive and negative aspects of diagnostic usage of multiplex polymerase

chain reaction in real time (Real - time PCR).

Suchinin A.A., Makavchik S.A., Prasolova O.V.

ABSTRACT

Multiplex polymerase chain reaction (PCR) is a variant of PCR in which two or more target sequences can be amplified by including more than one pair of primers in the same reaction. Multiplex Real-time PCR is very convenient and easy to staging. It significantly reduces the time, labor, and cost of the study. This type of PCR can be available for the mass research and monitoring in the Russian Federation. A multiplex real-time PCR assay was used for the simultaneous detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasterellamultocida*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis*. Identification of *Mycoplasma hyorhinis* in smears from the nasal cavity is not sufficient for the diagnosis of the disease caused by this pathogen. *Mycoplasma hyorhinis* is a commensal of the upper respiratory tract of pigs, as it was noted by the manufacturer.

The samples of material from pigs were studied. *Actinobacillus pleuropneumoniae* was detected in 55% of all cases, *Pasterellamultocida* – in 25%, *Mycoplasma hyopneumoniae* in 75%. *Mycoplasma hyorhinis* was detected in 85% of all cases.

As an extension to the practical use of PCR, this technique has the potential to produce considerable economy of time and labour within the laboratory.

In our opinion the main critical moments in the performance of Real-Time PCR are: the quality of sampling of biological material for the identification of pathogens; disorders during transportation of the material; presence of PCR inhibitors in the biological material; the adequacy of the choice of DNA extraction method (sample preparation).

Key words: Multiplex Real - time PCR, bacterial respiratory infections, livestock.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гинцбург А.Л. Современное состояние

и перспективы молекулярно-генетических методов в решении задач медицинской микробиологии // Микробиология, иммунология и вирусология.-1999.-№5.-С.22-26.

2. Момыналиев К.Т., Говорун В.М. Перспективы применения методов ДНК-диагностики в лабораторной службе. Часть 1. // Клиническая лабораторная диагностика.- 2000.- №4.- С.25-33.

3. Шевцов А.А., Русалеев В.С., Ширяев Ф.А., Потехин А.В. Экономически значимые болезни свиней бактериальной этиологии, методы их диагностики и средства

профилактики// Промышленное и племенное свиноводство.-2008.-№4.-С.31-35.

4. Desrosiers R. Control of bacterial respiratory diseases//Proc. 15th IPVS Ojngress.-1998.-P.21-25.

5. Done S.H. Porcine respiratory disease complex (PRDC)// The Pig Journal.-2002.-N50.-P.174-196.

6. Choi Y.K., Goyal S.M., Joo H.S. Retrospective analysis of etiologic agents associated with respiratory diseases in pigs// Can.Vet.J.-2003.-Vol.44.-P.735-737.



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 616-008.851.2:615.9:599.323.4

ЭХИНОЦИТОЗ, ИНТОКСИКАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС ФОСФАКОЛОМ И ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ

Алистратова Ф. И. - аспирант кафедры биохимии и физиологии,
Скопичев В.Г. - д. б. н., профессор кафедры биохимии и физиологии
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В работе представляются данные по установлению взаимосвязи между увеличением концентрации в сыворотке крови молекул средней массы (МСМ) и эхиноцитозом, частота проявления в крови эхиноцитов при экзогенной и эндогенной интоксикациях; зависимость между дозой фосфорорганической интоксикации (ФОИ), степенью эндогенной интоксикации и эхиноцитозом. Интоксикация - болезненное состояние, вызванное реакцией на организм эндогенных или экзогенных токсинов. МСМ относятся к веществам белковой природы, а также производным олигоспиртов и глюкуроновой кислоты, не осаждаемых трихлоруксусной кислотой. По этой причине их можно отнести к компонентам остаточного азота. Для большинства интоксикаций свойственно нарушение функционирования протеазной и антипротеазной систем. Большая часть МСМ представлена полипептидами с молекулярной массой 300—5000 Д, которые образуются в результате активации протеолиза. Эта фракция включает в себя гормоны, нейропептиды, медиаторы иммунного ответа и многие другие продукты белкового обмена, в целом определяющие высокую биологическую активность МСМ [1]. Отмечается определенный параллелизм между накоплением МСМ в крови и индукцией процессов

перекисного окисления липидов (ПОЛ), которые могут быть фактором генерации МСМ [2]. При изменении физико-химических свойств крови и метаболизма её клеток наблюдаются трансформация формы эритроцитов. Ведущее место в патогенезе интоксикаций занимают изменения рельефа поверхности эритроцитов, которые имеют большое диагностическое значение. Кроме того в них содержится дополнительная информация наряду с данными об их количестве, цветовом показателе и концентрации гемоглобина. Нами были проведены две серии опытов для изучения изменения морфологических и биохимических показателей крови при эндогенной и экзогенной интоксикации. Морфологические исследования рельефа поверхности эритроцитов показали, что деформация эритроцитов при введении ФОИ происходит путем сокращения и разрушения цитоскелета. Оценка токсикозов различной природы позволила выявить общий признак отравления – изменение формы и физико-химических свойств эритроцитов. Установлен дозозависимый эффект образования эхиноцитов в циркулирующей крови, которые являются причиной нарушения реологии крови. Основной причиной тканевой асфиксии являются нарушения микроциркуляции, возникающие в результате этого расстройства. [6]. Выявлена трансформация дискоцитов в эхиноциты, посредством электронной микроскопии, обусловленная изменениями в цитоскелете и плазмалемме эритроцитов. При этом клетка значительно уменьшает свой объём и приобретает острые выросты клеточной поверхности, заметно образование продуктов деструкции мембран. Степень тяжести отравления оценивалась по изменению формы эритроцитов.

Ключевые слова: молекулы средней массы, фосфакол.

ВВЕДЕНИЕ

Изменение рельефа поверхности эритроцитов в патогенезе интоксикаций имеют большое диагностическое значение. Кроме того несут дополнительную информацию наряду с данными об их количестве, цветовом показателе и концентрации гемоглобина. В условиях непосредственного контакта в периферическом русле токсины могут влиять на биохимические системы, ответственные за сохранение целостности мембран эритроцитов. Именно поэтому для изучения патологических процессов эритроциты являются наиболее удачной и незаменимой биологической моделью на уровне всего организма. При многих патологиях за счёт повреждения цитоскелета эритроциты превращаются в эхиноциты. В настоящее время установлены факты уменьшения числа нормоцитов (дискоцитов) и соответственного увеличения количества циркулирующих в крови эхиноцитов при экзотоксикозах, неспецифических заболеваниях, туберкулезе легких. Эхиноциты образуются при кренировании (т.е. обра-

зовании зубцов на плазмалемме) с различной степенью формирования выростов, которые впоследствии отпадают, при этом показано нарушение структуры и количества цитоскелетных белков. Происходит стабилизация опорных компонентов цитоскелета и активизация сократительных элементов, образование перекрестных швов между спектрином и гемоглобином. В верхней части вспучивания поверхности эхиноцита наблюдается уплотнение цитоскелетной структуры, а на боковой поверхности — кольцеобразная ориентация структурных элементов [3]. Мембранный материал теряется путем микровезикуляции. Если нормальные эритроциты способны значительно деформироваться для прохождения по микроциркуляторному руслу, то появление шипов на мембране и содержание в эхиноцитах на 50—70% больше холестерина, чем в норме, обуславливает снижение способности к деформации. При эхиноцитарной трансформации существенно меняется и заряд поверхностной мембраны эритроцитов, который является необходи-

мым условием для поддержания стабильности суспензии эритроциты — плазма. Вследствие деформации и агрегации эритроцитов нарушаются микроциркуляция и реологические свойства крови.

Нормальные эритроциты способны значительно деформироваться для прохождения по микроциркуляторному руслу [4,7]. Эхиноцитоз влечёт за собой агрегацию эритроцитов и является одной из причин нарушения кровообращения. Например, отравление фосфорорганическими соединениями (ФОС) протекает как экзотоксический шок, наблюдаются изменения артериол, капилляров и венул, конгломераты эхиноцитов закупоривают дистальные участки кровеносного русла, что способствует централизации кровообращения [10].

Нарушения компенсаторно – приспособительных систем, ответственных за транспортные и детоксикационные функции организма проявляются повышением в крови концентрации молекул средней массы (МСМ) - эндотоксинов – продуктов нарушенного обмена веществ, которые являются показателями интоксикации [5]. Интерес к исследованию молекул средней массы определяется, прежде всего, тем, что они получили известность как важные универсальные маркеры интоксикации. Эхиноцитоз и накопление продуктов гидролиза белка в виде молекул средней массы можно рассматривать как универсальные биохимические и морфологические изменения в составе крови при эндо- и экзогенных интоксикациях. Немаловажно, что эти маркеры не только являются последствием действия токсинов, но и сами порождают цепи патологических реакций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были проведены 2 серии исследований для изучения изменения морфологических и биохимических показателей крови при эндогенной и экзогенной интоксикации. В первой серии исследований опы-

ты выполняли на беспородных белых крысах, самцах с массой тела 189—250 г, 2 группы животных. В первой группе контроль составили 5 особей. Остальным крысам внутримышечно вводили фосфаткол: группа №1а-в дозе 0,5, ЛД50 (ЛД50=0,92±0,12 мг/кг), 5 особей; группа №1б - в дозе 5,0 ЛД50, 5 особей; группа №1в - в дозе 50 ЛД50, 5 особей. У всех животных первый забор крови производили из хвостовой вены через 15 мин после появления клинических признаков отравления (на высоте отравления ЛД50), второй - через 2 часа (время длительности судорог ЛД50). В качестве клинических тестов служили внешние проявления заболевания, массометрия в сочетании с исследованиями периферического состава крови, изучением незавершенного фагоцитоза нейтрофилов крови. Для выполнения электронно-микроскопических исследований эритроцитов каплю крови помещали в бюкс, заполненный 1.5%-ным раствором глутаральдегида, приготовленном на растворе Хенкса. Через 30 минут, после осаждения эритроцитов на покровном стекле, их отмывали раствором Хенкса и обезжизивали в этаноле возрастающей концентрации (до 100%). Окончательную сушку образцов осуществляли переходом критической точки CO₂ в аппарате HCR — 2 Hitachi — H-300. С помощью светового микроскопа «МКУ-1» подсчитывали процент деформированных эритроцитов в каждой пробе. Для определения уровня МСМ в сыворотке крови использовали скрининговый метод. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Морфологические исследования рельефа поверхности эритроцитов показали, что в контрольных образцах первой серии опытов они имеют типичную форму дисцитов (рис.1). Деформация эритроцитов при введении ФОИ осуществляется в значительной мере посредством сокраще-

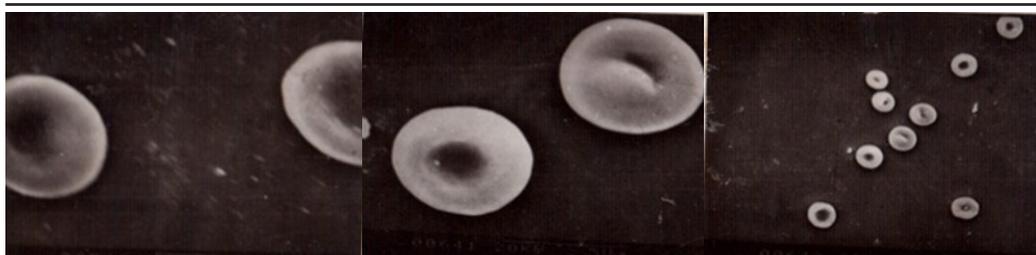


Рис. 1. Контроль



Рис. 2а. Деформация эритроцитов крови крыс в группе № 1а — в дозе 0,5, ЛД50

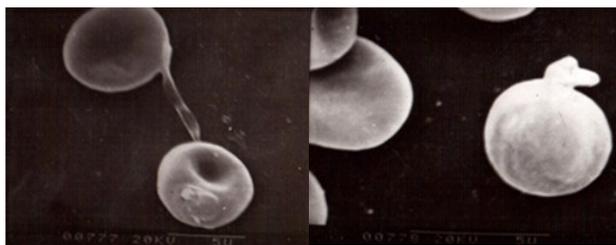


Рис. 2б. Деформация эритроцитов крови крыс в группе № 1б — в дозе 5,0 ЛД50

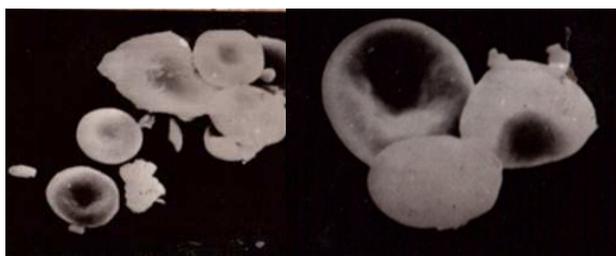


Рис. 2в. Деформация эритроцитов крови крыс в группе № 1в — в дозе 50 ЛД50

ния и разрушения цитоскелета.

Применение фосфакола в дозе 0,5 ЛД50 приводит к существенному изменению формы эритроцитов, которое сопровождается нарушением рельефа клеточной поверхности, образованием выростов на поверхности и значительным уменьше-

нием объема клеток (Рис. 2а).

При введении фосфакола в дозе 5 ЛД50 возникает набухание эритроцитов, которое компенсирует сжатие клетки. При этом нарушается рельеф клеточной поверхности, формируются гребни, наблюдается выброс клеточного материала (Рис. 2б.).

Наибольшая деформация эритроцитов выражена при максимальных дозах фосфакола (50 ЛД50). При этом можно наблюдать образование значительных по размерам (до 2—3 мкм) выростов клеточной поверхности, а кренирование эритроцитов в сочетании с нарушением их стромы приводит к их последующему разрушению (Рис. 2в.).

Количество эхиноцитов в группе № 1 через 15 минут после появления клинических признаков отравления составило: контроль - 3,4%, группа № 1а - 37%, № 1б - 51%, группа № 1в - 53%; через 2 часа - 3,2; 43; 49 и 64% соответственно. Установлена корреляция между дозой токсина (ФОС) и процессами эхиноцитоза. С помощью электронной микроскопии выявлена трансформация дискоцитов в эхи-

ноциты, обусловленная изменениями в цитоскелете и плазмалемме эритроцитов. При этом клетка значительно уменьшает свой объем и приобретает острые выросты клеточной поверхности, заметно образование продуктов деструкции мембран. Степень тяжести отравления оцени-

валась по изменению формы эритроцитов и другими исследователями. Ранее была отмечена деформация эритроцитов и эндотелиоцитов микрососудов при отравлении крыс и мышей ФОС. Сочетание деформации и агрегации эритроцитов с изменением клеток эндотелия приводит к тяжёлому расстройству микроциркуляции крови. Показано, что при отравлении крыс фосфаколом в дозе ЛД50 наблюдается эхиноцитоз и резкое замедление тока крови в микрососудах вплоть до стаза [8,9]. При введении опытным крысам фосфакола в микродозе (ЛД 0,01) были обнаружены изменения в форменных элементах крови: анизоцитоз эритроцитов с преобладанием клеток малого размера, звёздчатой формы, очаги агглютинации эритроцитов с последующим их гемолизом. Увеличение инъектируемой дозы фосфакола приводило к появлению в крови в значительном количестве звёздчатой формы эритроцитов и их агглютинации. Обращают на себя внимание изменения поверхностей и размеров эритроцитов. При определении МСМ отмечается увеличение их концентрации в сыворотке крови животных в соответствии со степенью интоксикации. Замечена корреляция между дозой ФОС и повышением уровня МСМ. Ранее отмечено, что увеличение концентрации МСМ в биологических жидкостях наблюдается при всех патологических состояниях, сопровождающихся эндогенной интоксикацией, и тесно коррелирует со степенью ее выраженности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый корреляционный анализ показывает наличие связи между процентной долей эхиноцитов и уровнем молекул средней массы. Изучена деформация эритроцитов крови крыс при отравлении фосфаколом. Показано, что увеличение деформации эритроцитов зависит от дозы токсина. Это увеличение совпадает с увеличением содержания молекул средней массы в крови. Обсуждается роль

этих изменений в патогенезе экзо и эндоинтоксикаций. Таким образом, поставленные исследованием задачи были решены и достигнута цель работы.

1. После отравления крыс фосфаколом процентная доля эхиноцитов в периферической крови достоверно увеличивается по отношению к интактным крысам. В сыворотке крови крыс после введения фосфорорганических соединений содержатся продукты распада белковых молекул

2. После введения крысам фосфакола форма эритроцитов изменяется с образованием эхиноцитов, что характеризуется появлением выростов на клеточной поверхности, отшнуровкой мембранного материала, уменьшением размера клеток и агрегацией деформированных эритроцитов.

Echinocytosis, fosfakol intoxication of erythrocytes of rats and change of the level of molecules of average weight.

F. Alistratova, V. Skopichev.

ABSTRACT

Violations of a configuration of erythrocytes in pathogenesis of intoxications have great diagnostic value. Besides they bear additional information on their quantity, a color indicator and concentration of hemoglobin. In the conditions of direct contact in the peripheral course toxins can influence the biochemical systems responsible for preservation of integrity of membranes of erythrocytes. That's why erythrocytes are the most successful and irreplaceable biological model at the level of the organism for studying pathological process. In pathological caused by the damage of cytoskeleton erythrocytes turn into echinocyte. The analysis of toxicoses of various etiology allowed to reveal the general symptom of poisoning – change of a form and physical and chemical properties of erythrocytes. The doze depending effect of formation of echinocyte in the circulating blood is found. The echinocyte are the index of the disorder in blood rheolo-

gy. The microcirculation resulting from this disorder is the main reason for tissue asphyxia. Echinocyte are formed as a result of crenation (i.e. formation of teeth on a plasmalemma) with various extent of formation of outgrowths which disappear subsequently, violation of structure and amount of cytoskeletal proteins is shown. There is a stabilization of basic components of a cytoskeleton and activation the contractile elements, formation of cross stitchings between spectrin and hemoglobin. In the top of the swelling in the surface of an echinocyte consolidation of cytoskeletal structure. Lateral surface — ring-shaped orientation of structural elements can be seen. Membrane material is lost by a microcirculation. If normal erythrocytes are capable to be deformed considerably of cholesterol passing through the microcirculatory course then emergence of thorns on the membrane and the content of the echinocyte is 50 — 70% more than in norm. All causes this can explain decline in the ability to deformation. At echinocytorny transformation charge of a superficial membrane of erythrocytes (which is a necessary condition for maintenance of stability of the balance between erythrocytes and plasmas significantly) changes. Owing to deformation and aggregation of erythrocytes microcirculation and rheological properties of blood are broken. Violations of compensating —adaptive systems responsible for transport and detoxification functions of an organism are displayed by increasing of blood concentration in molecules of average weight (MCM) (endotoxins) which are the products of the broken metabolism and are indicators of intoxication [10]. Interest to research of molecules of average weight is defined, first of all, by the fact thought they are important universal markers of intoxication. Echinocytosis and accumulation of products of hydrolysis of protein in the form of molecules of average weight is possible to consider as universal biochemical and morphological changes in composition of blood

at endo-and ekzo-gene intoxications. It is important that these markers are not only the result of effect of toxins, but also generate chains of pathological reactions.

Key words: molecules of average weight, phosphocol.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жичкина Л.В., Скопичев В.Г., Касумов М.К. Применение абдоминальной декомпрессии у животных. Практическое руководство для ветеринарных врачей // Учебно-методическое пособие для ветеринарных врачей. - Изд. СПбГАВМ, 2007. - 36 с.
2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. Т. 1. // Мн.: Интерпресервис, 2003. 494 с.
3. Пирадов М.А., Левченко Н.И., Габриэлян Н.И. Сравнительная оценка эффективности методов определения осмоляльности и средних молекул в прогнозе течения инсультов. // Лаб дело 1990; 5: 10-12: 11.
4. Скопичев В.Г., Прозоровский В.Б., Жичкина Л.В., Панченкова О.А. Основные принципы деттоксикации при воздействии фосфорорганических соединений (ФОС) // Международный вестник ветеринарии. 2006. № 3-4. С. 28-38.
5. Стародубцева М.Н., Кузнецова Т.Г., Егоренков Н.И. АСМ-исследование эритроцитов, кренированных активными формами азота // Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии. VII Международный семинар. Сборник докладов. Мн.: ИТМО НАН Беларуси, 2006. С. 148-152.
6. Чаленко В.В. Возможные причины повышения концентрации молекул средней массы при патологии // Патологическая физиология. 1991. № 4. С. 13-14.
7. Erythrocyte aggregation and erythrocyte deformability modify the permeability of erythrocyte enriched fibrin network / J.M. van-Gelder, C.H.Nair, D.P.Dhall // Thromb. Res. 1996. Vol. 1. № 82. P. 33-42.

8. Linderkamp O. et al. Impaired deformability of erythrocytes and neutrophils in children with newly diagnosed insulindependent diabetes mellitus // *Diabetologia*. 1999. Vol. 42. № 7. P. 865-869.
9. Parthasarathi K., Lipowsky H.H. Capillary recruitment in response to tissue hypoxia and its dependence on red blood cell deformabil-

ity // *Am. J. Physiol.* 1999. Vol. 277. № 6. Pt 2. P. H2145-2157.
10. The diagnostic relevance of red cell rigidity / R. Banerjee, K. Nageshwari, R.R. Puniyani // *Clin. Hemorheol Microcirc.* 1998. Vol. 19. № 1. P. 21-24.

УДК 619:612:636.2

РАЗРАБОТКА ЭНЕРГОМЕТАБОЛИЧЕСКОГО СОСТАВА И ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЛЯ НОРМАЛИЗАЦИИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ АЦИДОЗЕ И КЕТОЗЕ У КОРОВ

Евглевский А.А. - д.вет.н., профессор, заведующий лабораторией, Геков И.А.¹ - научный сотрудник лаборатории «Ветеринарная медицина», Михайлова И.И.² – к.вет.н., доцент кафедры акушерства, хирургии и физиологии домашних животных, Евглевская Е.П.³ – канд. с./х. н., доцент кафедры ВСЭ и биотехнологии,

Михайлова О.Н.⁴ – к.в.н, ст. преп. кафедры биологии, морфологии и вирусологии
¹Курский НИИ агропромышленного производства, ²Донского ГАУ, ³Курская ГСХА, ⁴Донского ГАУ



РЕФЕРАТ

В статье представлен краткий обзор, касающийся проблем с обеспечением здоровья коров в промышленном животноводстве и авторские подходы разработки ком-

плексного энергометаболического состава. В качестве основного метаболита использована янтарная кислота (ЯК). ЯК и ее соли обладают широким спектром воздействия на различные механизмы регуляции метаболической активности клеток. ЯК в десятки раз усиливает детоксикационную активность печени, что имеет существенное важное значение при токсикозах и отравлениях. В ходе клинических опытов и биохимических исследований установлено, что оральное однократное применение ЯК в количестве 15-25 г на коровах со средней массой тела 550-600 кг обеспечивало нормализацию основных обменных процессов и устранение метаболического ацидоза у 60-70 % особей. Для повышения факторов естественной резистентности организма животных нами была использована аскорбиновая кислота – (витамин С), являющаяся активатором ретикулоэндотелиальной системы, повышающая умеренно и на длительный срок устойчивость организма животных ко многим ядам эндогенного и экзогенного происхождения. Для улучшения вкуса органических кислот использовалась свекольная патока. В ходе поисковых опытов был определен наиболее оптимальный состав органических кислот, обеспечивающий выраженную стимуляцию обменных процессов, в том числе

и усиление защитных факторов организма животных. В количественном отношении энергометаболический состав содержит: янтарная кислота -15-20 г, лимонная кислота – 1-1,5 г, аскорбиновая кислота 2 - 2,5 г, патока свекольная 500 - 550мл, натрия хлорид 40 - 50 г. Порядок применения состава включал разведение 1-1,5 л концентрата в 4-5 литрах водопроводной воды и индивидуальном выпаивании. Энергометаболическим составом проводили и орошение корма. Клиническое состояние коров выражено улучшалось спустя час после выпаивания состава. Животные становились бодрее. У них проявлялась более активная жвачка. По результатам биохимических исследований установлено выраженное улучшение кислотно-щелочного баланса и позитивные изменения в обменных процессах, в частности в белковом и углеводном обмене. Предлагаемый энергометаболический состав отличается технологической простотой и вполне доступен для его внедрения в производство.

Ключевые слова: янтарная кислота, лимонная кислота, аскорбиновая кислота, свекольная патока, метаболизм, метаболический ацидоз, кетоз.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время высокие показатели молочной продуктивности коров в промышленном животноводстве достигаются в основном за счет использования в рационах высококонцентрированных кормов. Этим стараются восполнить энергетические потребности организма. Однако, увеличение доли концентратов в рационе более 50% неизбежно влечет развитие негативных последствий. Содержащийся в концентратах крахмал сбраживается в рубце до молочной кислоты. Кроме молочной кислоты в рубце образуются излишки масляной и пропионовой кислот. В результате происходит закисление содержимого рубца (ацидоз рубца). При высокой метаболической активности печени, основное количество молочной кислоты превращается через цикл Кребса в энергию. Однако, при постоянном поступлении в кровь большого количества молочной кислоты печень не в состоянии ее переработать. В таких случаях, концентрация молочной кислоты в крови превышает нормальный уровень и возникнет состояние метаболического ацидоза. Развитие метаболического ацидоза является основным патогенетическим механизмом таких заболеваний как гепатоз, острая дистрофия, остеомалация, слабость конечностей, артриты, ламиниты [3,4,5,6,8,

13,14].

С нарушением обмена веществ, протекающих по типу метаболического ацидоза, выражено снижается активность системы иммунитета, что повышает чувствительность организма к возбудителям эндогенных инфекций [5,9]. Для снижения риска развития патобиохимических процессов у коров в промышленном животноводстве разработано и применяется огромный арсенал кормовых добавок [10]. Однако, в нынешних экономических реалиях многие препараты стали недоступными для большинства хозяйств. Следует признать, что и коммерческая цена многих из них из ряда разумных. Именно это обстоятельство было принято во внимание при разработке серии энергометаболических составов из экономически доступных и хорошо известных компонентов. В качестве показательной иллюстрации, мы считаем целесообразным отразить в данной публикации результаты исследований по разработке энергометаболического состава и эффективность его применения при метаболическом ацидозе у молочных коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для разработки комплексного энергометаболического состава использованы органические кислоты: янтарная, лимонная, аскорбиновая; свекольная патока.

Клинические испытания проведены в условиях молочного комплекса учхоза «Знаменское» Курской ГСХА. Биохимические исследования по определению щелочного резерва сыворотки крови, содержания общего кальция, фосфора проводили согласно методик, используемых в настоящее время в ветеринарных лабораториях.

Математическую обработку полученных данных и оценку значения критерия достоверности (P) проводили по методике В.С. Ассатиани [1985].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве основного метаболита нами использована янтарная кислота (ЯК). ЯК и ее соли обладают широким спектром воздействия на различные механизмы регуляции метаболической активности клеток. ЯК в десятки раз усиливает детоксикационную активность печени, что имеет существенное значение при токсикозах и отравлениях. Стимулирующее действие ЯК особо выражено при ослаблении организма и его заболевании [9]. В ходе клинических опытов и биохимических исследований установлено, что оральное однократное применение ЯК в количестве 15-25 г на коровах со средней массой тела 550-600 кг обеспечивало нормализацию основных обменных процессов и устранение метаболического ацидоза у 60-70 % особей. Применение ЯК в количестве 10-15г на 1 голову менее эффективно для устранения метаболического ацидоза. Вполне результативным оказалось сочетание янтарной кислоты с лимонной. И это не случайно. Лимонная кислота является активатором янтарной кислоты в цикле трикарбоновых кислот Кребса [9].

Для повышения факторов естественной резистентности организма животных нами была использована аскорбиновая кислота - витамин С. Аскорбиновая кислота (витамин С) играет ключевую роль в антиоксидантной защите организма, в

том числе от окислительного стресса, являясь активатором ретикулоэндотелиальной системы, она умеренно и на длительный срок повышает устойчивость организма животных ко многим ядам эндогенного и экзогенного происхождения. Данное качество аскорбиновой кислоты очень важно при токсикозах различного генеза [7].

При разработке энергометаболического состава важная роль отводилась углеводному компоненту. Если исходить из практических реалий, то наиболее доступным и вместе с тем оптимальным компонентом следует считать свекловичную патоку. Свекловичная патока - широко используется в промышленном животноводстве в качестве источника углеводов, улучшения вкуса кормов. Ее включение в рацион лактирующих коров значительно повышает жирность молока [7].

Включение в энергометаболический состав натрия хлорид обусловлено тем, что ионы натрия регулируют кислотно-щелочное равновесие, которое неизбежно нарушается при патобиохимических процессах. Баланс натрия, а также его метаболизм существенно нарушается при гипокальцемии. Состояние гипокальцемии в той или иной степени выраженности наблюдается у глубокостельных коров и в лактационный период. Клинически это проявляется остеомалацией [1].

В ходе поисковых опытов был определен наиболее оптимальный состав органических кислот, обеспечивающий выраженную стимуляцию обменных процессов, в том числе и усиление защитных факторов организма животных. В количественном отношении энергометаболический состав содержит: янтарная кислота - 15-20 г, лимонная кислота - 1-1,5 г, аскорбиновая кислота 2 - 2,5 г, патока свекловичная 500 - 550мл, натрия хлорид 40 - 50 г. Порядок применения состава включал разведение 1-1,5 л концентрата в 4-5 литрах водопроводной воды и индивиду-

Таблица 1
Влияние энергометаболического состава на метаболические процессы при алиментарном ацидозе лактирующих коров

Показатели	Фоновые данные	Дни исследований после применения состава			
		5	10	15	25
Белок, г/л	94,9±2,56 95,2±2,48	87,8±2,45 96,1±2,54	88,53±2,34 97,5±2,38	88,9±2,46 97,6±2,02	89,2±2,37 97,3±2,48
Резервная щелочность общ. % CO ₂	38,2±2,52 38,5±2,36	44,3±2,54* 38,9±2,47	47,2±2,45* 37,6±2,08	52,8±2,54* 38,6±2,09	50,7±2,24* 37,6±1,98
Кетоновые тела, мг%	5,36±0,89 5,29±0,72	4,72±0,56 5,38±0,49	3,94±0,38 5,62±0,34	4,05±0,36 5,76±0,29	3,95±0,98 5,68±0,31
Кальций, ммоль/л	2,03±0,19 2,08±0,16	2,25±0,12 2,04±0,12	2,42±0,18 2,03±0,11	2,46±0,14 2,05±0,12	2,52±0,15 2,03±0,14
Неорганический фосфор, ммоль/л	1,95±0,24 1,86±0,24	1,89±0,26 1,89±0,28	1,72±0,34 1,87±0,26	1,69±0,22 1,88±0,25	1,72±0,18 1,89±0,32
Глюкоза, ммоль/л	2,26±0,32 2,28±0,45	4,26±0,28* 2,31±0,32	4,75±0,62* 2,53±0,24	4,89±0,25* 2,49±0,22	4,86±0,32* 2,36±0,34

Примечание: числитель – показатели у коров опытной группы; знаменатель – показатели у коров контрольной группы; * p < 0,05

Таблица 2
Влияние энергометаболического состава на обменные процессы при кетозе лактирующих коров

Показатели	Фоновые данные	Дни исследований после применения состава			
		5	10	15	25
Белок, г/л	89,72±2,44 89,38±2,25	89,67±2,27 89,65±2,28	88,27±2,48 89,73±2,26	89,54±2,65 89,62±2,43	89,37±2,53 89,56±2,42
Резервная щелочность общ. % CO ₂	33,5±2,62 34,1±2,46	39,8±2,41 33,8±2,42	41,9±3,18* 34,2±2,27	44,8±2,56* 33,5±1,98	48,5±2,38* 33,7±2,02
Кетоновые тела, мг%	14,51±2,36 14,85±2,33	11,54±2,32 15,04±2,28	10,26±1,95 14,95±2,07	10,24±1,92* 15,08±2,12	8,63±1,74* 15,03±2,06
Кальций, ммоль/л	2,02±0,15 2,11±0,14	2,26±0,11 2,06±0,12	2,38±0,21 2,07±0,12	2,42±0,32 2,03±0,14	2,45±0,28 2,06±0,12
Неорганический фосфор, ммоль/л	1,95±0,11 1,88±0,19	1,96±0,14 1,92±0,16	1,79±0,12 1,83±0,14	1,78±0,16 1,92±0,11	1,74±0,14 1,95±0,13
Глюкоза, ммоль/л	2,4±0,42 2,09±0,26	3,82±0,31* 2,10±0,12	4,08±0,36* 2,09±0,25	3,42±0,34* 2,05±0,24	3,85±0,32* 2,03±0,29

Примечание: числитель – показатели у коров опытной группы; знаменатель – показатели у коров контрольной группы; * p < 0,05

альном выпаивании. Энергометаболическим составом проводили и орошение корма. Наличие в составе патоки обеспечивало охотное питье или поедание корма. В ходе клинических наблюдений выявлено весьма быстро развивающаяся ответная реакция организма. Клиническое состояние коров выражено улучшалось спустя час после выпаивания состава. Животные становились бодрее. У них проявлялась более активная жвачка. Отмечено возрастание молочной продуктивности. Полученные результаты позволили перейти к клиническим испытаниям энергометаболического состава при наиболее распространенной в молочном животноводстве патологии – метаболическом ацидозе.

По результатам биохимических исследований провели целенаправленный отбор коров с выраженным ацидозным и кетозным состоянием. Коровам опытной группы двукратно, с интервалом 5 дней, выпаивался энергометаболический состав. Биохимические исследования провели на 5, 10, 15 и 25 сутки. Результаты биохимических исследований представлены в таблицах 1 и 2.

Полученные результаты мы интерпретируем следующим образом. Наиболее выражено влияние состава проявилось в отношении устранения метаболического ацидоза. Так, показатель резервной щелочности уже после первого применения состава у большинства особей пришел в норму. После повторного выпаивания произошла нормализация кислотно-щелочного баланса, и в таком стабильном состоянии этот показатель остался спустя 10 дней после последней (15 сутки) дачи состава. Нормализация показателя кислотно-щелочного баланса указывало на позитивные изменения в обменных процессах. Наиболее показательным это проявилось в белковом обмене. Так, если до применения испытуемого состава фоновый показатель был выше верхнего пре-

дела физиологической нормы, то спустя 10 дней он выражено снизился до средних значений. В дальнейших исследованиях содержание белка было стабильным и в пределах средних значений. Это свидетельствовало о благоприятном влиянии энергометаболического состава на биосинтез белка в организме, в т.ч. об усилении роли печени в белковом обмене. Об улучшении работы печени можно было судить и о снижении показателя кетонových тел в крови, в то время как этот показатель в контрольной группе не претерпел выраженных изменений.

Применение энергометаболического состава положительно отразилось и на минеральном обмене. Показатель содержания кальция на 5 сутки повысился до физиологических значений и оставался таким во все периоды контрольных исследований. Следует отметить, что при ацидозном состоянии наблюдается повышенное выведение кальция из организма. В свою очередь в регуляции кислотно-щелочного равновесия определенную роль играет фосфор, который входит в состав фосфатного буфера крови.

При оценке влияния энергометаболического состава на метаболические процессы при более тяжелой форме нарушения обмена веществ – кетозе установили следующее. После применения энергометаболического состава была выявлена позитивная тенденция снижения уровня гиперпротемии, кетонурии, повышения уровня резервной щелочности и глюкозы. Что касается снижения уровня кетонových тел в крови коров опытной группы, то этот показатель, хотя и выражено снизился по отношению к фоновому и контрольной группе, тем не менее, оставался на весьма высоком уровне. По всей видимости, это обусловлено необратимыми процессами в печени, в результате которых она не в состоянии восстановить свою функциональную способность. На это же указывает недостаточная активность пе-

чени к нормализации углеводного и минерального обмена, в сравнении с показателями, которые наблюдались в результате применения энергеметаболического состава при ацидозном состоянии.

Таким образом, результаты биохимических исследований свидетельствуют о том, что энергеметаболический состав обеспечивает хорошо выраженную коррекцию патобиохимических процессов при метаболическом ацидозе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты клинических испытаний послужили основанием для модификации данного состава, в частности включения целого ряда, жизненно важных микроэлементов. Это значительно расширило спектр биологической активности состава. В настоящее время модифицированные формы энергеметаболических составов, подробное описание которых представлены в патентах РФ № 2563237, № 2553360 весьма успешно проходят клинические испытания в системе мер обеспечения здоровья высокопродуктивных коров, в том числе профилактики родовых патологий, микотоксикозов, минеральной и йодной недостаточности.

Development of energymetabolic composition and its effectiveness for normalization of biochemical processes in cows with metabolic acidosis and ketosis .

A. Evglevsky, I. Mikhailova, E. Evglevskaya, O. Mikhailova, I. Gecov.

ABSTRACT

A brief overview of ensuring the cow health in the livestock industry and author's approaches to the development of an integrated energymetabolic composition are presented in the paper. Succinic acid (SA) is used as the main metabolic agent. SA and its salts have a widespread effects of different regulation mechanisms of cell metabolic activity. SA increases greatly the detoxification activity of the liver, which has a significant importance in toxicosis and poisoning.

It was found during clinical experiments and biochemical screening that a single oral application of SA in the amount of 15-25 g per cow with an average body weight of 550-600 kg had provided the normalization of the basic metabolic processes and elimination of metabolic acidosis in 60-70% of cows. To improve factors of natural resistance of animal organism, we used ascorbic acid (vitamin C), which is an activator of the reticuloendothelial system increasing moderate and long term stability of animal organism to many toxins of endogenous and exogenous origin. Beet molasses was used to improve the taste of organic acids.

The most effective composition of organic acids providing strong stimulation of the metabolic processes, including the increasing of the animal organism protective factors was determined during the experiments. Energymetabolic composition contains in terms of quantity: succinic acid -15-20 g, citric acid – 1-1.5 g, ascorbic acid- 2 - 2.5 g, beet molasses- 500 – 550ml, sodium chloride- 40 -50 g. The application of the composition involved dilution of 1-1,5 liters of concentrate per 4-5 litres of tap water and individual feeding. The spraying of feeds was carried out also by energymetabolic composition. The clinical condition of the cows was markedly improved in an hour after the feeding of the composition. Animals became more energetic. Their chewing became more active. According to the results of biochemical screening it was found the marked improvement of acid-base balance and positive changes in metabolic processes, particularly in protein and carbohydrate metabolism. The proposed energymetabolic composition is varied in technological simplicity and readily available for implementation into production.

Key words: Succinic acid, citric acid, ascorbic acid, beet molasses, metabolism, metabolic acidosis, ketosis.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борознов С.Л., Мацинович А.А. Анализ

- причин выбытия и решение проблемы сохранности высокопродуктивных коров // Уч. Зап. УО ВГЛВМ, 42,1, 142-144.
2. Состояние и проблемы обеспечения здоровья коров в молочном животноводстве и практические подходы их решения / Евглевский Ал.А., Евглевская Е.П., Н.Ф.Ерыженская, Д.А.Яшкин // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2012. № 9. С. 67-69.
3. Жаров А.В., Кондрахин И.П. Кетоз молочных коров. М, 1983. 102с.
4. Проблема сохранности высокопродуктивных коров / Мищенко В.А., Яременко Н.А., Павлов Д.К., Мищенко А.В. // Ветеринарная патология. 2005. №3. С. 95-99.
5. Особенности иммунодефицитов у крупного рогатого скота / Мищенко В.А., Яременко Н.А., Павлов Д.К., Мищенко А.В., Кононов А.В., Думова В.В. // Ветеринария. 2006. №11. С.17-20.
6. Мищенко В.А., Мищенко А.В. Проблемы заболеваний дистальных участков конечностей у высокопродуктивных коров // Мат. межд. НПК «Инфекционная патология животных», посвященные 50-летию. 2008. С.155-163.
7. Мозгов И.Е. Фармакология. М, 1979. С. 169, 261, 270-271.
8. Никулин И.А. Метаболическая функция печени крупного рогатого скота при силосно-концентратном типе кормления и ее коррекция гепатотропными препаратами: Автореф. дис. д.в.н. – Воронеж, 2008. – с.42.
9. Швец О.М. Теоретическое и экспериментальное обоснование применения янтарной кислоты для потенцирования биологической активности иммуномодуляторов и их клиническая эффективность: Автореф. дис. д.в.н. Курск, 2015. – с.45.
10. Шкурлатова И.А., Ряпосова М.В., Невинный В.К. Коррекция нарушений обмена веществ и воспроизводительной функции коров // Ветеринария. 2007. №9. С.9-11.
11. Энергометаболический состав для нормализации биохимических процессов при алиментарных ацидозах, гепатозах и микотоксикозах у коров: патент 2563237 Рос. Федерация № 2014127619/15; заявл.: 07.07.2014 ; опубл.20.09.2015, Бюл. №. 26. 12. Состав для стимуляции энергометаболических процессов и способ профилактики родовых патологий и послеродовых заболеваний у коров: пат.2553360 Рос. Федерации.№2012145882/15; заявл. 26.10.2012; опубл.10.06.2015, Бюл.№16.
13. Bogin E. Biochemical changes associated with the Tatty liver syndrome in cows / Bogin E., Avidar Y., Merom M. // J. comp. Pathol. 1988. - Т. 98. -№3. - P. 337-347
14. Kursa J. Hepatopatie u dojnic-aktuaini problem velkochovu / Kursa J., Klein Z., Kucerova J. //Veterinarstvi.-1988.-Т.38.-№4. -S.153-155.

ВЛИЯНИЕ ДОКСОРУБИЦИНА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КОРРЕКЦИОННОЙ СХЕМЫ НА ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИОКАРДА

Олейников Д.А. – аспирант кафедры внутренних болезней животных им. Синева А.В.,
Яшин А.В. – доктор ветеринарных наук, профессор
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Химиотерапия у онкологических пациентов всегда сопровождается побочными эффектами применяемых препаратов. Одним из наиболее распространенным является кардиотоксический эффект, провоцируемый, в основном, применением антрациклинов. Кардиотоксичность доксорубицина (один из самых распространенных антрациклинов) обычно сложно оценить ввиду ее патогенеза, включающего несколько факторов: оксидативный стресс, активация перекисного окисления липидов, интеркаляцию ДНК активными формами кислорода, нарушением баланса ионов Ca^{++} , Fe^{+++} , что проявляется не только метаболическими изменениями, но морфологическим ремоделированием миокарда в целом (фиброз) и гибелью кардиомиоцитов в частности (апоптоз). Индуцированная доксорубицином сердечная недостаточность может манифестировать через несколько лет, ввиду компенсаторных механизмов. Клинически данный эффект сложно выявить до момента нарушения систолической функции. Для контроля состояния миокарда после курса химиотерапии в гуманной медицине практикуется систематическая скрининговая эхокардиография, оценка уровня маркерных для повреждения миокарда белковых молекул, однако, «золотым стандартом» остается субэндомиокардиальная биопсия. В правильно отобранных образцах можно обнаружить разные стадии дегенерации клеток ткани сердца. Полученная информация в результате комплексного обследования позволяет предположить агрессивность развития патологии и используемые превентивные меры в каждом индивидуальном случае. В этой статье, мы попробуем оценить эффекты коррекционной схемы, которая включает тестостерон и экспериментальный экстракт миокарда, на доксорубицин-индуцированную кардиотоксичность на крысах линии Вистар. В эксперимент было включено 4 группы крыс женского пола. Доксорубициновая кардиомиопатия была индуцирована по общепринятой схеме. В данных материалах будет освещена гистологическая характеристика миокардиальных тканей у здоровых интактных животных, групп доксорубицина подвергнутых различным схемам лечения.

Ключевые слова: доксорубициновая кардиомиопатия, кардиомиоциты, тестостерон, миокардиальный экстракт, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что доксорубицин имеет дозозависимую кардиотоксичность, но все равно он остается одним из самых эффективных химиотерапевтических пре-

паратов в ветеринарной онкологии. Побочные эффекты обычно ведут к необратимой дилатационной кардиомиопатии, ассоциированной с повреждением миокарда и нарушением метаболизма кардио-

миоцитов. Однако, данный процесс часто остается незамеченным в течении длительного времени, до тех пор, пока не манифестирует бивентрикулярной недостаточностью и смертью [1,2,3]. К сожалению, неинвазивные методики не могут раскрыть действительное состояние миокарда, поэтому «золотым стандартом» выявления ранних стадий доксорубициновой кардиомиопатии является субэндомиокардиальная биопсия. Она отражает происходящие изменения в миокардиальной ткани: вакуолизация и лизис клеток, интерстициальный отек, фиброз, миграцию лейкоцитов [1,5,6].

К тому же, оксидативный стресс и повреждение ДНК, ассоциированное с действием доксорубицина, ведет к нарушению энергообразования в клетках миокарда. Неэффективная энергетическая супплементация тесно связана с патологической дистрофией, систолической и диастолической дисфункцией и активацией системы ренин-ангиотензин-альдостерон [2,4,5].

При развитии данного вида кардиомиопатии традиционные подходы к лечению сердечной недостаточности не всегда эффективны. Существует несколько препаратов, рекомендованных для профилактики развития данного осложнения, но доказательств о положительном эффекте этих средств у животных слишком мало, и, в большинстве своем, это попытка экстраполяции данных из гуманной медицины [2, 3].

В нашей работе мы попытались определить эффекты тестостерона и экспериментальной миокардиальной вытяжки на крыс линии Вистар с индуцированной доксорубициновой кардиомиопатией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперимент было включено 32 самки крыс линии Вистар, которые содержались в стандартных условиях вивария и имели свободный доступ к пище и воде. Животные были разделены на 4 группы

(n=8), включающие: интактную группу и субгруппы доксорубицина (доксорубициновая кардиомиопатия; кардиомиопатия + тестостерон; кардиомиопатия + тестостерон + экспериментальный экстракт). Продолжительность эксперимента составила 62 дня. Животные эвтаназировались по завершению периода лечения, затем отбирались образцы миокардиальной ткани и фиксировались в 10% формалине.

Отобранный материал окрашивался гематоксилин-эозином, железным гематоксилином и пикрофуксином, по Маллори, по Ван Гизону и проводилась ШИК-реакция.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При окрашивании гематоксилин-эозином у интактных животных была выявлена неизменная морфология клеток и ядра, исчерченность цитоплазмы. При окрашивании по Ван Гизону и Маллори были отмечены незначительные скопления соединительнотканых волокон, в основном в перивазальном пространстве. При окрашивании железным гематоксилином отмечалось большое количество миофиламентов и малое количество неспецифической цитоплазмы.

В контрольной группе доксорубицина была отмечена потеря специфичного тканевого рисунка и истончение кардиомиоцитов. Миокардиальные волокна утратили контакт с рядом лежащими волокнами, что проявлялось в увеличении интерстициального пространства. При окрашивании железным гематоксилином и пикрофуксином была обнаружена потеря большого количества контрактильного компонента цитоплазмы, с большими пространствами заполненными неспецифической цитоплазмой. При окрашивании по Ван Гизону и Маллори выявлялось существенное увеличение количества соединительнотканых волокон и их неупорядоченное расположение. ШИК реакция в цитоплазме была негативное, а также в

Таблица 1

Диаметр кардиомиоцитов

Группа	Интактные	Контроль-доксорубин	Доксорубин-тестостерон	Доксорубин-тестостерон-экстракт
M±m	14,31±0,45	5,83±0,444	10,97±0,6125	13,53±0,446

одном случае отмечалась массивная миграция лейкоцитов.

В группе тестостерон-доксорубин была отмечена тенденция к восстановлению объема кардиомиоцитов. Соединительно тканые волокна присутствовали в меньшем количестве и располагались перивазально. При окрашивании железным гематоксилином-пикрофуксином отмечалось восстановление объема контрактильного компонента цитоплазмы. ШИК-реакция выявила отложения гликогена в цитоплазме сопоставимое с таковым в интактной группе.

Морфология образцов группы доксорубин-тестостерон-экспериментальный экстракт практически соответствовала состоянию кардиомиоцитов интактной группы. Единичные соединительнотканые элементы обнаруживались в интерстициальном пространстве. При окрашивании железным гематоксилином – пикрофуксином отмечалось восстановление миофибрилярного компонента цитоплазмы. ШИК – реакция выявила большое количество нейтральных гликопротеидов в цитоплазме кардиомиоцитов.

Дополнительно было проведено измерение диаметров кардиомиоцитов.

Результаты указаны в таблице 1.

Измерения выявили тот факт, что доксорубиновая кардиомиопатия сопряжена с дистрофией и атрофией кардиомиоцитов. В группах с применением тестостерона и экспериментального экстракта отмечалось частичное восстановление клеточного объема.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гистоморфологические и гистохимические изменения отражают механизмы,

включенные в патогенез доксорубиновой кардиомиопатии. Повреждения кардиомиоцитов отмечались во всех экспериментальных группах, но в случаях применения тестостерона и экспериментальной вытяжки мы обнаружили положительную динамику в восстановлении миокардиальных клеток. Отмечалось снижение активности фиброза миокарда, активация восстановления объема миофиламентов и запасенного гликогена в цитоплазме.

Influence of Doxorubicin and Experimental Correction Scheme on Histological Characteristics of Cardiac Muscle

Oleinikov D.A., Iashin A.V.

ABSTRACT

Chemotherapy in oncology patients is always followed by side effects of therapeutic agents. One of the most common side effect is cardiotoxicity. Mainly it is caused by anthracycline therapy. Doxorubicin (the most common anthracycline) cardiotoxicity is usually difficult to estimate due to its pathogenesis, which include: oxidative stress, ROS activation, DNA intercalation with oxygen active forms, disturbance of Fe and Ca ionic balance, which leads not only to metabolic disorders but to morphological remodeling of myocardial tissue in general (fibrosis) and cardiomyocytes (apoptosis) in particular. Doxorubicin – induced heart failure can sometimes manifest itself not sooner than in several years due to compensatory mechanisms. Clinical detection of this effect is difficult before heart contractile function decrease occurs. In order to control myocardial condition after chemotherapy course in human medicine systematic screening echocardiography and estimation of specific for

myocardial damage protein molecules are usually practiced, but subendocardial biopsy still remains to be “the golden standard”. In correctly taken materials, it is possible to notify different stages of myocardial tissue cell degeneration. The information got from complex examination could give a chance to prediagnose the aggressiveness of pathology progressing and to apply preventive approach to every individual case. In this article, we are going to estimate effects of correction scheme, which include testosterone and experimental myocardium extract on doxorubicin-induced cardiotoxicity in Wistar rats model. Doxorubicin cardiomyopathy was induced in conventional accepted technique. In our experiment we used 4 groups of female rats. In this paper we analyze myocardial tissue histological characteristics of healthy intact animals and of animals from experimental doxorubicin groups treated according to different therapeutic schemes.

Key words: doxorubicin cardiomyopathy, cardiomyocytes, testosterone, myocardial extract, rats.

ЛИТЕРАТУРА

1. Billingham M.E., Mason J.W., Bristow M.R., Daniels J.R.: Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. *Cancer Treat Rep* 1978; 62: 865–872.
2. Broder H., Gottlieb R.A., Lepor N.E.: Chemotherapy and cardiotoxicity. *Rev Cardiovasc Med* 2008; 9: 75–83
3. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. Swain S.M., Whaley F.S., Ewer M.S. *Cancer*. 2003 Jun 1; 97(11):2869-79
4. Mauldin G.E., Fox P.R., Patnaik A.K., Bond B.R., Mooney S.C., Matus R.E.: Doxorubicin-induced cardiotoxicosis: clinical features in 32 dogs. *J Vet Intern Med* 6:82–88, 1992.
5. Minotti G., Menna P., Salvatorelli E., Cairo G., Gianni L: Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 185–229.

6. Schaper J., Meiser E., Stammler G: Ultrastructural morphometric analysis of myocardium from dogs, rats, hamsters, mice and from human hearts. *CircRes* 1985;56:377-391.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ЦИФЛУТРИНА В МОЛОКЕ ОВЕЦ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ЦИФЛУНИТ-ФЛОК

Глухарева Е.В. – аспирант, Балышев А.В. – старший научный сотрудник, к.б.н., Кочетков П.П. – научный сотрудник, Кашковская Л.М.-к.в.н., ООО «НИТА-ФАРМ» Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина



РЕФЕРАТ

В статье представлены материалы по разработке метода определения цифлутрина в молоке с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием, а также результаты по определению цифлутрина в молоке после применения препарата Цифлунит-Флок (ООО «НИТА-ФАРМ», г. Саратов) на поголовье овец.

Опыт проводили на овцах эдильбаевской породы массой 60-65 кг. Пробы молока отбирали до применения препарата, а затем через 12, 24, 48 и 72 часов после однократной обработки Цифлунитом-Флок в терапевтической дозе 10 мл на голову. Препарат наносили животным на кожу спины, раздвинув шерсть вдоль позвоночника от холки до крестца (методом *roug-on*).

В результате проведенных исследований разработан новый эффективный метод определения цифлутрина в молоке животных на ВЭЖХ и установлено, что данный анализ не накапливается в молоке, о чем свидетельствует отсутствие определяемых концентраций цифлутрина.

Ключевые слова: Цифлунит-Флок, цифлутрин, остаточные количества, молоко, овцы.

ВВЕДЕНИЕ

Профилактика и терапия паразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных являются актуальной проблемой животноводства и имеют широкое распространение несмотря на значительные успехи ветеринарной медицины.

В настоящее время разрабатываются и производятся различные виды противопаразитарных препаратов. В частности, компания ООО «НИТА-ФАРМ» разработала препарат Цифлунит-Флок, предназначенный для борьбы с энтомозами мелкого рогатого скотана основе 0,1% цифлутрина, относящегося к классу синтетических пиретроидов. Цифлутрин нашел широкое применение в сельском

хозяйстве в качестве инсектицида в растениеводстве и животноводстве [1].

С целью определения сроков выведения остаточных количеств цифлутрина из молока МРС после применения препарата провели настоящее исследование.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Принцип метода определения цифлутрина в молоке заключается в хроматографировании экстрактов молока, полученных после осаждения белков цифлутрина на жидкостном хроматографе с обращеннофазовой колонкой. Определение содержания цифлутрина производили с помощью метода внешнего стандарта (калибровочного графика). Методика была провалидирована в соответствии с ре-

комендациями [2, 3].

В исследовании использовался жидкостный хроматограф Waters с УФ-детектором Waters 2487 и автосемплером Waters 717 plus Autosampler, управляемый с помощью программы Breeze (версия 3.3 SPA), установленной на персональный компьютер. Хроматографирование проводили на колонке Kromasil60-5-CN (250x4.6 мм, диаметр частиц сорбента – 5 мкм) с предколной Kromasil CN (4x3 мм) со скоростью подачи подвижной фазы 1.5 мл/мин, состоящей из смеси дионизованной воды и ацетонитрила в соотношении 40:60 об/об.

Обработку животных и отбор проб молока проводили в личном подсобном хозяйстве Республики Калмыкия на 6 клинически здоровых овцах эдильбаевской породы в возрасте 2,5 лет массой 60-65 кг. Животные, участвующие в эксперименте, содержались в овчарне со свободным выходом на выгульный двор.

Цифлунит-Флок наносили овцам на кожу спины, раздвинув шерсть вдоль позвоночника от холки до крестца (методом push-on) в дозе 10 мл на голову однократно. Пробы отбирали до применения препарата, после 12, 24, 48 и 72 часов. Затем пробы замораживали и транспортировали в испытательную лабораторию экспериментальной терапии, на базе которой определяли содержание в них действующего вещества испытуемого препарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экстракцию из молока проводили по следующей методике: к 500 мкл образца молока добавляли 600 мкл ацетонитрила, достигая, таким образом, выпадения белков, и тщательно перемешивали до полной гомогенизации. Затем центрифугировали в течение 10 минут при 12000 об/мин и переносили супернатант в виалу хроматографа.

Полученные стандартные образцы растворов цифлутрина в элюенте и экстракты стандартных образцов растворов в

молоке использовали для определения времени удерживания целевого компонента и построения калибровочных графиков зависимости площади пика от концентрации цифлутрина. Процедуру калибровки цифлутрина в элюенте повторяли дважды (в разные дни). Примеры полученных хроматограмм представлены на Рис 1. Найденное уравнение калибровочной прямой зависимости площади пика от концентрации цифлутрина в молоке имело коэффициент линейной корреляции R^2 равный 0.9998, что говорит о линейности отклика в данном диапазоне.

Для оценки потерь аналита в ходе пробоподготовки были найдены значения степеней извлечения цифлутрина из молока, определяемые как отношения площадей пиков цифлутрина в экстрактах стандартных образцов в молоке к площадям пиков стандартных образцов в элюенте аналогичной концентрации. Степени извлечения цифлутрина во всем диапазоне калибровки варьировались от 63.2 до 104.9 %. Средняя степень извлечения цифлутрина из молока составила 78.6%.

Для нахождения предела детектирования (LOD) и предела количественного определения (LOQ) методики были исследованы экстракты холостых проб молока, в которых не добавляли цифлутрин. Определение LOD и LOQ осуществлялось в соответствии с [2,3,5]. Пример пустой хроматограммы, использованной для вычисления LOD и LOQ, приведен на рисунке 1 (б). На хроматограмме выделен "пик" шума при времени удерживания, соответствующем времени удерживания цифлутрина.

Вычисленные на основании полученных хроматограмм экстрактов холостых проб пределы обнаружения (LOD) и предел количественного определения (LOQ) цифлутрина в молоке составили 3.2 и 9.8 нг/мл. Полученное значение LOQ соответствует необходимым требованиям европейского агентства по развитию меди-

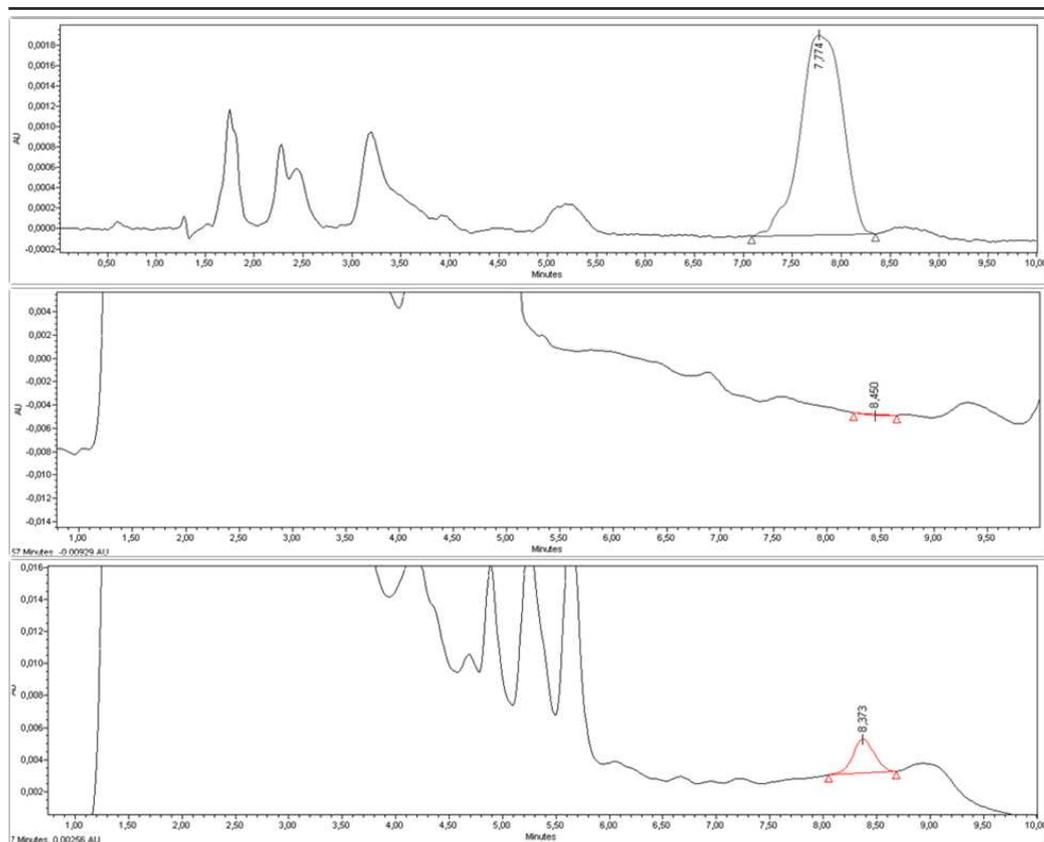


Рис. 1. Примеры хроматограмм: а – хроматограмма стандартного образца раствора цифлутрина в эюенте; б – хроматограмма экстракта холостой пробы молока, использованной для вычисления LOD и LOQ цифлутрина; в – хроматограмма экстракта стандартного образца раствора цифлутрина в молоке.

Таблица 1

Содержание цифлутрина в образцах молока овец

Время после обработки, час	Номер животного						Среднее	RSD, %
	1	2	3	4	5	6		
0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-	-
12	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-	-
24	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-	-
48	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-	-
72	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-	-

цинской продукции [4].

В результате валидации метода определения цифлутрина в молоке были установлены линейность отклика в диапазоне калибровки, значения степеней извлечения аналита, значения пределов детектирования и количественного определения. Показатели внутрилабораторной воспроизводимости и точности метода составили 6.8% и 19.3% соответственно для диапазона от 10 до 50 нг/мл. Для диапазона свыше 50 нг/мл показатели внутрилабораторной воспроизводимости и точности метода составили 7.3% и 5.8%. Таким образом, описанный метод позволяет идентифицировать цифлутрин в модельных пробах и образцах молока.

В таблице 1 приведены результаты определения цифлутрина в образцах молока овец после обработки Цифлунитом-Флок в дозе 10 мл на голову, которые свидетельствуют о том, что определяемые концентрации аналита в пробах молока отсутствуют.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан метод определения цифлутрина на жидкостном хроматографе, позволивший идентифицировать действующее вещество препарата в модельных пробах и образцах молока. Установлены пределы обнаружения (LOD) и пределы количественного определения (LOQ) цифлутрина в молоке, которые составили соответственно 3.2 и 9.8 нг/мл.

Проведенный анализ проб показал, что при обработке овец препаратом Цифлунит-Флок методом pour-on в дозе 10 мл препарата на голову действующее вещество цифлутрин не обнаруживается в молоке.

Determination of residues of cyfluthrin in milk of sheep after treatment by Ciflunit-Flock.

E. Gluchareva, A. Balishev, P. Kochetkov.

ABSTRACT

The article devorted residues of cyfluth-

rin in milk of sheep after treatment by Ciflunit-Flock. The study was conducted in a private homestead farm in Republic Kalmykia. The test was performed on six sheeps aged of 2.5 years, weight 60-65 kg. Animals were kept in the sheepfold with free access and were clinically healthy.

Ciflunit- flock applied to the skin of the back, parted hair along the spine from the withers to rump (by pour-on) at a dose of 10 ml per animal. Samples of milk were taken before and after 12, 24, 48 and 72 hours after application of drug. Then the samples were frozen and transported to laboratory experimental therapy where measured content of active ingredient of the test drug.

Determination of cyfluthrin carried out by HPLC method. The active ingredient cyfluthrin analyzed by HPLC "Waters" with a UV detector "Waters 2487" pump "Waters 1525" and autosampler "Waters 717 plus Autosampler", controlled by using the "Breeze" (version 3.3 SPA). Limits of detection (LOD) cyfluthrin in milk was 3.2 ng / ml, quantification limits (LOG) was 9.8 ng / ml. Results of determination cyfluthrin in milk of sheeps after treatment by Ciflunit-Flock at a dose of 10 ml per head suggested that cyfluthrin was not contained in milk samples.

Key words: Ciflunit-Flock, cyfluthrin, residues, milk, sheeps.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипов И.А., Квичко Л.И., Абрамов В.Е. Эффективность препарата на основе цифлутрина против зоофильных мух // Мат. Докл. науч. конф. Всерос. О-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – М., 2011. – Вып. 12. – С. 41-43.
2. Белов Д.А. Химические методы и средства защиты растений в лесном хозяйстве и озеленении: Уч. пособие для студентов. – М., 2003. – 128.
3. Эпштейн Н. А. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе (обзор) Химико-

фармацевтический журнал. Том 38, № 4, 2004.
4. Cyfluthrin. Summary Report. EMEA/MRL/746/00-FINAL. July 2000

5. Dean R. B. and Dixon W. J. (1951) "Simplified Statistics for Small Numbers of Observations". Anal. Chem., 1951, 23 (4), 636–638.

УДК : [616-005.1-08:331.1]:615.22

АНТИАГРЕГАЦИОННЫЕ ВЛИЯНИЯ СОСУДОВ НА ТРОМБОЦИТЫ У ТЕЛЯТ МОЛОЧНОГО ПИТАНИЯ

Завалишина С.Ю. – к.б.н., доцент, докторант
Всероссийский НИИ физиологии, биохимии и питания животных



РЕФЕРАТ

Интенсивность синтеза в стенке сосудов телят веществ с антиагрегационной активностью в значительной мере определяет состояние всего гомеостаза в их организме, регулируя жидкостные свойства крови и процессы микроциркуляции в тканях растущего молодняка. При этом, в фазу молочного питания при подготовке к переходу на питание растительными кормами, успешность микроциркуляции особенно важна, т.к. в этом возрасте во многом закладываются основы продуктивных качеств животного. Проведено обследование 32 здоровых телят молочного питания черно-пестрой и симментальской пород, имеющих низкий уровень эндотелиоцитемии. У телят в течение фазы молочного питания установлено постепенное усиление контроля стенки сосудов над адгезивной способностью кровяных пластинок через нарастание депрессивных влияний со стороны сосудистой стенки на плотность коллагеновых рецепторов-гликопротеидов Ia – IIa и VI на мембране тромбоцитов и в результате понижения синтеза в сосудах фактора Виллебранда, являющегося кофактором данного процесса. У телят в течение фазы молочного питания отмечено также понижение влияния на тромбоциты сильных и слабых индукторов агрегации, во многом вследствие понижения экспрессии фибриногеновых рецепторов (GPIIb-IIIa) на тромбоцитах и ослабления функциональной активности их фосфолипаз A₂ и C под действием сосудистых дезагрегантов. На это указывала найденная тенденция к нарастанию значений индексов антиагрегационной активности сосудистой стенки со всеми испытанными индукторами и их сочетаниями.

Ключевые слова: телята, фаза молочного питания, антиагрегационная способность, сосудистая стенка, эндотелиоцитемия.

ВВЕДЕНИЕ

Скотоводство в современном мире является весьма интенсивно развивающейся отраслью сельского хозяйства [7]. Своей динамикой она обязана успешно проводимым в разных странах исследованиям в области физиологии крупного рогатого скота разного возраста. Установ-

лено, что большое значение для онтогенеза этих продуктивных животных имеет система крови [8,9,10], ее биохимические [14,15] и реологические свойства [13]. Выяснено, что невысокий уровень агрегации форменных элементов крови и интенсивное образование в стенке сосудов веществ с антиагрегационной активностью

оптимальны для обеспечения гемостаза [11] и процессов микроциркуляции в тканях [3]. Вместе с тем, агрегация тромбоцитов и сосудистый контроль над нею [4] весьма чувствительны к различным дисфункциям [1,6] и нарушениям общего состояния животных в любом возрасте [2,10]. При этом, фаза молочного питания у телят весьма физиологически важный этап, т.к. связана с их подготовкой к переходу на питание растительными кормами. Становится ясно, что успешность сосудистого контроля над агрегацией тромбоцитов у них в этом возрасте, а, следовательно, оптимум микроциркуляции, необходимы для максимального развертывания программы их будущих продуктивных качеств [2,15]. Учитывая недостаточную исследованность сосудистого контроля над тромбоцитами у телят первого месяца жизни, в работе поставлена цель – оценить антиагрегационные возможности сосудов в отношении тромбоцитов у телят молочного питания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 32 здоровых теленка молочного питания чернопестрой и симментальской пород, которые осматривались и обследовались 5 раз: на 11-е сутки, 15-е сутки, 20-е сутки, 25-е сутки и 30-е сутки жизни. В крови всех телят регистрировалась выраженность эндотелиоцитемии с помощью камеры Горяева. В работе с помощью визуального микрометода регистрировалась агрегация тромбоцитов (АТ) [12] с АДФ ($0,5 \times 10^{-4}$ М), коллагеном (разведение 1:2 основной суспензии), тромбином (0,125ед/мл), ристомицином (0,8 мг/мл) и адреналином ($5,0 \times 10^{-6}$ М.), а также с их сочетаниями – АДФ и адреналин, АДФ и коллаген и коллаген и адреналин в тех же концентрациях со стандартизированным количеством тромбоцитов в исследуемой плазме (200×10^9 тр.) до и после временной венозной окклюзии. Рассчитывался индекс антиагрегационной активности

сосудистой стенки (ИААСС) путем деления длительности АТ на фоне искусственного венозного застоя на время возникновения АТ без него. Результаты обработаны критерием (td) Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

У телят молочного питания выявлен низкий уровень эндотелиоцитемии ($1,5 \pm 0,04$ клеток/мкл на 11-е сутки жизни и $1,7 \pm 0,06$ клеток/мкл на 30-е сутки), что указывало на высокую целостность эндотелиальной выстилки их сосудов.

Для здоровых телят в течение фазы молочного питания оказалось характерно постепенное нарастание ИААСС со всеми примененными индукторами и их комбинациями (табл. 1).

Наибольший ИААСС был отмечен для АДФ вследствие максимального замедления АТ с этим агонистом в пробе с временной венозной окклюзией. Несколько ниже оказался ИААСС с адреналином и коллагеном. Еще ниже был ИААСС с тромбином достигал $1,55 \pm 0,04$ и ристомицином достигал $1,55 \pm 0,04$, величины которых также нарастали в течение фазы молочного питания. Индексы агрегационной активности сосудистой стенки при одновременном применении двух индукторов хотя были в абсолютных значениях ниже, но также испытывали тенденцию к нарастанию с 11-х по 30-е сутки жизни телят, что также указывало на повышение у животных выработки в стенке сосуда антиагрегантов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большую роль в процессе адаптации организма млекопитающего к меняющимся условиям внешней среды играет состояние системы крови, связывающей воедино организм растущего животного [14]. Ее агрегатное состояние находится под постоянным контролем со стороны сосудистой стенки [3] и может меняться при многих состояниях [1,5,13]. Сосудистый контроль над жидкостными свойствами крови связан с синтезом в эндотелии со-

Таблица 1

Антиагрегационная активность сосудов у телят молочного питания

Параметры	Фаза молочного питания, n=32, M±m				
	11 сут. жизни	15 сут. жизни	20 сут. жизни	25 сут. жизни	30 сут. жизни
ИААСС с АДФ	1,75±0,10	1,76±0,03	1,77±0,05	1,78±0,04	1,79±0,05
ИААСС с коллагеном	1,61±0,04	1,62±0,02	1,63±0,04	1,64±0,05	1,64±0,04
ИААСС с тромбином	1,52±0,04	1,53±0,07	1,53±0,08	1,54±0,05	1,55±0,04
ИААСС с ристомидином	1,52±0,02	1,53±0,04	1,53±0,07	1,54±0,02	1,55±0,04
ИААСС с адреналином	1,65±0,11	1,65±0,05	1,66±0,07	1,67±0,03	1,68±0,08
ИААСС с АДФ и адреналином	1,43±0,08	1,44±0,02	1,44±0,07	1,45±0,03	1,46±0,06
ИААСС с АДФ и коллагеном	1,36±0,03	1,37±0,04	1,37±0,02	1,38±0,01	1,39±0,03
ИААСС с адреналином и коллагеном	1,48±0,03	1,49±0,06	1,49±0,05	1,50±0,02	1,51±0,07

Примечание: достоверности динамики учитываемых показателей не выявлено

судов факторов, ослабляющих агрегацию тромбоцитов [4]. В ходе проведенного исследования было выявлено, что у здоровых телят в течение фазы молочного питания происходит усиление контроля стенки сосудов над адгезией кровяных пластинок, сочетающееся со снижением активности тромбоцитарных коллагеновых рецепторов-гликопротеидов Ia – IIa и VI при одновременном снижении синтеза в сосудах фактора Виллебранда, являющегося кофактором данного процесса [5]. Кроме того, для телят молочного питания в условиях постепенного нарастания синтеза сосудистой стенкой физиологических антиагрегантов характерно ослабление фиксации сильных агонистов агрегации (коллагена и тромбина) с их собственными рецепторами на мембране тромбоцитов, приводя к ослаблению в кровяных пластинках активности фосфолипазы С, торможению фосфоинозитольного пути активации тромбоцитов и понижению фосфолирирования белков со-

кратительной системы. У телят в течение фазы молочного питания отмечено также сдерживание со стороны сосудов агрегации тромбоцитов в ответ на слабые индукторы агрегации (АДФ и адреналин). Это происходило во многом вследствие понижения в ответ на рост выброса из сосудов простациклина и оксида азота экспрессии фибриногеновых рецепторов (GPIIb-IIIa) на тромбоцитах и ослабления функциональной активности их фосфолипазы A₂ [10,11]. Таким образом, у телят в течение фазы молочного питания отмечается повышение антиагрегационной активности стенки сосудов.

Antiaggregation influence vessels on platelet calves milk supply.

S. Zavalishina.

ABSTRACT

The intensity of the synthesis in the vascular wall calves antiplatelet agents with activity largely determines the state of the whole homeostasis in their body, adjusting the liquid properties of blood and microcir-

ulation in the tissues of growing young. At the same time, it is in the phase of the milk supply in preparation for transition to the power plant feed, the success of the micro-circulation is especially important, because at this time in many ways laid the foundations of productive qualities of the animal. The study involved 32 healthy calves milk supply black-and-White and Simmental breeds with a low level of endothelium. In calves during the phase of the milk supply established a gradual strengthening of control vessel walls on the adhesive ability of platelets through the increase in depressive influences from the vascular wall on the density of the collagen receptor glycoprotein Ia-IIa and VI on the platelet membrane and the resulting reduction of synthesis in vascular von Willebrand factor, is a cofactor of the process. In calves during the phase of dairy food was also lowering the impact on the strengths and weaknesses of platelets aggregation inducers, largely due to reduced expression of fibrinogen receptors (GPIIb-IIIa) on platelets and the weakening of the functional activity of phospholipase A2 and C under the action of vascular antiplatelet. This is indicated found tendency to increase the values of the index of antiplatelet activity of the vascular wall with all tested inductors, and combinations thereof.

Key words: calves, dairy phase power supply, the ability of antiplatelet, vascular wall, endothelium.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белова Т.А. Профилактика наступления тромбоцитопатии при функциональных нарушениях пищеварения у новорожденных телят / Т.А. Белова, Н.В. Кутафина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015.– №11.– С.32-37.
2. Кутафина Н.В. Динамика физиологических показателей телят в раннем онтогенезе // Зоотехния. – 2015.– №3.– С.25-27.
3. Кутафина Н.В. Механизмы функционирования сосудистого гемостаза /Н.В. Кутафина // Международный научно-исследовательский журнал. – 2012.– №5-3 (5).– С.65-66.
4. Медведев И.Н. Антиагрегационное влияние сосудистой стенки на основные форменные элементы крови у телят в фазу молочного питания / И.Н. Медведев И.Н., С.Ю. Завалишина, Н.В. Кутафина, О.В. Нагорная // Сельскохозяйственная биология. –2014. – №4. – С.80-85.
5. Медведев И.Н. Функциональные характеристики тромбоцитов и эритроцитов у крупного рогатого скота // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015.– №8. – С.24-36.
6. Медведев И.Н. Физиологические особенности микрореологических свойств эритроцитов у поросят молочного питания, находящихся в условиях негативных влияний внешней среды / И.Н. Медведев, А.В. Парахневич, С.Ю. Завалишина, Н.В. Кутафина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. –2015.– №10.– С.30-37.
7. Мысик А.Т. Развитие животноводства в мире и России // Зоотехния.–2015.–№1.– С.2-5.
8. Парахневич А.В. Функциональные возможности свертывающей системы крови у супоросных свиноматок /А.В. Парахневич, Н.В. Кутафина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015.– №9.– С.11-17.
9. Парахневич А.В. Коагуляционные свойства плазмы у поросят молочно-растительного питания / А.В. Парахневич, Н.В. Кутафина // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. –2015.– №11. – С.53-57.
10. Medvedev I.N. Hemostatic System Activity in Milk- and Plant-Fed Calves / I.N. Medvedev, S.Yu. Zavalishina // Russian Agricultural Sciences.–2013.– №39(1). – С.74-77.
11. Medvedev I.N. Meccanismi di base vascolare-piastrine emostasi / I.N. Medvedev, S.Yu. Zavalishina, E.G. Krasnova, T.A. Belova, N.V. Kutafina // Italian Science Review.– 2014.– №3(12).– P.167-169.

12. Medvedev I.N. Approcci metodologici per valutare l'aggregazione piastrinica / I.N. Medvedev, S.Yu. Zavalishina, N.V. Kutafina, E.G. Krasnova // Italian Science Review. – 2015. – №1(22).– P.15-17.

13. Medvedev I.N. Dynamics of the Intra-vascular Activity of Platelets in Young Men with High Normal Blood Pressure Regularly Practicing Physical Activity / I.N. Medvedev, A.P. Savchenko, Ya.V.

Kiperman // Biology and Medicine (Aligarh) 2015. 7:1 BM-069-15.

14. Oskar Nagy. Age-related changes in the concentrations of serum proteins in calves // J. of Applied Animal Research.–2014.– Vol.42, №4.–P.451-458.

15. Tóthová Csilla. Changes in the concentrations of serum proteins in calves during the first month of life // J. of Applied Animal Research.–2016.– Vol.44, №1.–P.338-346.



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 619+615.038+615.013

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ СУСПЕНЗИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫМ ЖИВОТНЫМ

Косман В.М.¹-к.ф.н., с.н.т., Пожарицкая О.Н.¹- к.ф.н., в.н.с., Шиков А.Н.¹- д.ф.н., в.н.с.,
Гушина С.В.²- рук. провизорской службы, Макарова М.Н.²- д.м.н.,
¹ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», ²ЗАО НПО «Дом Фармации»



РЕФЕРАТ

Внутрижелудочное введение твердых лекарственных препаратов в виде суспензий в инертных носителях является общепринятым в фармакологических доклинических исследованиях с использованием лабораторных животных. Для получения достоверных результатов таких исследований важна стабильность суспензий от момента их приготовления до момента введения.

По результатам экспериментальной работы установлена стабильность модельных суспензий в 1% крахмальном геле по показателям однородность частиц дисперсной фазы, высота отстоявшегося слоя, ресуспендируемость, рН и сухой остаток в течение 4 часов – максимально допустимого срока между приготовлением суспензии и введением животным.

Установлена стабильность суспензий после пропускания через зонды для внутрижелудочного введения мышам и крысам.

Выполнены валидационные испытания стабильности модельных суспензий для введения животным по показателю рН по параметру прецизионность, по показателю высота отстоявшегося слоя по параметрам линейность и прецизионность, по показателю сухой остаток по параметрам линейность, точность и прецизионность. Получены удовлетворительные результаты по всем валидационным критериям.

На примере дарунавира показано, что суспензия препарата для введения животным

стабильна по содержанию основного действующего вещества, рН и содержанию сухого остатка. Это позволяет предположить, что при проведении рутинных экспериментов двух показателей – рН и содержание сухого остатка может быть достаточно для оценки качества суспензии дарунавира для введения лабораторным животным.

Ключевые слова: суспензия для введения животным, стабильность, валидация.

ВВЕДЕНИЕ

Доклинические исследования являются важным этапом разработки лекарственного препарата, позволяющим изучить его фармакологические и токсические свойства.

Получение воспроизводимых и достоверных данных в ходе доклинических исследований гарантируется соблюдением принципов GLP, которые регулируются в России Приказом Минздравсоцразвития РФ №708н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» и ГОСТ Р-33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Многие виды доклинических исследований, прежде всего изучение токсичности, предполагают проведение экспериментов с использованием лабораторных животных. Особенности введения изучаемых лекарственных препаратов экспериментальным животным обусловлены с одной стороны биологическим видом тест-системы (кролики, крысы, мыши и др.), с другой – лекарственной формой и агрегатным состоянием изучаемого объекта. Способ введения препаратов при проведении доклинических исследований должен быть таким же, как рекомендованный для их дальнейшего применения. Пероральный прием является одним из наиболее распространенных способов введения лекарств человеку. При проведении экспериментов с лабораторными животными этот путь может быть реализован введением препарата с кормом и/или водой; в таблетках (в целом виде) или с помощью внутрижелудочного зонда [5,6,9-11]. Введение с пищей или водой не позволяет быстро и точно дозировать необходимое количество лекарственного препарата;

введение в таблетках с помощью таблетодавателя возможно только крупным животным (собаки, кошки, мини-пиги) и затруднительно при работе с мелкими грызунами (крысы, мыши), являющимися наиболее частой тест-системой доклинических испытаний. Поэтому одним из наиболее распространенных способов введения изучаемых препаратов лабораторным животным является внутрижелудочное введение исследуемых объектов с помощью специального зонда. Этот способ рекомендован [6], как обеспечивающий наиболее точное дозирование лекарственных препаратов.

Зонды для внутрижелудочного введения представляют собой металлические изогнутые трубки с оливой на конце, надеваемые на шприц-дозатор. Размеры зондов зависят от вида животных, для которых они предназначены. Зонд для введения мышам обычно имеет диаметр оливы до 1,5 мм, толщину трубки до 1 мм, длину – 3-4 см; зонд для введения крысам имеет диаметр оливы до 4 мм, толщину – до 2,5 мм, длину – 9-10 см [3]. С помощью зонда легко дозировать препараты в виде жидких лекарственных форм (растворы, слизи, эмульсии, суспензии, настои и отвары, настойки, жидкие экстракты, микстуры). Для дозирования твердых лекарственных форм (таблетки, драже, порошки, гранулы, пилюли и др.) необходимы предварительные манипуляции – измельчение, растворение, разведение и т.п. Известны рекомендации о введении таких объектов виде суспензий в воде, молоке [3,4], инертных носителях, в том числе в 1% крахмальном геле [2,9,10].

Необходимо подчеркнуть, что в таком

случае при выполнении фармакологических экспериментов суспензии используют не как самостоятельную лекарственную форму, а лишь как способ перевода испытуемого объекта в вид, приемлемый для введения лабораторным животным.

Важным аспектом получения достоверных результатов исследований является стабильность суспензий, предназначенных для введения лабораторным животным, от момента их приготовления до момента введения. В доступной литературе нами не найдены подобные данные.

Целью настоящего исследования являлась оценка стабильности суспензий для введения животным, используемых при проведении фармакологических экспериментов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения 1% крахмального геля и модельных суспензий на его основе использованы: крахмал растворимый (цда, ЗАО Вектон); микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) (Comprecel, тип M102D+, Mintai, chemical co. LTD., Тайвань), дарунавир («Презиста, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 600 мг», Janssen-Cilag International NV, Belgien), приобретенный в аптечной сети.

Крахмальный гель (1%) получали согласно [1]. Модельные суспензии с наполнением МКЦ 5%, 10%, 15% и 20%, а также суспензии дарунавира, готовили следующим образом: необходимое количество МКЦ или таблеток растирали в ступке, прибавляли часть предварительного отмеренного носителя (1 % крахмального геля) в массо-объемном соотношении 1:0,5 или 0,5 мл на 1 таблетку и растирали до получения пульпы. Затем прибавляли еще порцию геля - примерно $\frac{1}{4}$ часть всего объема или 1,5 мл на 1 таблетку, растирали, количественно переносили в мерный цилиндр, смывая небольшими порциями геля. Суспензию доводили до заданного объема, перемешивали, переносили в стеклянный флакон. Хранили при комнат-

ной температуре в течение рабочего дня, перед отбором проб суспензию взбалтывали 15 с.

Однородность частиц дисперсной фазы оценивали микроскопически при помощи светооптического микроскопа Carl Zeiss (Германия). Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Axio Scope A1 (Германия). Размеры частиц не должны превышать 50 мкм, критерий оценки да/нет.

Ресуспендируемость определяли, как способность частиц дисперсной фазы равномерно распределяться во всем объеме суспензии после взбалтывания в течение 20 секунд, определение проводили для 10 мл суспензии, критерий оценки да/нет.

Значение pH и сухого остатка определяли согласно требованиям ГФ XI [1, ч. 1, с. 89; ч. 2, с. 148]. Для определения сухого остатка суспензию взбалтывали, отбирали 5 мл в предварительно взвешенный бюкс, взвешивали, высушивали при температуре 100-105 °С до постоянной массы.

Для оценки высоты отстоявшегося слоя, характеризующего седиментационную стабильность суспензий, равные объемы суспензий (10 мл), помещали в одинаковые пробирки, взбалтывали в течение 15 с и оставляли для отстаивания. Через 1 час измеряли высоту отстоявшегося слоя.

Содержание дарунавира определяли методом обращено-фазовой ВЭЖХ на хроматографе высокого давления LC-20 Prominence фирмы Shimadzu (Япония) с диодно-матричным детектором и колонкой Luna C₁₈ (2) (4,6x150 мм; размер частиц сорбента 5 мкм) и предколонкой (3 мм) заполненной тем же сорбентом (Phenomenex, США) в градиентном режиме элюирования смесью 0,03% раствора трифторуксусной кислоты и ацетонитрила, скорость подачи элюента 1,0 мл/мин, объем пробы 10 мкл, длина волны детек-

тирования 265 нм. Количественный анализ выполнен методом внешнего стандарта с использованием субстанции дарунавира (Pharmachem private limited, India) в качестве рабочего стандартного образца (PCO). Аликвоту суспензии разбавляли 50% водным раствором ацетонитрила в 200 раз, обрабатывали ультразвуком в течение 15 минут, отфильтровывали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (Phenex PTFE, Phenomenex, США) в виалу для ВЭЖХ-анализа.

Статистическая обработка результатов выполнена в соответствии с требованиями [1] с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007 с расчетом средних арифметических значений (\bar{x}), соответствующих им стандартных отклонений (SD) и относительных стандартных отклонений (RSD, %); попарное сравнение выборок с применением критерия Стьюдента выполнено с помощью функции ТТЕСТ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данной работе рассмотрен подход, основанный на оценке стабильности суспензий для введения лабораторным животным на примере модельных суспензий. Для получения модельных суспензий выбрана МКЦ, часто применяемая в составе твердых лекарственных форм. В качестве жидкой фазы суспензий выбран 1% крахмальный гель, как носитель, наиболее часто используемый в практике фармакологических исследований на лабораторных животных [2].

На первом этапе оценили стабильность 1% крахмального геля по параметрам рН и сухой остаток (табл. 1) при хранении в холодильнике при температуре +2-8 °С.

Относительные стандартные отклонения, полученные при усреднении всех значений для каждого показателя, не превышали 3,9% для значений рН и 6,4% для содержания сухого остатка. Таким образом, носитель (1% крахмальный гель)

стабилен в течение не менее 2 суток.

Данные по оценке качества и стабильности модельных суспензий МКЦ по параметрам: однородность частиц дисперсной фазы, ресуспендируемость, значение рН, сухой остаток и высота отстоявшегося слоя представлены в табл. 2. Выбор концентраций модельных суспензий МКЦ обусловлен их свойствами. Верхний уровень концентраций ограничен физическими свойствами суспензий на основе МКЦ - при попытке приготовить смеси более высокой концентрации (более 20%) не удалось получить суспензии МКЦ, продукт представлял собой пастообразную, не расслаивающуюся массу; нижний (5%) – необходимостью значимых отличий от базового уровня носителя (1% крахмального геля). Необходимо подчеркнуть, что данный диапазон концентраций характерен именно для МКЦ. Для других веществ/объектов он может быть совершенно иным. Так, рассматриваемые ниже суспензии дарунавира (масса 1 таблетки около 1,3 г) имели массовые концентрации, выходящие за пределы диапазона 5-20% (около 3,4% - суспензия для введения мышам; около 21,7% - суспензия для введения крысам), при этом сохраняли все свойства суспензий.

Обсуждая вопрос качества модельных суспензий, следует принять во внимание, что критерии качества для рассматриваемых суспензий по большинству параметров не регламентированы нормативными документами. Существуют общие требования по показателям однородность частиц дисперсной фазы и ресуспендируемость, которым модельные суспензии соответствовали во всех случаях. По показателям рН, высота отстоявшегося слоя и сухой остаток получены близкие значения для всех модельных суспензий (рН) или для каждой модели с различными концентрациями МКЦ (высота отстоявшегося слоя, сухой остаток). Полученные численные значения могут быть приняты

Таблица 1

Данные по стабильности 1% крахмального геля, $\bar{X} \pm SD$

Время от приготовления, ч	pH	Сухой остаток, %
0	3,44±0,03	0,89±0,01
2	3,53±0,06	0,94±0,07
4	3,51±0,08	0,97±0,07
24	3,70±0,07	0,91±0,01
48	3,74±0,10	0,96±0,09
Среднее ($\bar{X} \pm SD$)	3,58±0,14	0,93±0,06
RSD, %	3,9	6,4

за опорные (соответствующие качественным суспензиям), а приготовленные модельные суспензии можно считать качественными.

Данные таблицы 2 свидетельствуют о стабильности всех показателей качества модельных суспензий – относительные стандартные отклонения (RSD, %) значений численных показателей (pH, высота слоя, сухой остаток) не превышали 9,1%, наибольшие значения RSD получены для показателя высота отстоявшегося слоя, что может быть связано с его вариабельностью и несовершенством методики измерения. Выборки данных, полученные для численных значений (pH, высота отстоявшегося слоя, сухой остаток), подвергнуты статистической обработке с применением критерия Стьюдента (при доверительной вероятности P=95%). При сопоставлении результатов, полученных для временных точек 2 и 4 часа, с исходными (0 часов) данными, а также между собой для всех обсуждаемых параметров достоверных отличий не выявлено.

В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что модельные суспензии стабильны и сохраняют свое качество в течение не менее 4 часов с момента приготовления.

Отдельно рассмотрена стабильность суспензий для введения животным до и после пропускания через зонды для внутрижелудочного введения. Этот аспект представлялся важным, поскольку пропускание через узкие трубки (толщиной менее 2,5 мм для введения крысам и менее 1 мм для введения мышам) может оказать влияние на реологические свойства суспензий.

Для оценки стабильности до и после пропускания через зонд для внутрижелудочного введения крысам выбрана модельная суспензия с содержанием МКЦ 5%. Качество суспензии оценивали по показателям pH, высота отстоявшегося слоя и сухой остаток (табл. 3).

В результате статистической обработки данных с применением критерия Стьюдента (доверительная вероятность P=95%) при сопоставлении результатов, полученных до и после пропускания через зонд для введения крысам для всех контролируемых параметров на всех временных точках, достоверных отличий не выявлено.

Зонд для внутрижелудочного введения мышам имеет меньший диаметр, чем для крыс; модельная суспензия с содержанием МКЦ 5% оказалась не подходя-

Таблица 2

Данные по оценке качества и стабильности модельных суспензий

МКЦ в 1% крахмальном геле, $\bar{x} \pm SD$

Время от приготовления, ч	Однородность частиц дисперсной фазы	Ресуспендируемость	pH	Высота отстоявшегося слоя, см	Сухой остаток, %
5% МКЦ					
0	да	да	5,35±0,01	1,7±0,2	5,7±0,3
2	да	да	5,39±0,04	1,8±0,2	5,8±0,3
4	да	да	5,38±0,04	1,6±0,1	5,9±0,1
Среднее ($\bar{x} \pm SD$)	да	да	5,37±0,03	1,7±0,2	5,8±0,2
RSD, %	0*	0*	0,6	9,1	4,1
10 % МКЦ					
0	да	да	5,36±0,04	3,9±0,5	11,5±0,4
2	да	да	5,40±0,04	4,0±0,3	11,5±0,4
4	да	да	5,41±0,04	3,9±0,2	11,2±0,4
Среднее ($\bar{x} \pm SD$)	да	да	5,39±0,04	3,9±0,3	11,1±0,6
RSD, %	0*	0*	0,7	8,4	5,1
15 % МКЦ					
0	да	да	5,35±0,01	5,8±0,3	15,1±0,5
2	да	да	5,39±0,04	5,8±0,2	15,5±0,1
4	да	да	5,38±0,04	5,9±0,2	15,6±0,3
Среднее ($\bar{x} \pm SD$)	да	да	5,36±0,03	5,8±0,2	15,4±0,4
RSD, %	0*	0*	0,6	3,3	2,4
20 % МКЦ					
0	да	да	5,66±0,06	8,3±0,4	20,2±0,5
2	да	да	5,54±0,07	8,3±0,2	21,5±1,3
4	да	да	5,49±0,13	8,4±0,2	20,5±1,0
Среднее ($\bar{x} \pm SD$)	да	да	5,56±0,11	8,3±0,2	20,8±1,0
RSD, %	0*	0*	2,0	2,3	4,8

Примечание: * - поскольку во всех случаях получен одинаковый результат испытаний – ответ «да», среднее значение по данному критерию принято так же «да», стандартное отклонение и относительное стандартное отклонение приняты равными нулю.

Таблица 3

Данные по оценке стабильности модельной суспензии с содержанием МКЦ 5% до и после пропускания через зонд для внутрижелудочного введения крысам, $\bar{x} \pm SD$

Показатель	Время от приготовления суспензии, ч	Значения до пропускания через зонд	Значения после пропускания через зонд
рН	0	5,34±0,01	5,38±0,02
	2	5,38±0,02	5,37±0,02
	4	5,39±0,03	5,38±0,01
Высота отстоявшегося слоя, см	0	1,8±0,1	1,9±0,1
	2	1,9±0,2	1,9±0,2
	4	1,8±0,2	1,8±0,2
Сухой остаток, %	0	5,78±0,25	5,72±0,10
	2	5,91±0,23	5,60±0,33
	4	5,76±0,29	5,84±0,16

Таблица 4

Данные по оценке стабильности суспензии дарунавира (для введения мышам) до и после пропускания через зонд для внутрижелудочного введения мышам, $\bar{x} \pm SD$

Показатель	Время от приготовления суспензии, ч	Значения до пропускания через зонд ($\bar{x} \pm SD$)	Значения после пропускания через зонд ($\bar{x} \pm SD$)
рН	0	6,19±0,08	6,16±0,06
	4	6,14±0,06	6,13±0,05
Высота отстоявшегося слоя, см	0	1,7±0,2	1,6±0,2
	4	1,7±0,2	1,6±0,2
Сухой остаток, %	0	3,70±0,15	3,70±0,04
	4	3,76±0,11	3,69±0,05

шей для пропускания через зонд для введения мышам. Поэтому для оценки стабильности до и после пропускания через зонд для внутрижелудочного введения мышам выбрана суспензия дарунавира аналогичная использованной при выполнении доклинического исследования препарата. В исследовании доза, вводимая животным (мышам), составляла 500 мг/кг; суспензию (для введения мышам) готовили исходя из соотношения 38,4 мл суспензии из 1 таблетки препарата. Качество суспензии оценивали по показателям рН, высота отстоявшегося слоя и сухой остаток (табл. 4).

В результате статистической обработки данных с применением критерия Стьюдента (доверительная вероятность $P=95\%$) при сопоставлении результатов, полученных до и после пропускания через зонд для мышей для всех контролируемых параметров на всех временных точках, достоверных отличий не выявлено.

На основании полученных результатов подтверждена стабильность суспензий после пропускания через зонды для внутрижелудочного введения мышам и крысам.

Полученные результаты позволяют перейти к валидации стабильности суспензий для введения лабораторным животным. Валидационные испытания выполнены для основных показателей качества модельных суспензий.

Для валидации стабильности модельных суспензий по показателю рН выполнены испытания по параметру прецизионность. Мерой прецизионности является величина относительного стандартного отклонения (RSD,%), полученная при усреднении результатов измерений, выполненных на одних объектах, одним аналитиком, на одном приборе, в течение короткого промежутка времени [10, 11]. Оценка прецизионности выполнена по результатам анализа модельных суспензий на четырех уровнях концентраций.

Измерение рН проводили не менее, чем в трехкратной повторности, сразу после приготовления, через 2 и через 4 часа с момента приготовления суспензий. По результатам измерений на каждой временной точке судили о прецизионности внутри серии, по результатам всех измерений – о прецизионности между сериями. Прецизионность рН внутри серий измерений не превышала 2,5%, общая прецизионность (между сериями) не превышала 2%. Поскольку значения рН оказались не зависящими от концентрации модельной суспензии, допустимо усреднение всех значений. При этом получено среднее значение рН $5,43 \pm 0,1$, относительное стандартное отклонение этого значения составило 1,8%. Таким образом, прецизионность рН суспензий для введения животным не превышает 2%, что соответствует общим требованиям, согласно которым, прецизионность должна быть не более 15% [7, 8].

Для валидации стабильности модельных суспензий по показателю высота отстоявшегося слоя выполнены испытания по параметрам линейность и прецизионность на четырех уровнях концентраций.

Выбор концентраций модельных суспензий МКЦ при оценке линейности обусловлен их свойствами. Верхний уровень ограничен физическими свойствами суспензий МКЦ - смеси с более высокой концентрацией представляли собой пастообразную, не расслаивающуюся массу. Измерение высоты отстоявшегося слоя проводили не менее, чем в трехкратной повторности, сразу после приготовления суспензий, через 2 и через 4 часа после приготовления; использовали усредненные значения. По результатам измерений получено уравнение регрессии $y=0,434x-0,5$ с коэффициентом корреляции $r=0,9986$ ($r>0,99$), что свидетельствует о высокой степени линейной корреляции аналитического отклика (высоты отстоявшегося слоя) от концентрации суспензии.

Прецизионность высоты отстоявшегося слоя внутри серий измерений (на каждой из временных точек 0, 2 и 4 часа после приготовления) не превышала 13%, общая прецизионность (между сериями) не превышала 9,5%. Полученные результаты соответствуют общим требованиям, согласно которым, прецизионность должна быть не более 15% [7, 8].

Для валидации стабильности модельных суспензий по показателю содержание сухого остатка выполнены испытания по параметрам линейность, точность и прецизионность на четырех уровнях концентраций.

Носитель, использованный для получения модельных суспензий (1% крахмальный гель), также имеет сухой остаток и вносит свой вклад в итоговое значение, получаемое при анализе модельных суспензий. Поэтому при оценке линейности содержания сухого остатка рассматривали как абсолютное значение сухого остатка, полученное для модельных суспензий, так и приведенное – за вычетом сухого остатка, соответствующего носителю (0,9%, табл. 1). По результатам измерений получены уравнения регрессии $y=0,988x+0,94$ и $y=0,984x+0,1$ для абсолютных и приведенных значений сухого остатка с коэффициентами корреляции $r=0,9994$ и $0,9988$ ($r>0,99$) соответственно. Полученные данные свидетельствуют о высокой степени линейной корреляции аналитического отклика (содержания сухого остатка) от концентрации суспензии.

Точность характеризует близость результатов испытаний, полученных с помощью данной методики, к истинному значению. Точность оценивали по принципу «внесено-найдено» как относительную систематическую погрешность (δ) в процентах от внесенного количества. При расчетах использовали не абсолютные, а приведенные значения содержания сухого остатка (за вычетом сухого остатка, соответствующего 1% крахмальному гелю;

0,9%, табл. 1). Систематическая погрешность (δ) не превышала 3,5%, что свидетельствует об удовлетворительной точности определения сухого остатка. Следует подчеркнуть важность этого результата, поскольку сухой остаток является основным количественным показателем качества модельных суспензий для введения животным.

Прецизионность содержания сухого остатка внутри серий измерений (на каждой из временных точек 0, 2 и 4 часа после приготовления) не превышала 6%, общая прецизионность (между сериями) не превышала 5,5%. Полученные результаты соответствуют общим требованиям, согласно которым, прецизионность должна быть не более 15% [7, 8].

Таким образом, валидирована стабильность суспензий для введения животным по показателю рН по параметру прецизионность, по показателю высота отстоявшегося слоя по параметрам линейность и прецизионность, по показателю сухой остаток по параметрам линейность, точность и прецизионность. Получены удовлетворительные результаты по всем валидационным критериям.

Для апробации предлагаемого подхода выполнена оценка стабильности суспензии дарунавира, аналогичной готовившейся при проведении доклинического исследования. В исследовании доза, вводимая животным (крысам), составляла 2000 мг/кг; суспензию (для введения крысам) готовили исходя из соотношения 6 мл суспензии из 1 таблетки препарата; расчетная концентрация действующего вещества - дарунавира в суспензии составляла 100 мг/мл.

Оценку качества суспензии дарунавира проводили сразу после приготовления и через 4 часа после приготовления по показателям рН, высота отстоявшегося слоя, сухой остаток и содержание дарунавира (табл. 5).

Данные таблицы 5 свидетельствуют о

Таблица 5

Данные по оценке стабильности суспензии дарунавира (для введения крысам), $\bar{x} \pm SD$

Показатель	Сразу после приготовления	Через 4 часа после приготовления
pH	6,32±0,04	6,27±0,04
Высота отстоявшегося слоя, см	5,4±0,1	5,5±0,1
Сухой остаток, %	18,3±0,3	18,3±0,1
Содержание дарунавира, мг/мл	98,8±1,6	98,1±2,4

стабильности всех показателей качества суспензии дарунавира в течение 4 часов. В результате статистической обработки данных с применением критерия Стьюдента (доверительная вероятность P=95%) при сопоставлении результатов, полученных для временных точек 4 часа, с исходными (0 часов) данными, для всех обсуждаемых параметров достоверных отличий не выявлено. Полученные данные свидетельствуют о том, суспензия дарунавира стабильна и сохраняет свое качество в течение не менее, чем 4 часов с момента приготовления.

Таким образом, в результате эксперимента показана стабильность суспензии по содержанию основного действующего компонента (дарунавира), pH, высоте отстоявшегося слоя и сухому остатку. Можно предполагать, что при рутинных экспериментах для подтверждения стабильности суспензий дарунавира для введения лабораторным животным достаточно использовать показатели pH и содержание сухого остатка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов можно предложить оценивать стабильность суспензий дарунавира для введения лабораторным животным по двум основным показателям качества – pH и содержание сухого остатка, измерение которых следует проводить не менее, чем в трех-

кратной повторности сразу после приготовления суспензий и через 4 часа после приготовления.

Evaluation of stability of solid drugs suspensions for administration to laboratory animals. V.M. Kosman, O.N. Pozharitskaya, A.N. Shikov, S.V. Gushcina, M.N. Makarova.

ABSTRACT

Intragastric administration of solid formulations in the form of suspensions in the inert carrier is a common approach for pharmacological experiments in preclinical studies on laboratory animals. A stability of suspensions after its preparation till administration to animals became high importance.

The stability of model suspensions in 1% starch slime was studied during 4 hours. The next parameters were evaluated: uniformity of solid particles, a height of solid phase after sedimentation, pH and dry residue.

Stability of suspensions after transit through gavages for intragastric administration for mice and rats was studied.

Validation tests for pH (precision), height of solid phase after sedimentation (linearity and precision), dry residue (linearity, accuracy and precision) were done. Tolerable results for all validation criteria were received.

It was shown that suspension of darunavir was stable by concentration of active compound, pH and dry residue during 4

hours after preparation. These results allowed us to suggest that the stability of da-runavir suspension could be assayed by pH and dry residue in routine experiments.

Key words: suspension for application to animals, stability, validation.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея СССР. Изд. XI., вып. I. М.: Медицина, 1987. 336 с. вып. 2., Медицина, Москва, 1989. 400 с.
2. Гуцина С.В., Макарова М.Н., Пожарицкая О.Н. Сравнительное токсикологическое изучение носителей для лекарственных средств, применяемых в доклинических исследованиях. // *Международный Вестник Ветеринарии*. 2015. №3. С. 92-98.
3. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В., Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев: Вища школа, 3-е изд., 1983. 383 с.
4. Каркищенко Н.Н., Грачева С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль-2С, 2010. 358 с.
5. Методические рекомендации 1.2.0068-12. Исследование канцерогенных свойств химических веществ и биологических продуктов в хронических опытах на животных, М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К. 2012. 944 с.
7. Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Center for veterinary medicine, Rockville, MD, U.S., 2001.
8. Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009, Committee for medicinal products for human use (CHMP), London, 2011.
9. Morton D.B., Jennings M., Buckwell A., Ewbank R., Godfrey C., Holgate B., Inglis I., James R., Page C., Sharman I., Verschoyle R., Westall L., Wilson A.B. Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*. 2001, Vol. 35, P. 1-41.
10. Nebendahl K. Routes of administration, in: *The laboratory rat*, Elsevier, Hannover 2000. P. 463-482.
11. Shimuzu S. Routes of administration, in: *The laboratory mouse*, Elsevier, Hannover 2004. P. 527-541.

АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА У ЧЕЛОВЕКА И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Макарова М.Н.-д.м.н., Рыбакова А.В.-к.вет.н., Гушин Я.А.-м.н.с., Шедько В.В.-к.вет.н.,
Мужикян А.А.-к.вет.н., Макаров В.Г.-д.м.н. ЗАО НПО «Дом Фармации»



РЕФЕРАТ

Для доклинических исследований лекарственных препаратов широко используются лабораторные животные. При переносе полученных экспериментальных данных с животных на человека неизбежно возникают сложности, связанные с отличиями в анатомии, функции тех или иных органов, протекании биохимических процессов, наличии или

отсутствии тех или иных ферментов и гормонов.

Наибольшее число лекарственных препаратов на сегодняшний день представляют собой лекарственные формы, предназначенные для приема внутрь (перорально). Это заставляет исследователей, при выборе экспериментальных животных, более внимательно подходить к сопоставлению пищеварительной системы у лабораторного животного и человека.

Наиболее очевидными вопросами в этом случае являются: скорость моторики желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у человека и лабораторного животного, размеры отделов ЖКТ, наличие и активность ферментов в желудке и кишечнике, синтез пищеварительных ферментов железами, состав микрофлоры кишечника, пути метаболизма в печени. И, хотя желудочно-кишечный тракт людей имеет много общего с большинством видов лабораторных животных, особенно на уровне микроскопического наблюдения, есть и существенные отличия. Поэтому в настоящей статье мы предприняли попытку сравнить особенности отделов пищеварительного тракта у человека и лабораторных животных.

Мы надеемся, что изложенный материал позволит исследователям более четко ориентироваться в вопросах анатомо-физиологических особенностей лабораторных животных, и применять данные знания при планировании исследований на лабораторных животных, осуществлять выбор вида лабораторных животных в зависимости от задач исследования, применяя принцип 3R (replacement, reduction, refinement — замещение, сокращение, усовершенствование).

Ключевые слова: доклинические исследования, лабораторные животные, желудочно-кишечный тракт, органы пищеварения.

ВВЕДЕНИЕ

Упоминание об использовании животных для изучения анатомии, функций органов и систем, понимания механизмов заболеваний человека, поисков средств их

лечения встречаются, начиная с IV века до нашей эры в сочинениях ученых Древней Греции.

Для экспериментов, как правило, использовали млекопитающих: домашних и

сельскохозяйственных животных (собаки, кошки, кролики, козы, овцы, свиньи, домашняя птица), земноводных (лягушки, жабы), рыб, пресмыкающихся, кишечнополостных и насекомых.

При переносе полученных экспериментальных данных с животных на человека неизбежно возникают сложности, связанные с отличиями в анатомии, функции тех или иных органов, протекании биохимических процессов, наличии или отсутствии тех или иных ферментов и гормонов.

Наибольшее число лекарственных препаратов на сегодняшний день представляют собой лекарственные формы, предназначенные для приема внутрь (перорально). Это заставляет исследователей, при выборе экспериментальных животных, более внимательно подходить к сопоставлению пищеварительной системы у лабораторного животного и человека (Chiou W.L., Barve A., 1998, Stevens C.E., Humes I.D., 1995, Cunningham J.G., 1997, Kararli T.T., 1995, DeSesso J.M., Jacobson C.F., 2001).

Наиболее очевидными вопросами в этом случае являются: скорость моторики желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у человека и лабораторного животного, наличие и активность ферментов в желудке и кишечнике, синтез пищеварительных ферментов железами, состав микрофлоры кишечника, пути метаболизма в печени. И, хотя желудочно-кишечный тракт людей имеет много общего с большинством

видов лабораторных животных, особенно на уровне микроскопического наблюдения (Iatropoulos M.J., 1986), есть и существенные отличия (Chiou W.L., Barve A., 1998, Baggot J.D., Brown S.A., 1998). Поэтому в настоящей статье мы предприняли попытку сравнить особенности отделов пищеварительного тракта у человека и лабораторных животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ротовая полость

В ротовой полости пища анализируется, измельчается, перетирается и смачивается слюной. Механическая обработка пищи происходит с участием зубов и языка.

У человека и большинства видов лабораторных животных зубная формула различается (табл. 1).

Главным характерным отличием зубов у грызунов являются одна пара увеличенных резцов, как на верхней челюсти, так и на нижней.

Грызуны, в отличие от человека, лишены клыков. Имеется лишенный зубов участок (диастема), за счет редукции зубов, он заполнен подщечными подушками.

Передняя поверхность резцов у грызунов покрыта эмалью, задняя же — дентином. В результате такого строения при разгрызании резцы верхней и нижней челюсти соприкасаются между собой и стачиваются сильнее со стороны дентина. Резцы у грызунов растут на протяжении всей жизни, при отсутствии твердой пищи

Таблица 1

Сравнительная характеристика зубной формулы

Зубы	Человек	Крысы, мыши	Кролик	Морская свинка	Хомяки
Резцы I (<i>dentis incisivi</i>)	8	4	6	4	4
Клыки C (<i>dentis canini</i>)	4	0	0	0	0
Премоляры P (<i>dentis premolares</i>)	8	0	10	4	0
Моляры M (<i>dentis molares</i>)	12	12	12	12	12
Всего зубов	32	16	28	20	16

они не могут стачивать зубы, что приводит к неправильному прикусу, вывиху челюсти и невозможности питаться (Navia J.M., Narkates A.J., 1980).

Кролики являются двупарнорезцовыми, т.е., кроме хорошо развитых постоянно растущих резцов (*dentes incisivi*), имеют вторую пару малых резцов (*dentes incisivi minores*), которые размещены позади верхних.

У кролика все зубы относятся к длиннокоронковому типу, а у крысы только резцы являются таковыми, тогда как коренные зубы представлены типичными короткоронковыми образованиями, которые по строению сходны с коренными зубами человека, поэтому в принципиальном отношении крыс можно считать наиболее приемлемыми животными в целях экспериментального моделирования кариозной болезни. Существенным недостатком является миниатюрность их коренных зубов, которая в значительной степени затрудняет визуализацию морфологических признаков их кариозного повреждения (Костиленко Ю.П., Саркисян Е.Г., 2014).

У грызунов язык покрыт нитевидными сосочками с ороговевшими верхушечками (в отличие от человека), что облегчает удерживание пищи. В области корня языка имеются сосочки, похожие на грибовидные, и один валиковидный, в них располагаются вкусовые рецепторы. У всех грызунов в ротовую полость открываются выводные протоки слюнных желез. Слюна вырабатывается тремя железами: околоушной, подъязычной и поднижнечелюстной. У собак, кроликов и хомяков описаны также орбитальная и скуловая слюнные железы, которые отсутствуют у человека, крыс и мышей.

У морской свинки слюнные железы крупные, особенно выделяется поднижнечелюстная слюнная железа. Слюнные железы справа и слева продуцируют слюну непрерывно, но поочередно.

У человека, также как и у грызунов, имеется 3 пары крупных слюнных желез: околоушная, подъязычная и подчелюстная. Кроме них, имеется множество мелких слюнных желез в слизистой оболочке языка, нёба, щёк и губ.

Для сирийских хомяков, как и для всего подсемейства хомяковых характерно наличие защечных мешков. Защечный мешок это мускульный парный орган (мышечная полость), выстланный изнутри слизистой оболочкой и открывающийся на внутренней поверхности щек. Имеется мышца, которая оттягивает мешочки назад, поэтому они не выворачиваются наружу. Хомяки используют этот орган для транспортировки корма из мест добычи в гнездо. Масса зерна, которую может за раз перенести хомяк в защечных мешках, в несколько раз превышает его вес. Для того чтобы достать пищу из мешков, хомяк с усилием проводит по ним обеими лапками. При встрече с противником хомяк нередко наполняет мешки воздухом, чтобы произвести устрашающее впечатление.

Ротовая полость переходит в глотку, часть пищеварительного канала, соединяющая полость рта и пищевод.

В организме человека, глотка, это общий канал для дыхательной и пищеварительной систем, при нормальных условиях, носоглотка не участвует в проглатывании или глотании. У крыс, глотка делится на дыхательную область (удлиненная носоглотка) и пищеварительную область (аналогично гортаноглотке человека). У крыс ротоглотки нет, потому что надгортанник упирается в небо и отделяет полость носа от полости рта (DeSesso J.M., 1993).

Пищевод

Представляет собой длинную цилиндрическую мышечную трубку, протянувшуюся от глотки до желудка и служащую для продвижения пищевого кома. В пищеводе различают шейную часть, груд-

Таблица 2

Сравнительные размеры пищевода у человека и лабораторных животных

Данные	Человек	Кролик	Морская свинка	Крыса	Мышь	Хомяк
Пищевод, длина, см	25-30	14-20	8-15	7-10	3-5	7-9
Пищевод, средний диаметр, мм	25-30	8,5-11	1,7-2,5	1,7-2,5	0,9-2,25	0,5-1,5
Фаренгиальное сужение, мм	18	8,9	2,0	2,3	1	0,5
Наиболее широкая часть, мм	22	10	2,4	3,5	1,5	1,4
Диафрагмальное сужение, мм	21	9	1,7	1,5	1	0,6
Размер зонда, G	-	13	13	13-18	16-22	13
Диаметр оливы, мм	-	3,5	3,5	2,3-3,0	1,2-1,6	3,5
Длина зонда, см	-	90-150	90-150	3,0-8,8	2,5-3,8	90-150

ную и короткую брюшную части.

У человека пищевод имеет три анатомических сужения — фарингеальное, бронхиальное (менее выраженное) и диафрагмальное; выделяют также два физиологических сужения — аортальное и кардиальное. Диаметр пищевода у взрослого человека 25-30 мм. У грызунов и зайцеобразных также различают шейную часть, грудную и короткую брюшную части. Наблюдаются аналогичные анатомические сужения.

Этот аспект весьма важен при выполнении у животных манипуляций внутрижелудочного введения, как через внутрижелудочный зонд, в виде растворов, суспензий, так и при введении готовых лекарственных форм (таблеток, капсул и т.п.).

При введении лабораторным животным лекарственных препаратов внутрижелудочно, с помощью зонда, диаметр и длина зонда должны быть выбраны в соответствии с диаметром и длиной пищевода (табл. 2).

При необходимости ввести таблетку или капсулу без разрушения целостности (например, при изучении пролонгирован-

ных лекарственных форм, если таблетки покрыты кишечнорастворимой оболочкой, или капсула кишечнорастворимая и т.п.), то также необходимо тщательно подойти к выбору животного, размеры пищевода которого позволят ввести таблетку или капсулу нужного размера. Типоразмерный ряд таблеток нормируется на основании ОСТ 64-072-89 «Средства лекарственные. Таблетки. Типы и размеры». В таблице 3 приведены основные размеры таблеток, твердых и мягких желатиновых капсул.

Как видно из представленных данных, среди обсуждаемых видов животных, таблетки и капсулы без разрушения лекарственной формы могут быть введены только кроликам. При этом все равно имеются ограничения: таблетки с диаметром не более 8-9 мм (в зависимости от размера кролика), твердые желатиновые капсулы всех размеров, мягкие желатиновые капсулы, поскольку не имеют стандартных размеров и должны быть измерены перед попыткой введения животным.

В связи с такими ограничениями за счет диаметра пищевода у традиционных лабораторных животных и одновремен-

Таблица 3

Основные размеры таблеток, твердых и мягких желатиновых капсул

<i>Таблетки</i>			
Диаметр, мм	Высота, мм	Диаметр, мм	Высота, мм
4	0,2	11	0,4
5	0,2	12	0,4
6	0,3	13	0,4
7	0,3	14	0,5
8	0,3	15	0,5
9	0,3	16	0,5
10	0,3	20	0,7
<i>Твердые желатиновые капсулы</i>			
Типоразмер	Диаметр, мм		Длина, мм
00	Колпачок	7,63-7,77	22,2-23,2
	Капсула	7,31-7,45	
0	Колпачок	7,57-7,71	20,7-21,7
	Капсула	7,26-7,40	
1	Колпачок	6,83-6,97	18,5-19,5
	Капсула	6,56-6,70	
2	Колпачок	6,28-6,42	17,0-17,8
	Капсула	6,00-6,14	
3	Колпачок	5,76-5,90	15,0-15,8
	Капсула	5,50-5,64	
4	Колпачок	5,25-5,39	13,4-14,3
	Капсула	4,98-5,12	
<i>Мягкие желатиновые капсулы, стандартизации нет</i>			
Типоразмер		Диаметр, мм	Длина, мм
Продолговатые		От 3	От 9,0
Овальные		9,6 или 9,2	15,6 или 15,7
Сферические		От 3,5 до 11	-

ным ростом высокотехнологичных лекарственных препаратов с модифицированным высвобождением, растёт спрос на новые виды лабораторных животных, анатомия пищевода которых, позволила бы вводить более крупные лекарственные формы. Одним из таких лабораторных животных являются мини-пиги (карликовые свиньи), размеры которых достаточно велики.

Согласно данным комплексного эндоскопического и гистоморфологического исследования Barret M. и соавторов (2012), у карликовых свиней массой 30-35 кг средний диаметр просвета пищевода в нерастянутом состоянии составляет 3-4 мм (от 1 до 7 мм).

Мы провели изучение анатомии пищевода мини-пиггов, породы Биштрассеркнаус. Для исследования использован самец массой 26 кг.

Были получены следующие морфометрические данные на растянутом органе: длина пищевода - 34 см, средний диаметр просвета пищевода - 15-19 мм; в местах сужений - толщина просвета глоточной части пищевода - 6 мм, диаметр просвета пищевода у входа в грудную полость - 11-12 мм, вблизи кардиального сфинктера - расширение - до 22 мм и сужение - 18 мм.

Учитывая наличие сужений в начале органа, в его глоточной части, у входа в грудную полость и вблизи кардиального сфинктера желудка, при применении лекарственных форм у мини-пиггов размером более 18-19 мм существует опасность обтурации и развития непроходимости пищевода.

Желудок

Желудок млекопитающих, значительно отличается у разных видов, хотя и имеет несколько основных структурных сходств.

Общая морфология в значительной степени зависит от характера пищи, частоты приема пищи, необходим ли резер-

вуар для хранения продуктов, от размеров тела.

Объём пустого желудка у человека составляет около 0,5 л. После принятия пищи он обычно растягивается до 1 л, но может увеличиться и до 4 л. У человека различают: кардиальный отдел, дно желудка (свод), тело желудка и пилорический отдел (привратниковый). Выделяют также переднюю стенку желудка, заднюю стенку, малую кривизну и большую кривизну желудка. За счёт мышечного слоя желудок перемешивает пищу и желудочный сок, образуя химус — жидкую кашичу, которая удаляется отдельными порциями из желудка через привратниковый канал. В зависимости от консистенции поступившей пищи, она задерживается в желудке от 20 минут (фруктовые соки, а также овощные соки и бульоны) до 6 часов (свинина).

Желудок у всех грызунов, имеет две совершенно разные, хорошо выраженные части. Передняя часть желудка выстлана многослойным эпителием, здесь находится выход из пищевода и участок бактериального пищеварения. Железистая часть желудка выстлана секреторным эпителием, обеспечивающим синтез кислоты и проферментов (рис. 1А). Анатомический ориентир, который разделяет эти две области - это ограничивающий гребень, который закрывает отверстие из пищевода и предотвращает возможность рвоты у грызунов (Baggot J.D., Brown S.A., 1998, DeSesso J.M., Jacobson C.F., 2001). В противоположность этому, желудок человека полностью выстлан железистым эпителием и во всех отделах обеспечивает секреторную функцию (рис. 1В).

Желудок крысы имеет форму крючка, также встречаются желудки подковообразной формы. Последняя не является патологией. Желудок крысы большей частью размещен левее срединной линии, вентрально прикрыт печенью и имеет четыре отдела: пищеводный

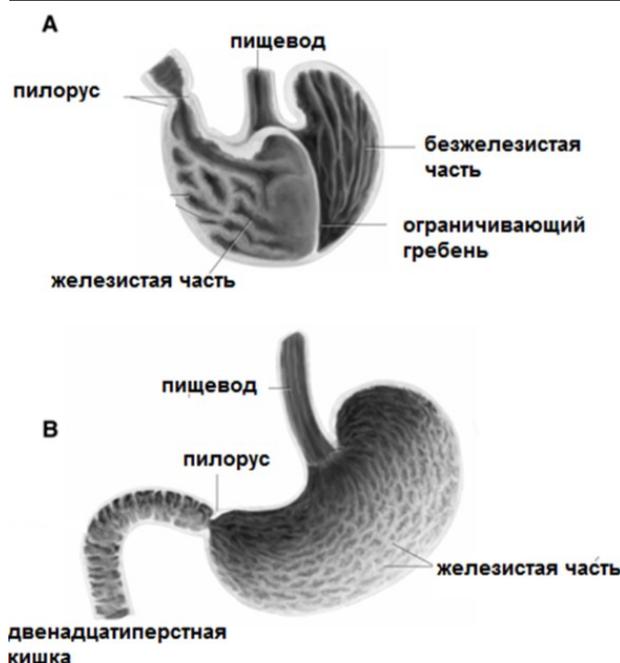


Рис. 1 Сравнение внутреннего строения желудка крысы и человека. Внутренняя выстилка желудка крысы (А) имеет две различные области, разделенные ограничивающим гребнем, который обеспечивает невозможность рвоты. Еда при попадании в желудок осаждается в безжелезистой части желудка. Часть желудка, около выхода в двенадцатиперстную кишку это железистая часть желудка, здесь расположена железистая (секреторная) часть эпителия. Внутренняя часть желудка человека (В) отличается от крысы тем, что весь орган выстлан секреторным эпителием и безжелезистой части нет, и нет ограничивающего гребня. Цит. по DeSesso J.M., Jacobson C.F., 2001.

(преджелудок) – эта часть желудка функционально используется для хранения и переваривания пищи. Кардиальный отдел желудка имеет трубчатые железы, секрет которых не содержит ферментов. Дно желудка занимает большую часть желудка, его железы выделяют пепсиноген и соляную кислоту. Привратниковая часть – отдел, железы которого вырабатывают слизистый секрет.

Желудок у взрослой мыши имеет те

же отделы, что и желудок крысы, его вместительность всего 1-1,5 мл (Ноздрачев А.Д. и др., 2012). При принудительном наполнении до 3,5 мл (максимальный объем). Существенных отличий по сравнению с крысой – нет.

Желудок кролика большой по отношению к площади тела и составляет 1% массы тела, всегда наполнен. Вмещает в среднем до 200 мл пищи. Свод желудка расширен и приподнят кверху, а пилорический отдел сужен, вытянут, и край его приближается в сторону свода и приобретает подковообразную форму. Кролик является моногастричным животным. На пилорическую часть желудка приходится ¼ часть объема всего желудка. Этот отдел имеет сильно

развитую мышечную оболочку, сфинктер и от дна отделен серповидной складкой, которая отходит от малой кривизны. Слизистая оболочка имеет железы, наиболее развитые на дне желудка, которые продуцируют желудочный сок 0,18-0,35% кислотности. На долю свободной соляной кислоты приходится свыше 80% всей кислотности желудочного сока. Секреция желудочного сока у кролика происходит непрерывно, хотя в ночное время значительно понижена. За 1 час выделяется 3-10 мл желудочного сока. Эвакуация пищи из желудка наступает в среднем через 4-7 часов. У кроликов отсутствует рвотный рефлекс (Алиев А.А. и др., 2002).

Желудок у морских свинок размещен преимущественно в левой части брюшной полости. Его кардиальная часть дна отделена складкой. Объем желудка составляет 20-30мл, максимальное наполнение составляет порядка 80 мл. Он всегда наполнен пищей. Эвакуация корма из желудка осуществляется за 6-8 часов. Желудок морской свинки, по сравнению с желуд-

ком человека, отличается меньшей вариативностью формы, которая может быть расценена как деформированный рог. Положение желудка у морской свинки приближается к поперечному, с низким размещением кардиальной части, что характерно для белой крысы (Петренко В.М., 2012б), а у человека встречается при опущении желудка (Шевкуненко В.Н., Геселевич А.М., 1935).

Желудок у морской свинки:

1) по форме и строению ближе к человеку, чем у крыс, у которых пищевод заканчивается на середине малой кривизны желудка;

2) менее изогнут, чем у крысы, у которой желудок имеет форму крючка (у морской свинки – только вместе с луковицей двенадцатиперстной кишки);

3) имеет гораздо меньшее дно и более короткую, менее изогнутую пилорическую часть, чем у крысы;

4) отличается большим телом (половина общей длины органа, у крысы – всегда короче и уже дна), поэтому относительная ширина органа в целом больше, а без дна – меньше, чем у крысы;

5) имеет дополнительную, по сравнению с крысой, субкардиальную циркулярную перетяжку, что может быть связано с большим растяжением органа (растительное животное).

Желудок золотистого (сирийского) хомяка имеет подковообразную форму и состоит из двух отделов — поджелудка, имеющего пальцевидную форму, и железистого желудка довольно больших размеров. Максимальная вместимость до 4 мл. Между двумя отделами желудка находится хорошо выраженная перемычка. Пища попадает сначала в поджелудок, где она ферментируется кислотами и микроорганизмами. Большая кривизна желудка граничит с поджелудочной железой и селезенкой. В переполненном

состоянии величина поджелудка может достигать размеров основного, железистого желудка (Петренко В.М., 2013д).

Кишечник

Травоядный рацион питания, который трудно переварить, например сено, обуславливает наличие в кишечнике морских свинок, крыс, мышей, кроликов и хомяков особой микрофлоры, способной переварить целлюлозу, присутствующую в сене. Процесс переваривания пищи у этих видов протекает в виде кишечного брожения (*hindgut fermentation*). Им требуется переваривать большее количество клетчатки и других, сложных для переваривания компонентов. Их пищеварительный тракт длиннее, чем у человека. Пища из желудка поступает практически не переваренной и основная работа по ее расщеплению происходит в слепой кишке. В данном процессе участвуют бактерии, живущие в кишечнике.

Тонкая кишка является основным местом переваривания и всасывания питательных веществ, воды и электролитов. Она разделена по длине на три неравные части: двенадцатиперстную кишку, тощую кишку и подвздошную кишку. Наиболее выражено всасывание происходит в двенадцатиперстной кишке и проксимальной половине тощей кишки; основные механизмы всасывания: пассивная диффузия, облегченная диффузия, активный транспорт путем пиноцитоза. Поглощение воды и электролитов также продолжается в толстой кишке.

В организме человека в составе толстой кишки выделяют слепую кишку, ободочную (восходящую, поперечную, нисходящую), сигмовидную кишку, прямую кишку, анальный канал. Крысы имеют схожие отделы, кроме сигмовидной кишки, которая у крыс отсутствует (DeSesso J.M., Jacobson C.F., 2001).

В таблице 3 представлена сравнительная протяженность отделов кишечника у

Таблица 3

Сравнительная протяженность разных отделов кишечника у человека и животных

Данные	Человек	Кролик	Морская свинка	Крысы	Мыши	Хомяки
Желудок, объем, мл	До 4000	200 <i>160-210</i>	20-30 <i>50-80</i>	3-5 <i>5-20</i>	1-1,5 <i>1,0-3,5</i>	2-3 <i>4-8</i>
Двенадцатиперстная кишка, см	27-30	<i>38-40</i>	<i>4,0-5,0</i>	<i>5,0-6,0</i>	<i>1,0-1,5</i>	<i>1,8-3,0</i>
Тощая кишка с подвздошной кишкой, см	400-500	<i>290-350</i>	<i>170-190</i>	<i>110-145</i>	<i>35-55</i>	<i>35-47</i>
Слепая кишка, см	3-10	<i>35-45</i>	<i>7-15</i>	<i>6-9*</i>	<i>2,5-4,0</i>	<i>3,1-5,4</i>
Аппендикс	7-10	<i>11-16</i>	<i>8-13</i>		<i>0,3-0,4</i>	<i>1,0-1,5</i>
Ободочная кишка, см	150	<i>35-45</i>	<i>30-35</i>	<i>6,5-7,5</i>	<i>4,5-5,5</i>	<i>6,5-7,0</i>
Жом, см	-	<i>3,0-5,0</i>	<i>2,0-2,3</i>	<i>0,7-1,2</i>	<i>4,5-5,3*</i>	<i>0,7-1,0</i>
Предпрямая кишка, см	-	<i>65-74</i>	<i>67-85*</i>	<i>3,5-4,5</i>		<i>21-25</i>
Прямая кишка, см	12-15	<i>13-17</i>		<i>6,0-8,0</i>		<i>3,0-4,0</i>
Весь кишечник, см	400-800	480-520	280-345	127-180	45-70	70-90

Примечание: значения выделенные курсивом, получены в нашей лаборатории. Значения по объему желудка получены *post mortale*, путем наливки органа водой, приведены максимальные объемы «до разрыва».

* - нет четкой анатомической границы

человека и животных. Однако необходимо отметить, что сравнение размеров желудочно-кишечного тракта, задача непростая. Данные по животным имеются в большом количестве, и в основном совпадают, а вот данные по человеку сильно отличаются. Связано это с тем, что измерения проводят как прижизненно, так и *post mortale*. Методы измерения редко описываются в текстах. Snyder W.S. и соавторы (1975) утверждают, что физиологические размеры, полученные прижизненно методами интубации, вероятно, дают заниженные результаты, в связи с прохождением эндоскопа по кишечнику «срезая углы», а не оставаясь в центре просвета. В противоположность этому, анатомические длины, зарегистрированные на вскрытии, дают завышенные результаты за счет потери тонуса гладких

мышц.

В таблице 3 приведены данные по протяженности отделов кишечника у человека и лабораторных животных (данные по человеку приведены по данным: Анатомия человека..., 1985 и Анатомия человека в 2-х томах..., 2001).

Кролики обладают кишечным пищеварением. Большая часть их пищеварительного процесса происходит преимущественно в слепой кишке. Слепая кишка кроликов примерно в 10 раз больше их желудка, и вместе с толстой кишкой составляет приблизительно 40 % их желудочно-кишечного тракта (Алиев А.А. и др., 2002).

Характерной особенностью кишок кролика являются чрезмерно выделенный толстый отдел и обильное распространение лимфатических образований. Мощ-

ный лимфоидный аппарат кишок постоянно продуцирует большое количество лимфоцитов.

Дистальный конец подвздошной кишки имеет сферическое толстостенное расширение, известное как *sacculus rotundus* (круглый мешочек). *Sacculus rotundus* часто называют «миндалиной слепой кишки» из-за выстилающей его лимфатической ткани с большим количеством макрофагов. Этот орган уникален для кроликов. Илеоцекальный клапан контролирует движение пищи от подвздошной кишки в *Sacculus rotundus* и предотвращает обратное движение пищи и открывается в ампулу на стыке подвздошной, ободочной и слепой кишок.

Кишки морской свинки почти в 10 раз превышают размеры тела. Кишечник морской свинки имеет слабую мускулатуру и является так называемым «заполняемым кишечником». Пищевая кашица перемещается не как у человека с помощью перистальтики кишечника, а перемещается, прежде всего, поступающей пищей. Это является одной из причин, почему желудок морской свинки не может быть пустым (из-за своей слабой мускулатуры желудка они не могут отрывивать пищу). За день морская свинка может до 200 раз употреблять в пищу цекотрофы (первичный кал - мягкие, влажные окатыши, образующиеся в слепой кишке в основном ночью (поэтому иногда называют ночным калом)).

Двенадцатиперстная кишка у морской свинки имеет 4 части. Первая короткая и широкая начальная часть, или луковица, которая отделена от желудка выраженным циркулярным сужением (пилорус). И три протяженные и более узкие части – краниальная, нисходящая и каудальная, которые разделены краниальным и каудальным изгибами в форме острых углов со сглаженными вершинами. Луковица находится под разными углами к пилорической части желудка и краниальной

части двенадцатиперстной кишки. Краниальная часть имеет косонисходящее направление, причем дистальный отрезок спускается более круто. Нисходящая часть разделяется на 2 отдела – проксимальный (вариабельной длины, полого или круто восходящий) и дистальный (более или менее круто нисходящий). Каудальная часть всегда имеет косовосходящее направление (краниально и справа налево). Двенадцатиперстно-тощекишечный изгиб находится на уровне ворот правой почки, имеет форму угла, расположенного кососагиттально, начальный отрезок тощей кишки идет вентрально и вправо (незавершенный подвыворот).

Двенадцатиперстная кишка у морской свинки имеет форму полукольца, которое сильно деформировано: 1) продольное вытяжение (сильно удлинена нисходящая часть); 2) вентрокаудальный прогиб – двенадцатиперстная кишка согнута на протяжении нисходящей части и неполностью сложена вдвое на уровне надпочечников и краниального края тела поджелудочной железы, краниальнее двенадцатиперстно-тощекишечного изгиба. В результате двенадцатиперстная кишка у морских свинок состоит из 2 петель V-образной формы. Краниальная петля лежит вентрокаудальнее луковицы двенадцатиперстной кишки и вентральнее каудальной петли двенадцатиперстной кишки, последняя – примерно на уровне правой латеральной лопасти печени. Между петлями двенадцатиперстной кишки находятся дистальные петли восходящей ободочной кишки с петлями тощей кишки и/или вентральные петли поперечной ободочной кишки.

Продольная деформация двенадцатиперстной кишки у морской свинки (сгиб на протяжении сильно удлинённой нисходящей части) не характерен для двенадцатиперстной кишки человека и крысы.

Вариабельный морфогенез двенадцатиперстной кишки у морской свинки кор-

релирует с неравномерным ростом печени. При уменьшении левой доли печени двенадцатиперстная кишка менее согнута и больше смещена вправо, над (краниальнее) дистальными петлями восходящей ободочной кишки. При увеличении левой доли печени двенадцатиперстная кишка более согнута и больше смещена влево (ее нисходящая часть), над (краниальнее) вентральными петлями поперечной ободочной кишки. Каудальная петля двенадцатиперстной кишки больше всего выражена при минимальной левой латеральной лопасти печени. Краниальная петля двенадцатиперстной кишки длиннее всего при максимальной левой латеральной лопасти печени и примерно равна каудальной петле при промежуточных состояниях (Ребингер Г., 1929, Ковалевский К.Л., 1948, Ромер А., Парсонс Т., 1992, Кулагина К.А., 2008, Петренко В.М., 2013б, 2013в).

Ободочная кишка морской свинки имеет следующие отделы – восходящий, поперечный и нисходящий. Сигмовидная ободочная кишка лишь намечается. Восходящая ободочная кишка постоянно образует 3 петли – одну левую и две правые. Поперечная ободочная кишка имеет переменную длину и образует под большой кривизной желудка либо одну крупную, широкую петлю, либо до пяти небольших петель. Число петель поперечной ободочной кишки возрастает при увеличении левой доли печени, каудальном удлинении ее латеральной лопасти. Поперечная ободочная кишка переходит в нисходящую ободочную кишку около каудальной половины левой почки.

Нисходящая ободочная кишка идет каудально, сначала косо (немного слева направо – более короткий, косопроходный окологпочечный отрезок), а затем примерно по средней линии, между маточными трубами (рогами матки) или семенниками (более протяженный про-

дольный отрезок). Недалеко от (дна) матки или дна мочевого пузыря нисходящая ободочная кишка переходит в более широкую прямую кишку, причем предварительно образует небольшой вентральный изгиб, который можно рассматривать как прообраз сигмовидной ободочной кишки. Брыжейка ободочной кишки подвижна практически на всем протяжении ободочной кишки и образует короткий корень, общий с брыжейками тонкой и слепой кишок.

Ободочная кишка морской свинки, как и ободочная кишка крысы (Ковалевский К.Л., 1948, Петренко В.М., 2011), напоминает растянутую спираль, внедренную в петли тонкой кишки.

Ободочная кишка морской свинки в правой части гораздо длиннее и искривленнее, чем у белой крысы.

В отличие от ободочной кишки человека, в ободочной кишке морской свинки:

1) восходящий отдел оказывается самым длинным и постоянно образующим крупные петли, которые охватывают слепую кишку и петли тощей кишки;

2) поперечный отдел никогда не бывает даже почти прямым и чаще образует несколько петель, перемежающихся с петлями подвздошной кишки;

3) нисходящий отдел всегда почти прямой и занимает примерно срединное положение;

4) сигмовидный отдел только намечается в виде небольшого вентрального прогиба конечного отрезка нисходящего отдела ободочной кишки при переходе в прямую кишку;

5) брыжейка подвижна и образует короткий корень, общий с брыжейками тонкой и слепой кишок, что у человека встречается очень редко (Хирургическая анатомия., 1972, Ромер А., Парсонс Т., 1992, Кулагина К.А., 2008).

Слепая кишка имеет общую, очень короткую брыжейку с восходящей ободочной кишкой, огибающей слепую киш-

ку с вентральной стороны. Имеет вид деформированного витка толстой спирали и большие относительные размеры. Слепая кишка морской свинки сильно отличается по форме, строению и топографии от слепой кишки человека и крысы:

1) имеет гораздо большие относительные размеры – занимает большую часть каудальной половины брюшной полости;

2) относительно более узкая – в 5 раз, по сравнению с человеком, и почти в 1,5 раза, по сравнению с крысой;

3) в отличие от человека, не имеет червеобразного отростка и сильно искривлена (виток спирали), причем больше, чем у белой крысы;

4) охвачена 1-й петлей восходящей ободочной кишки, которая «собирает» слепую кишку в складки;

5) в отличие от крысы, имеет вид гофрированной трубки, благодаря выраженным вздутиям (Ковалевский К.Л., 1948, Петренко В.М., 2013г).

Длина кишечника человека всего лишь в 5,5 раза больше длины крысиного кишечного тракта, несмотря на гораздо большую массу тела человека (70 кг) по сравнению с массой тела крысы (0,25 кг). Относительные размеры отделов кишечного тракта также отличаются. У крыс, тонкая кишка составляет 83% от общей длины ЖКТ, и около 90% тонкой кишки это тощая кишка. Тонкая кишка людей составляет 81% от общей длины ЖКТ, но только 38% от тонкой кишки представлено тощей кишкой. Другим значительным различием между кишечными трактами крысы и человека являются относительные размеры слепой кишки. У крыс, слепая кишка составляет приблизительно 26% от длины толстой кишки, в то время как у человека слепая кишка составляет лишь около 5% от длины толстой кишки (DeSesso J.M., 1995, Swenson M.J., Reece W.O., 1993).

Несмотря на то, что человеческая тон-

кая кишка только в пять раз длиннее тонкой кишки крыс, ее площадь в 200 раз больше, чем у крыс. Связано это с тем, что у человека, имеется три типа анатомических особенностей для увеличения площади поверхности тонкого кишечника, в то время как у крыс их только два из них. Первая особенность у человека это многочисленные, выраженные складки слизистой оболочки ориентированные перпендикулярно к продольной оси, которые отсутствуют у крыс, они увеличивают площадь поверхности с коэффициентом 3. Вторая особенность: у людей и крыс, имеются многочисленные ворсинки, они увеличивают площадь поверхности с коэффициентом 5 у крысы и с коэффициентом 10 у человека. Третья особенность у человека и крысы это наличие микроворсинок энтероцитов, они увеличивают площадь поверхности тонкой кишки у крысы и человека с коэффициентом 20 (Snyder W.S. et al., 1975, Granger D.N. et al., 1985; Hebel R., Stromberg M.W., 1986).

Тощая кишка с подвздошной кишкой у мышей 35-55 см в длину. Слепая кишка выражена хорошо, ее длина 2,5-4,0 см., длина ободочной кишки — 4,5-5,5 см.

У сирийских хомяков общая длина кишок в среднем около 70-90 см. В нем такие же отделы, как и у других лабораторных грызунов: двенадцатиперстная, тощая, подвздошная — отделы тонкой кишки; слепая, ободочная и прямая — отделы толстой кишки. Двенадцатиперстная кишка идет вначале дорсально, затем поворачивая каудовентрально и вправо. Общая ее длина — 1,8-2 см. Тощая кишка относительно короткая, она делает 4-5 витков. Положение слепой кишки бывает разнообразно. Ободочная кишка имеет восходящую, поперечную и нисходящую части.

В большинстве отделов пищеварительного тракта значения рН около 7-8. Желудок является исключением из этого

Таблица 4

Показатели pH в различных частях пищеварительного тракта у животных и человека, собственные и литературные данные (McConnell E.L. et al., 2008, Merchant H.A. et al., 2011)

Вид животных	Желудок		Двенадцатиперстная кишка	Ободочная кишка	Прямая	Фекалии
	передняя часть	задняя часть				
Человек	1,3-2,0	5,6	5,6-7,9	7,2-7,5	6,8-7,6	6,0-8,0
Кролик	1,9 <i>2,6-3,2</i>	1,9 <i>2,0-4,0</i>	6,0-8,0 <i>5,5-6,2</i>	6,6 <i>6,5-8,0</i>	7,2 <i>6,0-6,9</i>	7,2 <i>6,8-7,2</i>
Морская свинка	4,5 <i>2,7-3,4</i>	4,1 <i>3,6-4,3</i>	7,6-8,1 <i>4,6-5,5</i>	7,0 <i>6,5-7,3</i>	6,7 <i>5,6-6,3</i>	6,7 <i>6,8-7,2</i>
Крыса	3,0-5,0 <i>3,7-4,7</i>	3,3 <i>2,9-3,3</i>	5,0-7,1 <i>5,1-6,7</i>	5,1-6,8 <i>6,5-7,4</i>	5,9 <i>5,8-6,3</i>	6,9 <i>6,6-7,1</i>
Мышь	4,5 <i>2,8-3,2</i>	2,98-3,1 <i>2,1-2,7</i>	4,87 <i>4,9-5,9</i>	4,82 <i>6,0-6,5</i>	4,44 <i>5,8-6,4</i>	5,6-5,9 <i>5,6-5,9</i>
Хомяк	6,9 <i>6,8-7,1</i>	2,9 <i>3,7-4,6</i>	6,1-7,1 <i>6,0-6,6</i>	7,1 <i>5,0-8,0</i>	6,8-7,3 <i>6,8-7,3</i>	6,9-7,8 <i>6,9-7,8</i>

Примечание: значения выделенные курсивом, получены в нашей лаборатории.

правила. У людей pH химуса в желудке составляет 1-2, у крыс pH химуса менее кислый (pH 3-5) (Kararli T.T., 1995). Когда химус поступает в двенадцатиперстную кишку, она быстро нейтрализуется, pH химуса влияет на состояние ионизации некоторых молекул и, следовательно, на абсорбцию.

В таблице 4 представлены величины кислотности у человека и животных в разных отделах кишечника.

Важным аспектом в работе желудочно-кишечного тракта кроликов, морских свинок, крыс, мышей и хомяков является необходимость отделять волокнистый материал от более легкоусвояемых веществ. В результате формируется 2 типа испражнений - волокнистый материал выходит как фекалии, в то время как более питательные вещества в слепой кишке упаковываются в цекотрофы (первичный кал), покрытые слизистой оболочкой, которые в дальнейшем поедаются.

Поедание кала (копрофагия) у кроликов впервые была описана Thacker E.J. и Brandt C.S. (1955). При поедании цекотрофов они не смешиваются в желудке с другой пищей и располагаются отдельно, в области дна. Там они подверга-

ются брожению в течение многих часов, при этом слизистая оболочка цекотрофов, сформированная в ободочной кишке, позволяет питательным веществам проходить через кислую среду желудка для дальнейшего переваривания в кишечнике (Калугин Ю.А., 1974, 2015, Шмидт-Ниельсен К., 1982). Цекотрофы содержат большое количество минералов, витаминов и протеинов, которые необходимы для здоровья кроликов (Калугин Ю.А., 1974, 2009, 2015).

Копрофагия у крыс служит источником витамина К и биотина, кроме этого, на фоне отсутствия копрофаги развиваются и другие гиповитаминозы. Детеныши, поедая кал кормящей самки, заселяют собственный кишечник аналогичной микрофлорой, при отсутствии копрофаги рост детенышей замедляется на 15-25%. В слепой кишке крысы-матери под воздействием определенных бактерий из холевой кислоты синтезируется вторичная желчная - деоксихолиевая кислота. Потребность в ней и заставляет крысят поедать экскременты матери, а привлекает их феромон-содержащий компонент фекалий - производное диоксихолиевой кислоты (Серая крыса..., 1990).

У кроликов исключение копрофагии

ведет к снижению способности переваривать пищу, а также утилизации белков и накоплению азота. После возобновления копрофагии способность переваривать целлюлозу вновь возрастает (Калугин Ю.А., 1974, 2015, Шмидт-Ниельсен К., 1982, Наумова Е.И. и др., 2013).

Как уже было сказано, желудочно-кишечный тракт активно заселен микроорганизмами ввиду обилия и разнообразия в нем питательных веществ. Кишечный тракт животных — обычное место обитания разнообразных микроорганизмов, преимущественно анаэробных. Характер взаимоотношений этих микроорганизмов может быть различным и в первую очередь зависит от особенностей рациона.

В кишечник травоядных животных попадает большое количество клетчатки. В большинстве случаев переваривание целлюлозы происходит за счет разрушения ее бактериями, а животное потребляет в качестве пищи продукты ее деградации и сами клетки микроорганизмов. Таким образом, здесь наблюдается кооперация, или симбиоз. У многих животных взаимодействие с кишечной микрофлорой носит промежуточный характер. Например, у кроликов и мышей в кишечнике корм в значительной степени используется до того, как начнется бурное развитие бактерий. Однако в отличие от человека, у таких животных корм дольше задерживается в кишечнике, что способствует его сбраживанию бактериями.

Наиболее активная жизнедеятельность микроорганизмов всегда происходит в толстой кишке. Анаэробы здесь развиваются, осуществляя брожение, при котором образуются органические кислоты — преимущественно уксусная, пропионовая и масляная. При ограниченном поступлении углеводов образование этих кислот энергетически выгоднее, чем образование этанола и молочной кислоты. Происходящее здесь же разрушение белков приво-

дит к снижению кислотности среды. Накапливающиеся кислоты могут быть использованы животным.

Содержимое кишечника — благоприятная среда обитания микроорганизмов. Однако здесь действует и ряд неблагоприятных факторов, способствующих адаптации и специализации кишечных микроорганизмов. Так, в толстой кишке накапливаются желчные кислоты до концентрации, уже угнетающих рост некоторых бактерий. Масляная и уксусная кислоты также обладают бактерицидными свойствами.

В состав кишечной микрофлоры различных животных входит ряд видов бактерий, способных разрушать целлюлозу, гемицеллюлозу, пектины. У многих млекопитающих в кишечнике обитают представители родов *Bacteroides* и *Ruminococcus*. *B.succinogenes* был обнаружен в кишечнике лошадей, коров, баранов, антилоп, крыс, обезьян. *R.albus* и *R. flavefaciens*, активно разрушающие клетчатку, обитают в кишечнике лошадей, коров, кроликов. К сбраживающим клетчатку кишечным бактериям относятся также *Butyrivibrio fibrisolvens* и *Eubacterium celulosolvens*. Роды *Bacteroides* и *Eubacterium* представлены в кишечнике млекопитающих рядом видов, некоторые из которых разрушают также белковые субстраты.

В составе кишечной микрофлоры разных животных обнаруживаются характерные различия. Часть форм прикреплена к поверхности клеток, другие находятся на некотором удалении от ткани. Состав прикрепленных форм может изменяться при ослаблении или заболевании хозяина, и даже при стрессе.

Микрофлору желудочно-кишечного тракта принято делить на облигатную (молочнокислые бактерии, *E. coli*, энтерококки, *Cl. perfringens*, *Cl.sporogenes* и др.), которая адаптировалась к условиям этой среды и стала постоянным ее обита-

телем, и факультативную, изменяющуюся в зависимости от вида корма и воды.

Роль нормальной микрофлоры в жизни животных, как показано выше, так велика, что возникает вопрос: возможно ли сохранение физиологического состояния животного без микробов. Еще Л. Пастер пытался получить таких животных, но низкое техническое обеспечение подобных экспериментов того времени не позволило решить поставленную задачу.

В настоящее время не только получены безмикробные животные (мыши, крысы, морские свинки, цыплята, поросята и другие виды), но и успешно развивается новая отрасль биологии – гнотобиология (греч. *gnotos* – познание, *bios* – жизнь). У гнотобиотов ввиду отсутствия антигенного «раздражения» иммунной системы возникает недоразвитие иммунокомпетентных органов (тимуса, лимфоидной ткани кишечника), дефицит IgA, ряда витаминов. Как следствие у гнотобиотов нарушаются физиологические функции: уменьшается масса внутренних органов, объем крови, понижено содержание воды в тканях. Исследования с использованием гнотобиотов позволяют изучать роль нормальной микрофлоры в механизмах инфекционной патологии и иммунитета, в процессе синтеза витаминов, аминокислот. Заселяя организм гнотобиотов теми или иными видами (сообществами) микроорганизмов, удается выявлять физиологические функции этих видов.

Печень

Печень у всех млекопитающих это крупная непарная железа, располагающаяся в правом подреберье, покрытая капсулой, состоит из долей, а доли - из сегментов. На висцеральной и диафрагмальной поверхности органа находятся ворота - место входа кро-веносных сосудов и нервов и выхода лимфатических сосудов и общего печеночного протока. Печень имеет два источника кровоснабжения: а) печеночная артерия (приносит кровь, бо-

гатую кислородом, б) воротная вена, приносит венозную кровь от непарных органов брюшной полости - желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы, селезенки.

Основные функции печени:

а) железистая (выработка желчи, содержащей желчные кислоты и пигменты, холестерин и др.; необходима для перевода жиров в состояние тонкодисперсной эмульсии, активации липаз, всасывания жиров и витаминов, стимуляции моторики кишечника и торможения гнилостных процессов в нем).

б) детоксикационная (барьерная, обезвреживание экзо-генных и эндогенных токсичных веществ, фагоцитоз инородных частиц).

в) метаболическая (участие в обмене углеводов, белков, липидов, витаминов, минеральных компонентов и др.).

г) депонирующая (депо крови, витаминов, гли-когена, микроэлементов и др.).

д) белоксинтезирующая (биосинтез сывороточных альбуминов, фиброгена и др.)

Печень обладает высокой способностью к регенерации. Фактически регенерация происходит из-за увеличения объема оставшихся клеток (Вишневский В. А. и др., 1993).

Печень у человека состоит из двух долей: правой и левой. В правой доле выделяют ещё две вторичные доли: квадратную и хвостатую. Масса печени взрослого человека составляет 1200 – 1800 г. У человека за сутки образуется 150 – 1540 мл желчи.

Печень кролика составляет 4-4,5% массы тела (около 80-120 г). Особенности печени кролика: большие размеры, наличие хвостатой и сосцевидной долей. В печени кролика различают шесть долей: левую латеральную (30,9%), левую медиальную (20,4%), правую (10%), квадратную или узкую среднюю (15%), хвостатую (18,7%) и сосцевидный отросток (5%

массы печени). Края печени часто с насечками (Алиев А.А. и др., 2002).

Желчный пузырь небольших размеров вместе с содержащейся в нем желчью весит 1,7-2 г. Ввиду непрерывной работы пищеварительного аппарата за сутки у кролика выделяется большое количество желчи – 250-400 мл и больше. Она мало густеет в желчном пузыре.

Печень у морской свинки темно-бурого цвета, объемистая, массой 18,5 - 20 г, т.е. 3,9% массы тела. В печени морской свинки различают шесть долей: левую латеральную, левую медиальную, квадратную (небольших размеров), правую латеральную, правую медиальную и хвостовую, на которой находится вдавление для почки. Наибольшей является левая латеральная доля. По сравнению с другими животными печень морских свинок имеет большое количество ретикуло-эндотелиоцитов. Особенно много их в правой латеральной доле.

Масса печени крысы от 6,5 г (у крысы массой 150 г) до 10-12 г (у крысы массой 250 г), что составляет 4-6% массы животного. Печень имеет следующие доли: левую латеральную (самая большая), левую медиальную, правую медиальную, правую латеральную, хвостовую, на которой имеется вдавление от почки, и добавочную. В печени крысы вырабатывается и выделяется за сутки в среднем 10-50 мл желчи. Отличительной особенностью является отсутствие желчного пузыря у данного вида животных.

Печень мыши сильно изрезана и состоит из четырех долей: левой латеральной, левой медиальной, правой латеральной (с хвостатым отростком), правой медиальной (с сосцевидным отростком). Самая большая из долей — левая латеральная. Масса печени взрослой мыши — 1,0 – 1,9 г. Между левой медиальной и правой медиальной долями находится желчный пузырь (Ноздрачев А.Д. и др., 2012).

Печень хомяка темно-коричневого цвета, состоит из шести долей: левой латеральной (самой большой), левой медиальной, правой латеральной, правой медиальной, хвостовой и квадратной, которые отчетливо отделены друг от друга. Относительная масса печени составляет 1,2-3,3 г., что равно 5-6% массы тела животного.

Желчный пузырь обособлен, но имеет довольно малые размеры. Объем данного органа составляет порядка 0,2 мл.

Сравнительная характеристика гепатобиллиарной системы животных представлена в таблице 5.

Желчный пузырь у человека обычно грушевидной формы, прилежит к нижней поверхности печени. В желчном пузыре различают дно, тело и шейку, которая, постепенно суживаясь, переходит в пузырный проток. В начальной части пузырного протока имеется 3-5 поперечных складок (клапаны Хайстера), а в шейке пузыря - кольцевой слой мышц - сфинктер Лютеркенса. Будучи взаимосвязанными, они играют важную роль в функциональном отношении.

У мышей, морских свинок, хомяков, также как у человека имеется желчный пузырь. У крыс, как было сказано выше, желчный пузырь отсутствует (Kohn DF, Barthold SW., 1984). Главный проток железы (общий желчный проток) впадает в двенадцатиперстную кишку. Это означает, что у крыс, желчь поступает в двенадцатиперстную кишку непрерывно. Для сравнения, люди выделяют из желчного пузыря 2-22 мл желчи на кг массы тела в день (Dressman J.B., Yamada K., 1991), по сравнению с 40-200 мл желчи на кг массы тела в день секретируется непосредственно из печени у крыс (Kararli T.T., 1989).

Основными желчными кислотами, обнаруживаемыми в желчи человека, являются холевая кислота (3 α ,7 α ,12 α -триокси-5 β -холановая кислота), хенодезоксихолевая кислота (антроподезоксихо-

Таблица 5

Сравнительная характеристика гепатобиллиарной системы животных
(Martinez M. et al., 2002, Riviere J.E., 1999, Erhlinger S., 1987)

Вид	Абсолютная масса печени, г	Относительная масса печени, %	Количество долей печени	Наличие желчного пузыря	Количество желчи, выделяемой в сутки, мл (мл/кг)
Кролик	<i>80-120</i>	4-4,5	6	+	250-400 (83-133)
Морская свинка	<i>18,5-20</i>	3,9	6	+	140-145 (280-290)
Крыса	<i>6,5-12</i>	4-6	6	-	10-50 (40-200)
Мышь	<i>1,0-1,9</i>	5-6	4	+	20-25 (1000-1250)
Хомяк	<i>1,2-3,3</i>	5-6	6	+	70-75 (700-750)
Человек	1500	2-3	2	+	150 – 1540 (2-22)

Примечание: значения выделенные курсивом, получены в нашей лаборатории

Таблица 6

Желчные кислоты у различных видов животных и человека (собственные данные и литературные данные (Аюшиева и др., 2009, Винокурова и др., 2015, Даминов и др., 2012)

Вид	Желчные кислоты, мг%				Холестерин
	Холевая	Дезоксихолевая	Хенодезоксихолевая	Сумма желчных кислот	
Кролик	<i>95±18</i>	<i>624±57</i>	<i>43±15</i>	<i>839±53</i>	<i>50±3</i>
Морская свинка	<i>67±15</i>	<i>Не обнаружена</i>	<i>277±29</i>	<i>361±42</i>	21 <i>18±4</i>
Крыса	180-370 <i>288±29</i>	25-50 <i>49±4</i>	50-180 <i>90±13</i>	<i>472±25</i>	15-30 <i>28±7</i>
Мышь	<i>72±9</i>	<i>Не обнаружена</i>	<i>28±4</i>	<i>127±19</i>	<i>16±4</i>
Хомяк	<i>81±10</i>	<i>Не обнаружена</i>	<i>293±46</i>	<i>409±37</i>	<i>28±5</i>
Человек	14	6	42	420	50

Примечание: значения выделенные курсивом, получены в нашей лаборатории

левая кислота, 3 α ,7 α -диокси-5 β -холановая кислота) и дезоксихолевая кислота (3 α ,12 α -диокси-5 β -холановая кислота). В значительно меньших количествах в желчи обнаружены стереоизомеры холевой и дезоксихолевой кислот — аллохолевая, урсодезоксихолевая и литохолевая (3 α -маноокси-5 β -холановая) кислоты.

У человека желчные кислоты формируются из холестерина в печени, затем они попадают в желчный пузырь, а оттуда в кишечник. У крыс желчного пузыря нет [Kohn DF, Barthold SW., 1984], поэто-

му желчные кислоты в их организме выделяются непосредственно в кишечник. У этих животных вырабатывается особая желчная кислота, которая у людей отсутствует. Это α и β -мурихолевая кислота (Thomas J.N. et al., 1984; Луценко М.Т., 2006).

Считается, что именно благодаря ей крысы обладают способностью к быстрому выведению холестерина из организма. Данные различия проявляются в том, что крысы очень устойчивы к изменениям уровня сывороточного холестерина, а

люди нет. Кроме того, эти животные почти не подвержены образованию бляшек в артериях в результате потребления пищи (Stehbens W.E., 1986).

7 α -гидроксилаза имеет высокую активность у крыс, поэтому в их желчи холевой кислоты почти нет, дезоксихолевая кислота выводится с желчью. У человека этот фермент менее активен и дезоксихолевая кислота интенсивнее преобразуется в холевую, поэтому у человека в печени много холевой кислоты (Луценко М.Т., 2006).

Как известно, у крыс наиболее благоприятные, генетически обусловленные, условия обмена желчных кислот: высокое 7 α -дегидроксилирование дезоксихолевой кислоты и выведение ее из кишечника. Человек в этом отношении находится в менее выгодном положении: в его печень поступает много дезоксихолевой кислоты, а гидроксилирование дезоксихолевой кислоты происходит медленно, что и способствует усиленному образованию холевой кислоты (Луценко М.Т., 2006).

В таблице 6 представлены литературные и собственные данные по количественному содержанию желчных кислот у различных видов лабораторных животных и человека.

Поджелудочная железа

Поджелудочная железа является главным источником ферментов для переваривания пищи: трипсина, химотрипсина, панкреатической липазы и амилазы. Секрет поджелудочной железы накапливается в междольковых протоках, которые

сливаются с главным выводным протоком, открывающимся в двенадцатиперстную кишку.

Между дольками вкраплены многочисленные группы клеток, не имеющие выводных протоков, например, островки Лангерганса. Клетки островков Лангерганса функционируют как железы внутренней секреции (эндокринные железы), выделяя непосредственно в кровяной ток глюкагон и инсулин, гормоны, регулирующие метаболизм углеводов. Эти гормоны обладают противоположным действием: глюкагон повышает, а инсулин понижает уровень глюкозы в крови.

Протеолитические ферменты секретятся в просвет ацинуса в виде зимогенов (проферментов, неактивных форм ферментов) — трипсиногена и химотрипсиногена. При высвобождении в кишку они подвергаются действию энтерокиназы, присутствующей в пристеночной слизи, которая активирует трипсиноген, превращая его в трипсин. Свободный трипсин далее расщепляет остальной трипсиноген и химотрипсиноген до их активных форм. Образование ферментов в неактивной форме является важным фактором, препятствующим энзимному повреждению поджелудочной железы, часто наблюдаемому при панкреатитах.

Гормональная регуляция экзокринной функции поджелудочной железы обеспечивается гастрином, холецистокинином и секретинном.

У большинства позвоночных поджелудочная железа имеет компактное, реже

Таблица 7
Масса поджелудочной железы у человека и лабораторных животных, данные по животным, получены в нашей лаборатории

Вид	Масса поджелудочной железы, г
Кролик	3,5-5
Морская свинка	1,5-3,7
Крыса	2-2,5
Мышь	0,8-1,2
Хомяк	2,5-3,6
Человек	70-80

диффузное строение, состоит из рассеянных долек или распространяется тонким слоем по брыжейкам и даже внедряется в ткань лежащих по соседству печени и селезенки [Шмальгаузен И.И., 1938, Ромер А., Парсонс Т., 1992].

Поджелудочная железа человека представляет собой удлинённое дольчатое образование серовато-розоватого оттенка и расположена в брюшной полости позади желудка, тесно примыкая к двенадцатиперстной кишке. Орган залегает в верхнем отделе на задней стенке полости живота в забрюшинном пространстве, располагаясь поперечно на уровне тел I—II поясничных позвонков. Состоит из головки, тела и хвоста, имеет разную форму, в т.ч.: вытянутую, языкообразную; согнутую, с оттянутой книзу головкой, молоткообразную; изогнутую углом или в виде буквы «J». Длина железы взрослого человека — 14—22 см, ширина — до 3 см (в области головки), толщина — 2—3 см. Масса органа — около 70—80 г.

Поджелудочная железа у кролика разрозненная, малых размеров. Масса в среднем составляет 0,1 – 0,14% массы тела. Отдельные дольки по цвету напоминающие жир, группируются и образуют правую долю (вернее правую лопасть), расположенную по ходу разветвления передней и задней двенадцатиперстно-поджелудочной артерий, и левую долю (лопасть).

Проток поджелудочной железы (*ductus pancreaticus*) впадает в восходящую часть двенадцатиперстной кишки, отступая на 40 см от желудка (Алиев А.А. и др., 2002).

В поджелудочной железе крысы различают головку, имеющую правую и левую доли. Длина поджелудочной железы составляет 3-5 см, ширина – 0,3 см, а ее средняя масса – 0,47 г. Расположена она в брыжейке. Левая доля прилегает к двенадцатиперстной кишке, правая лежит позади желудка. Через поджелудочную желе-

зу частично проходит желчный проток. Секрет поджелудочной железы по двум протокам поступает или непосредственно в двенадцатиперстную кишку, или в желчный проток. Он содержит ферменты – липазу и трипсин. Для крыс характерно то, что в поджелудочной железе в течение жизни могут образовываться новые панкреатические клетки.

Поджелудочная железа крысы отличается от поджелудочной железы человека большей рыхлостью, изогнутостью и разветвленностью, имеет две крайние формы строения и топографии – молоткообразную и трилистника, когда ветви головки поджелудочной железы вдаются в смежные брыжейки (Петренко В.М., 2012а). При этом по источнику развития, закономерностям органо- и гистиогенеза, структурной организации поджелудочная железа человека и белой крысы гомологичны, что является обоснованием объективности экстраполяции на человека результатов экспериментальных исследований патологии данного органа у крысы (Пивченко Т.П., 2013).

Поджелудочная железа мыши размещается позади и кнаружи от желудка, сравнительно больших размеров. Масса ее у белой мыши массой 20-25 г. равна 0,15 г. Состоит она из правой и левой долей. Правая доля прилегает к двенадцатиперстной кишке и направляется к привратнику. Левая доля позади желудка и прилегает к селезенке (Ноздрачев А.Д. и др., 2012).

Поджелудочная железа у хомяков растянута, головка ее расположена на каудодорсальной поверхности желудка. Тело ее идет между желудком и двенадцатиперстной кишкой, прилегая к двенадцатиперстной кишке и селезенке; по восходящей части ободочной кишки хвостовой частью поджелудочная железа достигает левой почки.

Альфа-клетки поджелудочной железы больших размеров с маленькими, ком-

пактными бесцветными ядрами. Количество бета-клеток значительно меньше, они малых размеров с большими ядрами.

Поджелудочная железа морской свинки имеет очень сложное строение. Она сильно изогнута и разветвлена, особенно головка и хвост.

Данный орган морской свинки имеет 3 части: 1) дуоденальную – головка, охватывает двенадцатиперстную кишку; 2) пилорическую – тело, лежит между пилорической частью желудка и двенадцатиперстно-тощекишечным изгибом; 3) желудочно-селезеночную – хвост, протягивается вдоль большой кривизны тела желудка к селезенке.

Хорошо выраженные ветви поджелудочной железы у морской свинки, расположены на ее правом и левом концах, в расправленном состоянии отдаленно напоминают бабочку, в сложенном состоянии орган имеет S-образную форму, которая встречается у человека. Поджелудочная железа у морской свинки менее изогнута, чем молоткообразная поджелудочная железа у крысы. В отличие от человека и белой крысы, у морской свинки головка поджелудочной железы почти полностью окружена двенадцатиперстной кишкой и ограничена от желудка луковицей двенадцатиперстной кишки (Петренко В.М., 2013а).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные демонстрируют наличие большого числа различий в анатомии и физиологии желудочно-кишечного тракта лабораторных животных и человека. Мы надеемся, что изложенный материал позволит исследователям более четко ориентироваться в вопросах анатомо-физиологических особенностей лабораторных животных, и применять данные знания при планировании исследований на лабораторных животных, осуществлять выбор вида лабораторных животных в зависимости от задач исследования, применяя принцип 3R

(replacement, reduction, refinement — замещение, сокращение, усовершенствование).

Anatomical and physiological characteristics of digestive tract in humans and laboratory animals.

M. Makarova, A. Rybakova, Ya. Gushchin, V. Shedko, A. Muzhikyan, V. Makarov.

ABSTRACT

The laboratory animals is widely used for clinical trials of drugs. When transferring the experimental data obtained from animals to humans will inevitably have problems related to differences in anatomy and function of various organs, biochemical processes, the presence or absence of certain enzymes and hormones.

The largest number of drugs today are dosage forms intended for oral (by mouth). This makes researchers when selecting experimental animals more closely approach the digestive system compared in laboratory animals and humans.

The most obvious questions in this case are: the speed of motility of the gastrointestinal (GI) tract in humans and laboratory animals, gastrointestinal sizes, the presence and activity of enzymes in the stomach and intestine, synthesis of digestive enzymes glands composition of intestinal microflora, metabolic pathways in the liver. And, although the gastrointestinal tract of people have a lot in common with most laboratory animals, especially at the level of microscopic observation, there are significant differences. Therefore, in this article we have attempted to compare the features of digestive tract in humans and laboratory animals.

We hope that the above material will allow researchers to more clearly guided in matters of anatomical and physiological characteristics of laboratory animals and to apply this knowledge in the planning of studies on laboratory animals to carry out selection of the type of laboratory animals, depending on the objectives of the study, applying the princi-

ple of 3R (replacement, reduction, refinement - replacement, reduction, improvement).

Key words: pre-clinical studies, laboratory animals, the gastrointestinal tract, digestive organs.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Алиев А.А., Зеленецкий Н.В., Лайшев К.А. и др., Кролик / А.А. Алиев,. – СПб. : Агропромиздат, 2002. – 448 с.
- 2.Анатомия человека / Привес М. Г., Лысенков Н. К. — 9-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 1985. -672 с.
- 3.Анатомия человека в двух томах / Под ред. акад. РАМН проф. М. Р. Сапина. — 5-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 2001. -640 с.
- 4.Аюшиева С.Ц., Ковалева Л.П., Лонщикова К.С. Влияние минеральной воды «Аршан» и фитосбора «Байкальский-7» на секреторную активность печени и биохимический состав желчи в условиях эксперимента // Бюллетень ВСНЦ СЦ РАМН. -2009, №3 (67). –С. 169-171.
- 5.Винокурова Л.В., Агафонов М.А., Варванина Г.Г. и др. Биллиарная недостаточность при различных этиологических формах хронического панкреатита // Gastroenterology. -2015, №2 (103). –С. 14-18.
- 6.Вишневский В.А., Федоров В.Д., Подколзин А.В. Функционально-морфологические изменения печени после ее резекции//Хирургия. 1993. № 3. С. 62–67.
- 7.Даминов Т.О., Туйчиев Л.Н., Худайкулова Г.К. и др. Биохимический состав желчи у реконвалесцентов гепатита А // Детские инфекции. -2012, №4. –С. 57-60.
- 8.Зеленецкий Н.В. Кролик/ А.А. Алиев, К.А. Лайшев, М.З. Атагимов М.З. и др.; Авт.-сост. Н.В. Зеленецкий. - СПб. : Агропромиздат, 2002. - 444 с.
- 9.Калугин Ю.А. Мягкий и твердый кал у кроликов // Кролиководство и звероводство. -2015, № 1. –С. 29-32.
- 10.Калугин Ю.А. Пищеварение у кроликов // Кролиководство и звероводство. - 2009, № 5. –С. 24-28.
- 11.Калугин Ю.А. Физиологическое значение копрофагии зайцеобразных и грызунов// Зоологический журнал. -1974. - Т. 53. - Вып. 12. - С. 1840-1847.
- 12.Калугин Ю.А., Михайлова Р.И. Выделение и состав кала у кроликов // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2015, № 222(2). –С. 123-128.
- 13.Ковалевский К.Л. Морская свинка / под ред. А.И. Метелкина. – М.: Изд-во ЦНИОИ имени П.А. Герцена, МКТ «Кроликоптица», 1948. – 99 с.
- 14.Костиленко Ю.П., Саркисян Е.Г. Сравнительная анатомия зубочелюстной системы кролика и крысы // Український стоматологічний альманах. -2014. Вып. 5-6.
- 15.Кулагина К.А. Морские свинки. – М.: Изд-во «Вече», 2008. – 240 с.
- 16.Луценко М.Т. Гепатоэнтеральная рециркуляция холестерина // Бюллетень СО РАМН. -2006. –Т. 120, № 2. –С. 23-28.
- 17.Наумова Е.И., Жарова Г.К., Кузнецова Т.А., Чистова Т.Ю., Данилкин А.А. Морфологическое обеспечение специализации зайцев к копрофагии: архитектура поверхности слизистой кишечника // Известия РАН. Серия биологическая. -2013, № 6. –С. 713-719.
- 18.Ноздрачев А.Д, Поляков Е.Л. Анатомия крысы (Лабораторные животные) / Под ред. академика А.Д. Ноздрачева. – СПб.: Из-во «Лань», 2001. -464 с.
- 19.Ноздрачев А.Д, Поляков Е.Л., Маслюков П.М. Анатомия лабораторной мыши. –СПб.: Из-во С.-Петербур. ун-та, 2012. -424 с.
- 20.Петренко В.М. Двенадцатиперстная кишка у морской свинки // Международный журнал экспериментального образования. -2013б, №3. –С. 120-121.
- 21.Петренко В.М. Форма и топография двенадцатиперстной кишки у морской свинки // Успехи современного естество-

- знания. -2013в, №4. –С.56-59.
- 22.Петренко В.М. Форма и топография желудка у белой крысы // Успехи современного естествознания. – 2012б. –№ 4. – С. 27-29.
- 23.Петренко В.М. Форма и топография желудка у морской свинки// Успехи современного естествознания -2013д, №11, -С. 69-72.
- 24.Петренко В.М. Форма и топография ободочной кишки у белой крысы // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 12. – С. 17–21.
- 25.Петренко В.М. Форма и топография поджелудочной железы у белой крысы // Успехи современного естествознания. – 2012а. – № 2. – С. 35–39.
- 26.Петренко В.М. Форма и топография поджелудочной железы у морской свинки // In. j. of applied and fundamental research -2013а, №7. –С. 36-39.
- 27.Петренко В.М. Форма и топография слепой кишки у морской свинки// Успехи современного естествознания -2013г, №2, -С. 28-30.
- 28.Пивченко Т.П. Морфогенез поджелудочной железы крысы в пренатальном период онтогенеза // Здоровоохранение. - 2013, № 8. –С. 18-23.
- 29.Ребингер Г. Морская свинка / пер. с нем.; под ред. О.И. Бронштейна. – М.-Л.: Госзд-во, 1929. – 154 с.
- 30.Ромер А., Парсонс Т. Анатомия позвоночных: пер. с англ. яз. – М.: Изд-во «Мир», 1992. – Т. 2. – 406 с.
- 31.Ромер А., Парсонс Т. Анатомия позвоночных: пер. с англ.яз. – М.: Изд-во «Мир», 1992. – Т. 2. – 406 с.
- 32.Серая крыса. Систематика, экология, регуляция численности. Ред. В.Е.Соколов, Е.В.Карасева, М. Наука. 1990 г. 456 с.
- 33.Хирургическая анатомия живота / под ред. А.Н. Максименкова. – Л.: Изд-во «Медицина», 1972. – 688 с.
- 34.Шевкуненко В.Н., Геселевич А.М. Типовая анатомия человека. – Л.-М.: Гос. изд-во биол. и мед. лит-ры, 1935. –232 с.
- 35.Шмальгаузен И.И. Основы сравнительной анатомии позвоночных животных. 3-е изд-е. – М.: гос. изд-во наркомпроса РСФСР, 1938. – 488 с.
- 36.Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных. Приспособление и среда. Перевод с англ. к.б.н. М.Д. Дроздовой и к.физ-мат.н. Г.И.Рожковой. Под ред. акад. Е.М. Крепса. Из-во «Мир», -1982. -412 с.
- 37.Baggot J.D., Brown S.A., Basis for selection of the dosage form, in: G.E. Hardee, J.D. Baggot (Eds.), Development and Formulation of Veterinary Dosage Forms, 2nd Edition Marcel Dekker, New York, 1998, pp. 7–143.
- 38.Barret M., Batteux F., Beuvon F. et al. N-acetylcysteine for the prevention of stricture after circumferential endoscopic submucosal dissection of the esophagus: a randomized trial in a porcine model // Fibrogenesis Tissue Repair. -2012. –Vol. 5(1). –P. 8.
- 39.Briggs GB, Oehme FW. Toxicology. In: The Laboratory Rat, Volume II, pp. 103-108.
- 40.Chiou W.L., Barve A., Linear correlation of the fraction of oral dose absorbed of 64 drugs between humans and rats //Pharm. Res. -1998. –Vol. 15. –P. 1792–1795.
- 41.Cunningham J.G., in: Textbook of Veterinary Physiology W.B. Saunders, London, 1997
- 42.DeSesso J.M. 1995. Anatomical relationships of urinary bladders compared: their potential role in the development of bladder tumors in humans and rats// Food and Chemical Toxicology. -1995. –Vol. 33. –P. 705-714.
- 43.DeSesso J.M., Jacobson C.F. Review. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats // Food and Chemical Toxicology -2001. –Vol. 39. –P. 209-228.
- 44.DeSesso, J.M., 1993. The relevance to humans of animal models for inhalation studies of cancer in the nose and upper airways. Quality Assurance: Good Practice, Regulation and Law 2, 213-231.

45. Dressman J.B., Yamada K., 1991. Animal models for oral drug absorption. In: Welling, P.G., Tse, F.L.S., Dighe, S.V. (Eds.), *Pharmaceutical Bioequivalence*. Marcel Dekker, New York, pp. 235-266.
46. Erhlinger S. Physiology of bile secretion and enterohepatic circulation, in: L.R. Johnson (Ed.), *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 2nd Edition, Raven Press, New York, 1987, p. 1557.
47. Granger D.N., Barrowman J.A., Kvietys P.R., 1985. *Clinical Gastrointestinal Physiology*. W.B. Saunders, Philadelphia.
48. Hebel R., Stromberg M.W., 1986. *Anatomy and Embryology of the Laboratory Rat*. BioMed Verlag, Worthsee, Germany.
49. Iatropoulos M.J., 1986. Morphology of the gastrointestinal tract. In: Rozman, K., Hanninen O. (Eds.), *Gastrointestinal Toxicology*. Elsevier, Amsterdam, pp. 246-266.
50. Kararli T.T. Gastrointestinal absorption of drugs // *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*. -1989. -Vol. 6. -P. 39-86.
51. Kararli T.T., Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals// *Biopharmaceutics and Drug Disposition*. -1995. -Vol. 16. -P. 351-380.
52. Kohn D.F., Barthold S.W. Biology and diseases of rats. In: *Laboratory Animal Medicine*, Orlando, FL: Academic Press, Inc., 1984, pp. 91-122.
53. Levy B.M., Dreizen S., Bernick S. Periodontal disease. In: *Spontaneous Animal Models of Human Disease*, Volume I, ed. Andrews EJ, Ward BC, Altman NH. New York: Academic Press, Inc., 1979, pp. 4-10.
54. Martinez M., Amidon G., Clarke L. et al., Applying the biopharmaceutics classification system to veterinary pharmaceutical products. Part II. Physiological considerations // *Advanced Drug Delivery Reviews*. -2002. -Vol. 54. -P. 825-850.
55. McConnell E.L., Basit A.W., Murdan S. Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue, and implications for in-vivo experiments // *J Pharm Pharmacol*. -2008. -Vol. 60(1). -P. 63-70.
56. Merchant H.A., McConnell E.L., Liu F., Ramaswamy C., Kulkarni R.P., Basit A.W., Murdan S. Assessment of gastrointestinal pH, fluid and lymphoid tissue in the guinea pig, rabbit and pig, and implications for their use in drug development // *Eur J Pharm Sci*. -2011. -Vol. 18, №42(1-2). -P. 3-10.
57. Navia J.M., Narkates A.J. Dental research. In: *The Laboratory Rat*, Volume II, Research Applications. New York: Academic Press, Inc., 1980, pp. 59-74.
58. Reznik G., Reznik-Schiiller H., Mohr U. *Clinical Anatomy of the European Hamster: Cricetus cricetus*, L. U.S. Government Printing Office Washington. 1978, 247 ps
59. Riviere J.E. in: *Comparative Pharmacokinetics: Principles, Techniques and Applications*, Iowa State University Press, Ames, IA, 1999, p. 101.
60. Snyder W.S., Cook M.J., Nasset E.S. et al. (Eds.), 1975. *Report of the Task Group on Reference Man*. Pergamon, New York.
61. Stehbens W.E. An appraisal of cholesterol feeding in experimental atherogenesis// *Prog Cardiovasc Dis*. -1986. -Vol. 29(2). -P. 107-128.
62. Stevens C.E., Humes I.D., in: *Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System*, Cambridge University Press Cambridge, 1995
63. Swenson M.J., Reece W.O., 1993. *Dukes' Physiology of Domestic Animals*, 11th Edition. Cornell University, New York.
64. Thacker E.J., Brandt C.S. Coprophagy in the Rabbit// *J. Nutr*. -1955. -Vol. 55, № 3. -P. 375-385.
65. Thomas J.N., Kelley M.J., Story J.A. Alteration of regression of cholesterol accumulation in rats by dietary pectin// *Br J Nutrition*. -1984. -Vol. 51. -P. 339-345.
66. Tsao M.S., Smith J.D., Nelson K.G., Gresham J.W. A diploid epithelial cell line from normal adult rat liver with phenotypic properties of 'oval' cells // *Exp Cell Res*. — 1984. -Vol. 154(1). -P. 38-52.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЙ

Шекунова Е.В.^{1,2} – к.б.н, Кашкин В.А.^{2,3} – к.м.н.,
Макарова М.Н.¹ – д.м.н., Макаров В.Г.¹ – д.м.н.

¹ - Санкт-Петербургский институт фармации; ² – Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; ³ – Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, РАН.



РЕФЕРАТ

Когнитивные функции или методы познания, в широком смысле, включают в себя процессы восприятия, обучения и памяти, то есть, все способы, при помощи которых воспринимается информация о мире с помощью органов чувств, а также процесс обработки этой информации, ее удержание в памяти и процесс принятия решения. Когнитивные функции являются результатом сложных

взаимодействий различных нейромедиаторных систем и, таким образом, не могут быть всесторонне изучены с помощью относительно простых моделей *in vitro*. Модели когнитивных нарушений на экспериментальных животных являются критически важными для определения нейрональных основ обучения, памяти и внимания, а также для изучения эффективности потенциальных лекарственных препаратов. При моделировании когнитивных нарушений чаще всего используют млекопитающих, например, обезьяны, крысы и мышей. Однако разрабатываются новые, дополнительные модели с использованием других классов животных, например, рыб (*Danio rerio*), насекомых (*Drosophila*) и плоских червей, которые могут играть важную роль, как в скрининге потенциальных токсических или терапевтических соединений, так и определения нейромолекулярных механизмов, лежащих в основе когнитивной функции.

Ключевые слова: когнитивные нарушения, ноотропные препараты, экспериментальные модели.

ВВЕДЕНИЕ

Когнитивные функции или методы познания, в широком смысле, включают в себя процессы восприятия, обучения и памяти, то есть, все способы, при помощи которых воспринимается информация о мире с помощью органов чувств, а также процесс обработки этой информации, ее удержание в памяти и процесс принятия решения. Когнитивные функции реализуются в результате сложных взаимодействий различных нейромедиаторных систем, поэтому для изучения базовых нейрофизиологических механизмов, опосредующих когнитивные функции, в эксперименте используются самые разнообразные подходы, моделирующие отдельные составляющие процесса.

Для изучения механизмов обучения, памяти и внимания, а также для исследования эффективности потенциальных лекарственных препаратов критически важным является корректный выбор экспериментальных моделей. Ни один из существующих на сегодняшний день методических подходов при изолированном применении, не может дать исчерпывающий ответ об эффективности того или

средующих когнитивные функции, в эксперименте используются самые разнообразные подходы, моделирующие отдельные составляющие процесса.

инного препарата. Именно поэтому при исследовании специфической фармакологической активности веществ, потенциально обладающих влиянием на когнитивные функции мозга, целесообразно при разработке дизайна эксперимента использовать несколько методик, с тем, чтобы по возможности максимально полно изучить спектр фармакологической активности исследуемого препарата.

Методология изучения когнитивных функций в эксперименте

В эксперименте изучение когнитивных функций может проводиться как на здоровых, интактных животных, так и на животных с модельной патологией. Первый подход – изучение когнитивных функций на здоровых животных - используется для изучения эффективности новых соединений. В частности, так может быть оценена эффективность ноотропных препаратов, которые обладают способностью улучшать процессы обучения и памяти, когнитивные, интеллектуальные функции, как у здоровых лиц, так и у людей, страдающих различными заболеваниями нервной системы.

Обычно эксперимент строится таким образом, чтобы в ходе процесса повышалась сложность выполняемой задачи. Именно влияние на успешность решения усложненной задачи является мерой эффективности исследуемого препарата. Например, тест, который оценивает зрительное внимание, может быть усложнен путем присоединения трудно заметных или отвлекающих стимулов. В тестах, оценивающих рабочую память, степень сложности может быть увеличена путем добавления предметов или условий, которые необходимо запомнить или путем увеличения временного интервала между стимулом и реакцией.

Однако в случае изучения эффективности ноотропных препаратов на здоровых животных, механизмы, вовлекаемые в развитие нарушений, не затрагиваются.

Допускается, что когнитивные функции могут опосредоваться, в целом, сходным образом, как у здоровых, так и у людей, страдающих психическими заболеваниями. Однако важно отметить, когда изучаются когнитивные функции, как резкое их усиление, так и снижение может рассматриваться как патология. Так, например, чрезмерно сконцентрированное внимание может быть причиной отвлекаемости у шизофреников, тогда как изменения в противоположную сторону характеризуют нарушения, наблюдаемые при болезни Альцгеймера. Это как раз может объяснять наблюдаемую в эксперименте обратную U-образную зависимость кривой «доза-эффект» многих ноотропных препаратов. Поэтому лечение, которое может быть полезно для людей, страдающих психическими нарушениями, может не иметь эффекта или, наоборот, отрицательно воздействовать на здоровых людей. Альтернативным подходом к изучению когнитивных функций на здоровых животных является изучение эффективности препаратов на животных с модельной патологией. В этом случае используются изначально здоровые животные, на которых моделируется определенная патология. Воспроизводятся отдельные симптомы заболеваний, которые, в конечном счете, ведут к развитию когнитивного дефицита. В данном случае высок риск получения ложно негативных результатов, так как манипуляции, которые ведут к формированию патологии, не воспроизводят всецело патогенез заболевания. Поэтому терапевтический эффект может реализоваться не через те механизмы, которые действительно вовлечены в патогенез изучаемого заболевания. Очевидно, что препарат, который улучшает когнитивные функции в норме, может и не быть эффективным при патологии, поскольку при патологии препарат не будет влиять на субстрат, вовлеченный в ее формирование. Например, если агонист

какого-то гипотетического рецептора улучшает память в норме, то при патологии, в основе которой лежит нарушение функционирования данного рецептора, препарат не подействует, так как мишень его действия будет отсутствовать [1].

К сожалению, существующие экспериментальные модели не могут в полной мере отразить весь спектр когнитивных функций человека. Это относится и к моделям, которые воспроизводят дефицит когнитивной функции, и к моделям, в которых поведение интерпретируется в терминах обучения и памяти. Поэтому для изучения эффективности новых лекарственных кандидатов используется довольно широкий арсенал методологических подходов, поскольку ни одна методика, будучи использована в единственном варианте, не может в полной мере претендовать на получение исчерпывающей информации о возможной эффективности изучаемого препарата.

На сегодняшний день разработано довольно много моделей, воспроизводящих когнитивный дефицит. Все эти модели можно условно разделить на пять групп [2]:

1. фармакологические модели;
2. модели, в основе которых лежит локальное разрушение структур мозга или диссоциация связей между структурами, в том числе и с помощью химических агентов;
3. генетические модели;
4. модели, в которых причиной когнитивного дефицита являются нейродегенеративные нарушения, обусловленные естественным старением организма;
5. модели, в которых когнитивный дефицит является сопутствующим симптомом другого заболевания.

Поскольку все эти модели воспроизводят лишь часть симптоматики, наблюдаемую в клинике, не удивительно, что все экспериментальные модели имеют ограничения в плане тестирования новых ле-

карственных кандидатов.

1. Фармакологические модели

Фармакологические модели являются наиболее часто используемыми моделями когнитивной дисфункции, и особенно ценны для определения того, какие именно нейромедиаторные системы участвуют в реализации определенных аспектов когнитивных функций, таких как обучение, память и внимание. Фармакологические модели также являются ключевыми для тестирования препаратов, потенциально улучшающих когнитивную функцию, как в норме, так и при лечении когнитивных нарушений при болезни Альцгеймера, при синдроме дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ), болезни Паркинсона и шизофрении.

Основную роль в реализации когнитивных функций играет ацетилхолиновая система (мускариновые и никотиновые холинергические рецепторы). Важность холинергической активности в головном мозге в процессах обучения и памяти была признана более чем 30 лет назад, когда было обнаружено, что относительно низкие дозы антагонистов мускариновых ацетилхолин-рецептора (например, алкалоиды белладонны - атропин и скополамин) вызывали проходящий когнитивный дефицит у молодых добровольцев, который напоминал клиническую картину, наблюдаемую у пожилых людей [1].

Последующие клинические исследования показали, что антимукарбиновые препараты могут нарушать внимание, усвоение новой информации и консолидацию памяти [1]. В более поздних исследованиях было выявлено, что скополамин изменяет определенные характеристики электроэнцефалограммы у человека (например, дельта, тета, альфа и бета-активности), которые имитируют некоторые из наблюдаемых изменений у пациентов с болезнью Альцгеймера. В настоящее время среди фармакологических моделей когнитивных нарушений широко приме-

няется скополаминовая модель. Введение скополамина экспериментальным животным, в определенных дозах, ведет к нарушению процессов обучения и памяти [3]. Исследуемый препарат, в случае, если он обладает свойствами улучшать когнитивные функции, предотвращает эти нарушения.

Данные, полученные за последние три десятка лет, показали, что возбуждающая, глутаматергическая система, также вовлечена в процессы обучения и памяти, в основном, посредством модуляции активности NMDA (N-метил-D-аспартат) рецепторов. Процессы синаптической пластичности в целом, и обучение, и память в частности, во многом базируются на механизмах, в которых NMDA-рецепторный комплекс играет ключевую роль. Очевидно, что антагонисты NMDA-рецепторов должны нарушать память и ухудшать обучение. Действительно, введение таких веществ как дезоцилпин (МК-801), фенциклидин или кетамин, негативно сказывается на памяти и обучении (например, долговременная потенциация в гиппокампе, пространственное обучение в водном лабиринте Морриса). Имеются данные о способности блокаторов NMDA-рецепторов ухудшать выработку стереотипов поведения, основанных на пространственной и временной памяти, и замедлять выработку классических условно-рефлекторных реакций. Интересно, что в умеренных дозах, нарушающих выработку, антагонисты NMDA-рецепторов не ухудшают воспроизведение уже выработанных реакций. Такие данные были получены на моделях пространственной памяти в водном лабиринте, усиления стартл-реакции, обусловленного аверсивной стимуляцией, а также для электрофизиологического коррелята обучения и памяти — долговременной потенциации [1].

Воздействие на NMDA-рецепторы глутаматергической системы дезоцилпи-

ном или фенциклидином рассматривается как один из подходов, моделирующих отдельные симптомы шизофрении [4,5].

Моделирование синдрома когнитивных нарушений также можно воспроизвести у экспериментальных животных посредством введения веществ, обладающих наркотическим потенциалом. Одним из примеров может служить применение этанола, после введения, которого развиваются разнообразные нарушения когнитивной функции.

Много информации о возможных путях фармакологического воздействия было получено из исследований, проводимых в сфере нейроповеденческой токсикологии. Например, моделирование когнитивного дефицита после воздействия свинца или ртути достаточно хорошо воспроизводится у обезьян и грызунов [1].

В целом, результаты многочисленных экспериментальных исследований ясно показывают, что для реализации когнитивных процессов в полной мере, необходимо нормальное функционирование не только практически всех нейромедиаторных систем, но также и систем внутриклеточного сигналинга, гормонов. Поэтому спектр фармакологических воздействий, приводящих к когнитивным нарушениям широк, и арсенал подобных веществ постоянно расширяется.

2. Локальное разрушение структур мозга

Моделирование нейротравмы у животных вызывает когнитивные нарушения, которые достаточно схожи с нарушениями после перенесенной травмы у человека. Данный методологический подход имеет неоспоримую ценность в плане изучения конкретных нейрональных субстратов, которые лежат в основе формирования патологии или задействованы в реализации когнитивных функций.

Экспериментальные подходы могут включать в себя воздействие давлением жидкости на твердую мозговую оболочку

(*fluid percussion model of brain injury*), травма может быть нанесена механически (*weight-drop injury models*). Все эти манипуляции ведут к формированию когнитивного дефицита, выражающегося в снижении обучения и памяти. В первом случае модель воспроизводима на различных видах лабораторных животных, в том числе собаках, кошках, кроликах, овцах, свиньях, второй подход используется, в основном, на грызунах.

К данной группе моделей можно отнести и экспериментальные модели клинических форм ишемии, результатом которых является снижение функционирования отдельных областей мозга.

При формировании морфологических повреждений структур мозга также используют химические агенты, которые вводят в определенные структуры мозга, тем самым достигая полного или частичного разрушения нейрональных связей. Так, например, одним из подходов, позволяющих моделировать ряд симптомов, наблюдаемых при шизофрении, является метод, при котором на 7-й день после рождения у крысят в область вентрального гиппокампа (что соответствует области переднего гиппокампа у человека) вводят нейротоксин – иботеновую кислоту. Поведенческие аномалии возникают после полового созревания и включают в себя социальный дефицит, увеличение агрессивности, нарушения пространственного обучения и памяти, увеличенный локомоторный ответ на стрессовый стимул, увеличенную чувствительность к агонистам дофаминовых рецепторов и др. [6].

3. Генетические модели

В данную группу могут быть отнесены подходы, в которых используют линейных животных, например, спонтанно гипертензивных крыс, как модельных животных в экспериментах по изучению нарушения внимания. Однако особенно большое внимание уделяется получению различных трансгенных животных с це-

лью моделирования различных аспектов патологий нервной системы. В экспериментах используют мышей со спонтанными мутациями по определенным генам, или такие мутации вызывают химическими агентами.

Так, например, в числе первых генов, вовлеченных в развитие шизофрении, был выявлен ген *DISC1* (*disrupted-in-schizophrenia 1*). *DISC1* - это синаптический белок, который экспрессируется на этапе раннего развития и играет ключевую роль в пре- и постнатальном развитии нервной системы. Ряд исследований показал связь между функциональной активностью этого гена и развитием шизофрении. Были получены трансгенные мыши, нокаутные по данному гену, которые широко используются для изучения механизмов развития психических заболеваний [7].

Идентификация Аβ белка как основного компонента амилоидных бляшек, формирующихся при болезни Альцгеймера, и последующие работы, которые показали, что мутации, которые встречаются по гену прекурсора белка амилоида (*the amyloid precursor protein (APP)*) могут быть вовлечены в патогенез этого заболевания, интенсифицировали процесс создания соответствующих трансгенных APP мышей. В 1995 году после ряда неудачных попыток, были получены мыши, у которых происходит отложение амилоида по типу, сходному с наблюдаемым при болезни Альцгеймера [8].

Однако, несмотря на несомненную ценность, которую представляют данные модели, они, как и все другие, позволяют воспроизводить лишь отдельные аспекты нормы и патологии когнитивной функции.

4. Старение

Исследования старения, особенно у долгоживущих видов животных, таких как обезьяны, воспроизводят клинические признаки когнитивных нарушений, вы-

званные процессом старения, и служат прекрасной основой для разработки новых методов лечения и новых лекарств. Большой опыт работы с приматами показывает, что с возрастом у обезьян, как и у людей, происходит снижение когнитивных функций. [9]. Изучение механизмов этого процесса именно на обезьянах, в отличие, например, от грызунов, имеет неоспоримое преимущество именно в плане возможности трансляции полученных данных в клинику.

Однако, учитывая достаточно большую продолжительность жизни приматов, эти исследования являются весьма дорогими с экономической точки зрения и могут быть выполнены лишь в ограниченном количестве лабораторий. Именно поэтому исследования механизмов старения широко проводятся и на других видах животных, в основном, на грызунах. Одним из таких подходов, который также может быть отнесен к данной группе, является изучение когнитивного дефицита, вызванного связанным со старением снижением уровня половых гормонов [10].

5. Модели когнитивного дефицита, вызванного соматическим заболеванием

Давно известно, что такие заболевания как диабет, могут стать причиной развития когнитивного дефицита [11,12]. В эксперименте показано, что у животных при индукции экспериментального сахарного диабета, например введением стрептозотоцина, наблюдается когнитивный дефицит, при котором страдают такие функции как обучение и память [13].

На кроликах разработана модель развития атеросклероза, на фоне которого развиваются когнитивные нарушения [14]. Для этого кролики содержатся на диете с высоким содержанием холестерина. Иммуногистохимически показано, что подобная диета вызывает нейрональный апоптоз в гиппокампе, что может стать причиной когнитивных нарушений.

Таким образом, существует довольно разнообразный спектр моделей, позволяющих воспроизводить когнитивный дефицит. Однако в отличие от клинической ситуации, где мерой эффективности препарата может быть оценка «стало ли пациенту лучше или хуже», – в экспериментальных исследованиях такой подход невозможен. Какой бы методологический подход не был выбран для моделирования нарушений, необходимо выбрать систему оценочных тестов, с помощью которых будет проведен анализ эффективности препарата.

Когнитивные тесты

При оценке эффективности препаратов успешность проведенного исследования во многом зависит от выбора подходящего метода тестирования. При выборе метода необходимо максимально приблизиться к соответствию между экспериментальным подходом и планируемыми показаниями к клиническому применению препарата. В идеале, моделирование когнитивных нарушений у животных может обеспечить прогнозирование конкретных состояний, для которых соединения будут наиболее полезны. Существует ряд подходов, при которых полученные результаты имеют высокое соответствие с клиническими данными. Например, один из таких подходов это изучение наиболее примитивных или элементарных процессов, лежащих в основе реализации когнитивных функций, которые можно измерить как у животных, так и у человека. Примером может стать регистрация вызванных предьявлением слуховых стимулов потенциалов, регистрируемых с помощью электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Мигательный рефлекс представляет собой другой пример реакции, которая легко воспроизводится, и у животных, и у человека. Интересно, что нарушения обусловливания мигательного рефлекса наблюдается и при болезни Альцгеймера, что говорит о це-

лесообразности использования данного метода для изучения когнитивных функций и эффективности прокогнитивных препаратов.

Но, как уже отмечалось, многие когнитивные функции уникальны для человека и не могут быть воспроизведены в полной мере на животных. Поэтому выбор определенного набора тестов при изучении эффективности новых веществ является самой сложной задачей при доклиническом исследовании. Поскольку спектр применения, например, ноотропных средств очень широк (сенильная деменция, в том числе болезнь Альцгеймера, острые и хронические нарушения мозгового кровообращения, острое и хроническое утомление, синдром хронической усталости, стресс, болевые синдромы, астено-депрессивный и тревожно-депрессивный синдромы, невротические расстройства, вегето-сосудистая дистония и др.), выбор экспериментальных моделей для изучения специфической фармакологической активности препаратов также должен быть достаточно полным для подтверждения их активности.

На данный момент времени существует множество тестов и их модификаций, позволяющих изучать различные виды памяти и обучение.

Модели для изучения пространственной памяти и обучения

Самыми распространенными тестами, которые позволяют оценить нарушение пространственной памяти, например, в результате обширного ишемического инсульта, является водный лабиринт Морриса [15] и восьми-лучевой (радиальный) лабиринт.

В случае с водным лабиринтом, для демонстрации наличия улучшающего обучения эффекта тестируемого вещества, применяется протокол без предварительного ознакомления, ведущий к исходно низкому уровню обучаемости. Режим с предварительным ознакомлением при-

меняется, когда в задачу исследования входит выявление роли той или иной медиаторной системы (в частности холинергической) в реализации эффекта изучаемого вещества. При проведении теста в многолучевом лабиринте оценивается спонтанное исследовательское поведение и эффективность «стратегии патрулирования» у грызунов.

При помощи данных тестов можно оценить способность к обучению, а также способность сохранять приобретенную информацию в течение определенного времени. Существенным плюсом данных методик является автоматизированный сбор данных. Однако, такой фактор, как высокая стрессуемость животных при помещении в воду, может негативно влиять на результаты.

Модели для изучения ассоциативного обучения и памяти

Наиболее распространенными тестами по оценке ассоциативного обучения являются методы выработки условного рефлекса активного избегания (УРАИ) (*Active avoidance*) и условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) (*Passive avoidance*).

Суть метода УРАИ состоит в том, что животное, помещенное в челночную камеру, состоящую из двух разделенных перегородкой с дверцей отделений, имеющих электрифицированный пол, должно обучиться реагировать на условный стимул (свет, звук), предъявление которого ассоциируется с электроболевым раздражением, подаваемым через электродный пол поочередно то в одном, то в другом отделении. Чтобы не получить болевое раздражение, животное должно обучиться перебежать в другой отсек камеры во время действия условного сигнала (условный рефлекс). Например, ноотропные препараты ускоряют выработку условного рефлекса активного избегания.

Выработка УРПИ может проходить по следующей схеме: помещенное в освещен-

щенный отсек животное довольно быстро переходит через дверь в затемненный отсек (норковый рефлекс грызунов) и затем получает там электрокожное раздражение через электродный пол. Электроболевое раздражение наносится либо в течение определенного времени, для чего дверца закрывается заслонкой, либо до тех пор, пока животное не возвратится в освещенный отсек через оставшуюся открытой дверцу. В том и другом случаях животное должно обучиться не заходить в темную камеру, где оно получило болевое раздражение, и пассивно избегать неприятную ситуацию, находясь в светлом отсеке. Основными преимуществами теста УРПИ является быстрота выработки рефлекса (обучение с одной пробы) и возможность дифференцированно воздействовать на различные фазы памяти. Для получения данных о влиянии вещества на различные фазы памяти, например, на процесс ввода и первоначальной обработки информации, вещество вводится непосредственно перед процедурой обучения, а проверка эффективности обучения осуществляется через 24 ч. Для получения данных о влиянии вещества на процесс консолидации, вещество вводится непосредственно после процедуры обучения, а проверка также осуществляется через 24 ч. Для получения данных о влиянии вещества на процесс извлечения информации (долговременная память) вещество вводится перед воспроизведением рефлекса (через 24 ч после обучения). Тесты для оценки процессов запоминания также проводят на фоне амнезии, вызванной максимальным электросудорожным шоком или введением скополамина. Ноотропный эффект выражается в устранении амнезирующего действия электрошока или скополамина.

Как и в предыдущих тестах, сбор данных осуществляется автоматически. Но также существуют и минусы у данных тестов, которые заключаются в высокой

стрессуемости экспериментальных животных в ходе проведения тестирования.

Модели для тестирования рабочей памяти

При тестировании функций рабочей памяти может быть использован метод распознавания новых объектов (*Novel Object Preference, NOP*). Один из возможных протоколов заключается в следующем. Эксперимент разбивается на 3 фазы. Первая фаза - тренировка. В течение 3-х дней по 15 минут крысе предоставляют два одинаковых объекта, например, деревянных цилиндра. Затем, через 1 день животному предоставляют «старый» объект (цилиндр) и новый (например, куб). Животные будут тратить больше времени, исследуя новый стимул (предмет), чем стимулы (предметы), которые ранее были ими уже исследованы.

В 1950 году Берлайн (*Berlyne*) [16] показал, что новый стимул (новый объект для исследования) для животного приводит к сенсомоторному ответу, который можно назвать «любопытством», и, если предъявление нового стимула продолжается во времени, то «любопытство» животного уменьшается. Поэтому крысы будут тратить больше времени, исследуя новый стимул (предмет), чем стимулы (предметы), которые ранее уже ими были исследованы и, соответственно, экспериментальные животные будут тратить меньше времени, исследуя предмет при повторном предъявлении [17].

Как и в любом другом случае, данный метод имеет свои плюсы и минусы. К плюсам следует отнести возможность много раз повторять сессии, меняя объекты; возможность делать пре- и пост-тестирование. К минусам относятся большая зависимость от окружающего пространства и среды, вариабельность между поведенческими лабораториями, влияние на результаты самого исследователя, и типа предоставляемых объектов.

Выбор вида лабораторных живот-

ных

При моделировании когнитивных нарушений и изучении эффективности новых препаратов чаще всего используют млекопитающих, например, обезьян, крыс и мышей. Однако разрабатываются новые, дополнительные модели с использованием других классов животных, например, рыб (*Danio rerio*), насекомых (*Drosophila*) и плоских червей. Эти экспериментальные модели могут играть важную роль, как в скрининге новых лекарственных препаратов, так и в определении нейромолекулярных механизмов, лежащих в основе когнитивных функций.

Изучение когнитивных функций на грызунах

Без сомнения, грызуны, вид лабораторных животных наиболее часто используемых как для изучения механизмов, лежащих в реализации когнитивных функций, так и для изучения фармакологической активности новых препаратов.

Несомненно, в использовании грызунов есть ряд преимуществ: относительная дешевизна экспериментов, наличие большого количества высокотехнологичного оборудования, позволяющего осуществлять различные манипуляции, разработанные и валидированные протоколы. Также с появлением генетических моделей (трансгенные мыши и крысы) спектр возможностей для использования данного вида животных в эксперименте расширился. В качестве ограничений, необходимо отметить то, что ни одна из существующих моделей не может воспроизвести в полной мере клиническую ситуацию, а для моделирования патологии необходим набор методик, позволяющих оценить влияние препарата на различные когнитивные проявления (память, обучение, внимание и т.д.).

Изучение когнитивных функций на приматах

Различные виды приматов являются наиболее ценным объектом исследования

в биомедицине с точки зрения переноса полученных данных в клинику. Особенно интерес к этим животным возрос, когда были получены первые трансгенные животные [18]. Различные виды обезьян используются для изучения нейромедиаторных механизмов, опосредующих когнитивные функции, для изучения эффективности препаратов [19,20]. Изучение поведения различных видов макак, в особенности *Macaca mulatta* (резус), играет огромную роль в понимании анатомических и молекулярных субстратов, опосредующих когнитивные функции. Многие невербальные когнитивные клинические тесты адаптированы для применения у приматов. Множество оперантных методик, с помощью которых могут быть изучены память и внимание, применимы к этим животным.

Изучение когнитивных функций на кроликах

В плане исследования когнитивных функций использование кроликов имеет свои преимущества, например, перед грызунами, в тех исследованиях, где целью является изучение структур мозга, которые опосредуют те или иные процессы, а также изучение молекулярных основ реализации когнитивных функций.

Также кролики успешно используются в экспериментах, в которых когнитивный дефицит формируется в результате различных патологий, как например, на фоне развития атеросклероза, и выраженного в развитии нейронального апоптоза в гиппокампе [14].

Содержание кроликов на высокохолестериновой диете или на диете, включающей следовые количества меди, ведет к развитию нейропатологических нарушений, характерных для болезни Альцгеймера. Эти нарушения на поведенческом уровне выражаются в нарушении обусловливания мигательного рефлекса, что наблюдается и в клинике у больных этих заболеванием. При гистопатологическом

исследовании у кроликов обнаруживаются значительные потери нейронов во фронтальной коре, гиппокапе, мозжечке. Это может свидетельствовать о целесообразности использования данных моделей для изучения механизмов развития и стратегий лечения болезни Альцгеймера и других психопатологических состояний [21]. Различные хирургические манипуляции, конечным итогом которых является нарушение кровоснабжения определенных отделов мозга (например, в результате ишемии сосудов) так же широко используют для индукции когнитивного дефицита [22].

Изучение когнитивных функций на рыбах

Все более востребованными становятся экспериментальные исследования в области нейробиологии, проведенные на рыбах. За последнее десятилетие аквариумные рыбки *Danio rerio (zebrafish)* стали довольно распространенным объектом изучения в поведенческой фармакологии. Использование этого вида животных как бы заполняет пробел между исследованиями *in vitro* и *in vivo*. К тому же неоспоримы экономические преимущества использования этого вида животных, по сравнению, с грызунами, не говоря уже о более высокоорганизованных лабораторных животных. Все это привело к разработке протоколов исследований, позволяющих изучать, как когнитивные функции на этом объекте, так и эффекты препаратов, влияющих на функционирование нервной системы. [23, 24].

Многие экспериментальные подходы, разработанные на грызунах, были адаптированы для рыб (*zebrafish*): тесты, измеряющие локомоторную активность, тревожное поведение, социальное поведение и др. При изучении когнитивных функций ряд тестов позволяет оценивать пространственную рабочую память. Все это делает этот объект ценным именно для скрининга психоактивных веществ [25].

Изучение когнитивных функций на мухах

В последнее время появились убедительные доказательства целесообразности использования беспозвоночных для оценки эффективности психотропных веществ. Например, *Drosophila melanogaster* успешно используется в качестве объекта изучения процессов обработки зрительной информации, двигательной активности. Данный объект является ценным для психофармакологии с точки зрения поведения различных генетических манипуляций. Нарушение в дофаминергической передаче у дрозофил, ведет к формированию нарушений поведения. Поэтому данная модель имеет высокий потенциал для изучения механизмов дофаминергической передачи *in vivo*. Достаточно обширный поведенческий репертуар, а также возможность генетических манипуляций, открывает перспективы для моделирования и изучения молекулярных механизмов неврологических нарушений [26,27].

Таким образом, тесты на грызунах, позволяющие изучать когнитивные функции, являются тестами первого выбора. Среди этих тестов часто используют водный лабиринт Морриса, который позволяет изучать пространственную память и обучение, условный рефлекс пассивного избегания. Хотя есть детали, которые необходимо иметь в виду. Так вещества, влияющие на болевую чувствительность, на уровень тревожности, вызывающие моторные нарушения могут влиять на регистрируемые параметры и воспроизводить прокогнитивный эффект, который таковым не является. Также показано, что, например, условный рефлекс пассивного избегания, не обладает предиктивной валидностью в полной мере: ряд новых субстанций, которые показали свою эффективность в этой методике, не имели клинического эффекта при дальнейшем изучении [28]. Поэтому при проведении

доклинического исследования препаратов, потенциально обладающих ноотропной активностью, необходимо использовать взаимно дополняющие методологические подходы. При этом при грамотном планировании исследования даже использование только грызунов может дать достаточно полную информацию о предполагаемой клинической эффективности препарата.

Modeling of cognitive impairment.

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

ABSTRACT

Cognitive function is an intellectual process which involves all aspects of perception, thinking, reasoning, and remembering. Cognitive functions are the result of complex interactions of a variety of neural systems and thus cannot be well studied by simple in vitro models. Animal models of cognitive impairment are critically important for determining the neural bases of learning, memory, and attention. A variety of models have used classic monkey, rat, and mouse models. Newer, nonmammalian complementary models with fish, flies, and flatworms are being developed. These will play an important role in both high-throughput screening of potential toxic or therapeutic compounds and in the determination of the neuromolecular bases of cognitive function.

Key words: cognitive impairment, nootropic drugs, experimental model

ЛИТЕРАТУРА

1. Animal Models of Cognitive Impairment. Frontiers in Neuroscience. Ed.: E. D. Levin and J. J. Buccafusco. NC Boca Raton (FL): CRC Press / Taylor & Francis. 2006.
2. Kompotis K., Rutten B.P.F., Prickaerts J., Steinbusch H.W.M. Rodent models of cognitive disorders: impairment, aging and dementia // In: Vela JM, Maldonado R, Hamon M, editors / In vivo Models for Drug Discovery. Weinheim: Wiley VHC. 2014. p. 347–364.
3. Klinkenberg I., Blokland A. The validity of scopolamine as a pharmacological model

for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies // Neurosci Biobehav Rev. 2010. Vol.34. P.1307-1350.

4. Blot K., Bai J., Otani S. The effect of non-competitive NMDA receptor antagonist MK-801 on neuronal activity in rodent prefrontal cortex: an animal model for cognitive symptoms of schizophrenia // J Physiol Paris. 2013. Vol.107. P.448-451.

5. Levin E.D., Bushnell P.J., Rezvani A.H. Attention-modulating effects of cognitive enhancers // Pharmacol Biochem Behav. 2011. Vol.99. P.146-154.

6. Lipska B.K., Weinberger D.R. Delayed-effects of neonatal hippocampal damage on haloperidol-induced catalepsy and apomorphine-induced stereotypic behaviours in the rat // Brain Res Dev Brain Res. 1993. Vol.75. P.213–222.

7. Jaaro-Peled H. Gene models of schizophrenia: DISC1 mouse models // Prog Brain Res. 2009. Vol.179. P.75–86.

8. Games D., Adams D., Alessandrini R., Barbour R., Berthelette P., Blackwell C., Carr T., Clemens J., Donaldson T., Gillespie F. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein // Nature. 1995. Vol.373. P.523

9. Hara Y., Rapp P.R., Morrison J.H. Neuronal and morphological bases of cognitive decline in aged rhesus monkeys // Age (Dordr). 2012. Vol.34. P.1051-1073.

10. Chisholm N.C., Juraska J.M. Factors influencing the cognitive and neural effects of hormone treatment during aging in a rodent model // Brain Res. 2013. Vol.1514. P.40-49.

11. Stewart R., Liolitsa D. Type 2 diabetes mellitus, cognitive impairment and dementia // Diabet Med. 1999 Vol.16. P.93-112.

12. Gudala K., Bansal D., Schifano F., Bhansali A. Diabetes mellitus and risk of dementia: A meta-analysis of prospective observational studies // J Diabetes Investig. 2013. Vol.4. P.640–650.

13. Song X., Wang W., Kang Y., Zhang X.,

- Jiang Y., Yue Z., Tang Z. Tangzhining exhibits a protective effect against cognitive dysfunction in diabetic rats // *Int J Clin Exp Med*. 2015 Vol.8. P.9013-9021.
14. Reisi P., Dashti G.R., Shabrang M., Rashidi B. The effect of vitamin E on neuronal apoptosis in hippocampal dentate gyrus in rabbits fed with high-cholesterol diets // *Adv Biomed Res*. 2014 Vol.24. P.3:42.
15. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Methods*. 1984;11:47-60.
16. Berlyne D. E. Novelty and curiosity as determinants of exploratory behavior. *Br J Psychol*. 1950;42:68-80.
17. Hull C. L. *Principles of Behavior*. 1943. New York: Appleton-Century
18. Sasaki E. Prospects for genetically modified non-human primate models, including the common marmoset // *Neurosci Res*. 2015 Vol.93. P.110-115.
19. Mitchell J.F., Leopold D.A. The marmoset monkey as a model for visual neuroscience // *Neurosci Res*. 2015. Vol.93. P. 20-46.
20. Roelfsema P.R., Treue S. Basic neuroscience research with nonhuman primates: a small but indispensable component of biomedical research // *Neuron*. 2014. Vol. 82. P. 1200-1204.
21. Woodruff-Pak D.S., Agelan A., Del Valle L. A rabbit model of Alzheimer's disease: valid at neuropathological, cognitive, and therapeutic levels // *J Alzheimers Dis*. 2007. Vol.11. P.371-383.
22. Fu X.Y., Zhang Z.D., Liang K., Shi S.T., Wang G.Q., Zhang K.W., Li K., Li W.X., Li T.X., Zhai S.T. Subclavian steal syndrome decreases neurogenesis in the cerebellar cortex and affects cognitive function in rabbits // *Exp Ther Med*. 2015. Vol.10. P.1455-1459.
23. Bailey J.M., Oliveri A.N., Levin E.D. Pharmacological analyses of learning and memory in zebrafish (*Danio rerio*) // *Pharmacol Biochem Behav*. 2015. Vol.139. Pt B:103-111.
24. Oliveira R.F. Mind the fish: zebrafish as a model in cognitive social neuroscience // *Front Neural Circuits*. 2013. Vol. 8. P.7:131.
25. Neelkantan N., Mikhaylova A., Stewart A.M., Arnold R., Gjeloshi V., Kondaveeti D., Poudel M.K., Kalueff A.V. Perspectives on zebrafish models of hallucinogenic drugs and related psychotropic compounds // *ACS Chem Neurosci*. 2013. Vol.4. P.1137-1150.
26. Yamamoto S., Seto E.S. Dopamine dynamics and signaling in *Drosophila*: an overview of genes, drugs and behavioral paradigms // *Exp Anim*. 2014. Vol.63. P.107-119.
27. van der Voet M., Nijhof B., Oortveld M.A., Schenck A. *Drosophila* models of early onset cognitive disorders and their clinical applications // *Neurosci Biobehav Rev*. 2014. Vol.46. Pt 2:326-342.
28. *Encyclopedia of Psychopharmacology* Editors: I. P. Stolerman, L. H. Price. 2010. Berlin. Springer.



МВВ

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