



ISSN 2072-2419

№ 1

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

INTERNATIONAL BULLETIN
OF VETERINARY MEDICINE



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2017

www.spbgavm.ru



Лекарственное средство
при заболеваниях печени различной
этиологии у кошек и собак

ГЕПАСЕЙФ

Раствор для инъекций



В 1 мл в качестве действующих
веществ содержит
сylimарин 12 мг
и витамин Е (токоферол) 2 мг.

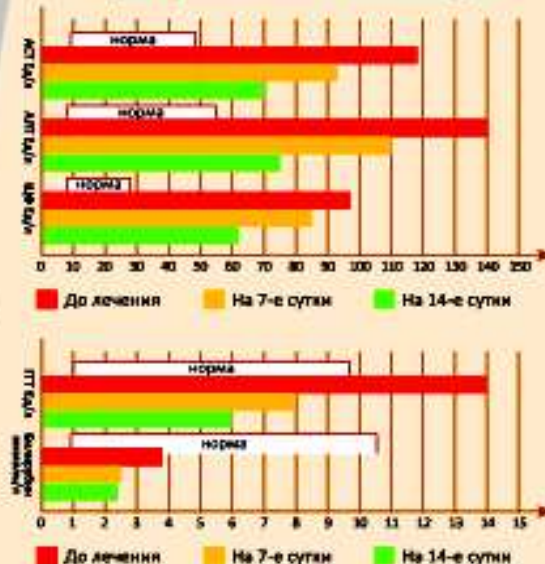


Гепасейф назначают собакам и кошкам для комплексного лечения и профилактики острых и хронических заболеваний печени различной этиологии при инфекционных, инвазионных заболеваниях и токсических повреждениях печени, при дистрофии и жировой инфильтрации печени, с целью коррекции нарушений липидного обмена, а также для снижения побочных эффектов при назначении гепатотоксических химиотерапевтических средств. Применяется внутримышечно и внутривенно кошкам и собакам, в дозе 0,1 мл на 1 кг массы тела.

Преимущества препарата:

- ▶ Препарат содержит в качестве действующих веществ **только натуральные компоненты;**
- ▶ Гепасейф **совместим** с лекарственными средствами, кормами и кормовыми добавками;
- ▶ Положительно влияет на восстановление повреждённых клеток печени.

Нормализация биохимических показателей крови у собак при применении «Гепасейфа»*



Доверьте нам заботу о здоровье ваших питомцев!

Номер регистрационного удостоверения: 77-3-21.13-1530М/ПВР-3-21.13/02941 от 11.09.2013г.
ООО «АВЗ С-П» Россия, 129329, Москва, Игарский проезд, дом 4, help@vetmag.ru
Телефон круглосуточной «горячей линии»: 8-800-700-19-93

www.vetmag.ru

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ 1.2017

Редакционный совет

А.А. Стекольников – гл. ред., академик.
РАН, д.в.н., проф., СПб

Л.Ю. Карпенко – зам. гл. ред. д.в.н.
проф., СПб

А.И. Ятусевич – зам. гл. ред. д.в.н.
проф., академик РАН, 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. РАН, д.в.н., проф.
Москва.

Н.В. Зеленевский, д.в.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. Племышов, д.в.н., проф., член-кор.
РАН, СПб.

Б.С. Семенов, д.в.н., проф., СПб.

А.М. Смирнов, акад. РАН, д.в.н., проф.,
Москва.

В.В. Сочнев, д.в.н., проф., Н.Новгород.

А.А. Сухинин, д.б.н., проф., СПб.

А.Н. Шиков, д.ф.н., проф., СПб.

Редакционно-технический отдел

Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.

Л.А. Лукоянова, к.в.н., СПб.

О.С. Глушкова, к.в.н., СПб.

Сдано в набор 27.03.2017

Подписано к печати 27.03.2017

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, Member of
the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Managing Editor

L.Y. Karpenko - professor, DVM, St.
Petersburg

A.I. Yatusевич - professor, DVM, Member of
the Russian Academy of Sciences, 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 Russian

Academy of Sciences, DVM, professor, Moscow

N.V. Zelenevski - professor, DVM, 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. Plemyshov - professor, DVM,
Corresponding Member of the Russian Academy
of Sciences, St. Petersburg

B.S. Semenov - professor, DVM, St. Petersburg

A.M. Smirnov - Academician of the Russian
Academy of Sciences, DVM, professor, Moscow

V.V. Sochnev - professor, DVM, N. Novgorod

A.A. Sukhinin - professor, DVM, St. Petersburg

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

Technical Department

N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg

L.A. Lukoyanova - PhD, St. Petersburg,

O.S. Glushkova - PhD, St. Petersburg

Sent to 27/03/2017

Signed for printing 27/03/2017

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: Скульптура сказочного доктора Айболита и его собаки Аввы. Серебристое сооружение выполнено из железобетона, его высота примерно 1 метр 70 см. Установлена около городской ветеринарной станции на улице Харьковской в городе Тюмень.

**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 образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (ФГОУ ВО «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 Education "Saint - Petersburg State Academy of Veterinary Medicine " (FSEIHPE " 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

Инфекционные болезни	• Диагностика инфекционного ринотрахеита и пастереллёза телят в агрохозяйствах. <i>Кудряшов А.А., Балабанова В.И., Беляева Е.В.</i>	7
Фармакология, токсикология, фармация	• Алгоритм оценки антигельминтиков на примере препаратов «эпримек», «ритрил» и «аверсект-2». <i>Логина О. А.</i>	13
	• Влияние Мастифита на биохимические показатели молока лактирующих коров. <i>Барышев В. А.</i>	18
	• Препарат на основе наночастиц серебра для лечения геморрагического цистита кошек. <i>Боляхина С.А., Насартдинова Г.Ф., Коптев В.Ю., Онищенко И.С.</i>	21
Зоогигиена, санитария, кормление	• Влияние клеточного состава молока на его способность к сквашиванию. <i>Скопичев В.Г., Дмитриева Н.С., Гунькова П.И., Бучилина А.С.</i>	26
Биохимия, анатомия, физиология	• Методика изучения артериального русла птиц. <i>Прусаков А.В., Щипакин М.В., Вирунен С.В., Бартенева Ю.Ю., Васильев Д.В.</i>	34
	• Изменения в гистологической картине костного мозга у кроликов при анемии. <i>Ковалев С. П., Овсянников А.Г., Киселенко П.С.</i>	37
	• Исследование нервных аппаратов сердца крыс различного возраста с помощью иммуногистохимических маркеров. <i>Чумасов Е.И., Алексеенко А.Л., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э.</i>	41
Хирургия	• Особенности хирургии катаракты у медведя (клинический случай). <i>Карпова Е.А., Шантурова М.А.</i>	47
Акушерство гинекология	• Консервативное лечение собак при дисгормональных гиперплазиях молочных желез. <i>Суховольский О.К.</i>	53
Экспериментальная фармакология	• Использование дегу как лабораторных животных. <i>Гайдай Е.А., Макарова М.Н.</i>	57
	• Зоотехнические характеристики содержания карликовых свиней в экспериментальных вивариях. <i>Рыбакова А.В., Макарова М.Н.</i>	66
	• Гистологические изменения в лимфатических узлах крыс при моделировании острого шейного лимфаденита. <i>Мушакян А.А., Ходько С.В., Гуцин Я.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	75
	• Внутрикожная инъекция бактерий <i>staphylococcus aureus</i> в скафонохальный угол ушной раковины как модель акне у лабораторных животных. <i>Крышень К.Л., Мушакян А.А., Алякринская А.А., Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	84
	• Оттоакустическая эмиссия как метод оценки функционального состояния слухового анализатора. <i>Журавский С.Г., Паневин А. А.</i>	92
	• Оценка фармакологических эффектов препарата Орозин на модели геморрагического инсульта. <i>Буренков П.В., Лютов А.Г., Ванатиев Г.В., Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	99

CONTENTS

Infectious diseases	• Diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis and pasteurellosis of calves on farms. <i>Kudriashov A.A., Balabanova V.I., E.V. Belyaeva E.V.</i>	7
Pharmacology, toxicology, pharmacy	• Estimation algorithm for anthelmintics on example of “eprimec”, “ritril” and “aversect-2”. <i>Loginova O.A.</i>	13
	• The influence of Mastifit on biochemical parameters of milk of lactating cows. <i>Barishev V.</i>	18
	• Preparation on the basis of nanochastits of silver for the treatment of hemorrhagic cystitis cats. <i>Bolyahina S.A., Nasartdinova G.F., Koptev V.Y., Onishenko I.S.</i>	21
Zoohygiene, Sanitation, Feeding	• The influence of milk cellular composition on its fermentation capacity. <i>Skopichev V.G., Dmitrieva N.S., Gunkova P.I., Buchillina A.S.</i>	26
Biochemistry, anatomy, physiology	• Technique of studying of the arterial course of birds. <i>Prusakov A.V., Shchipakin M.V., Virunen S.V., Barteneva Y.Y., Vasilev D.V.</i>	34
	• Changes in bone marrow histology in rabbits by anemia. <i>Kovaljev S.P., Ovsjannikov A.G., Kiselenko P.S.</i>	37
	• Study of the nervous apparatus of the heart of rats of different age by immunohistochemical markers. <i>Chumasov E.I., Alekseenko A.L., Petrova E.S., Korzhevsky D.E.</i>	41
Surgery	• Features cataract surgery a bear (case) <i>.Karpova E.A., Shanturova M.A.</i>	47
Obstetrics gynecology	• Conservative treatment of dogs at dishormonal hyperplasia of the mammary gland. <i>Sukhovolskiy O.K.</i>	53
Experimental pharmacology	• The laboratory animals: degu. <i>Gaidai E.A., Makarova M.N.</i>	57
	• Zootechnical characteristics of dwarf pigs in experimental vivarium. <i>Rybakova A.V., Makarova M.N.</i>	66
	• Histological changes in the lymph nodes of rats in modeling acute cervical lymphadenitis. <i>Muzhikyan A.A., Khodko S.V., Gushin Y.A., Makarova V.G.</i>	75
	• Intracoural injection of staphylococcus aureus bacteria in the scatfonconchal angle of the oven sink as a model of acne in laboratory animals. <i>Kryshen K.L, Muzhikyan A.A., Alyakrinskaya A.A., Kovaleva M.A., Makarova M.N., Makarov V.G.</i>	84
	• Otoacoustic emission: a method for assessment of the functional status of the auditory analyzer. <i>Zhuravskii S. G., Panevin A. A.</i>	92
	• Evaluation of the pharmacological effects of the drug on Orozin model of hemorrhagic stroke. <i>Bourenkov P.V., Liutov A.G., Vanatiev G.V., Kovaleva MA, Makarova M.N., Makarov V.G.</i>	99



ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК 616.9-091:636.1

ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА И ПАСТЕРЕЛЛЁЗА ТЕЛЯТ В АГРОХОЗЯЙСТВАХ

Кудряшов А.А. - д.в.н., зав. каф. патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины, Балабанова В.И. – доцент, каф. патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины, к.в.н., Беляева Е.В. - аспирант каф. патологической анатомии и судебной ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО «Санкт – Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Ключевые слова: телята, инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота, пастереллёз, диагностика, вскрытие, патологоанатомические изменения. **Key words:** calves, infectious bovine rhinotracheitis, pasteurellosis, diagnosis, autopsy, pathological changes



РЕФЕРАТ

Цель работы – провести диагностические исследование по инфекционному ринотрахеиту и пастереллёзу, показать характерные патологоанатомические изменения при этих болезнях. Объектом и материалом исследования были 22 телёнка из 3 крупных агрохозяйств (время проведения опыта 2015-2016 гг.), в их числе 12 голов с диагнозом инфекционный ринотрахеит и 10 голов с диагнозом пастереллёз. Патологоанатомическое исследование проводили по методу полной эвисцерации Г.В. Шора. При описании патологоанатомических изменений учитывали

Международную ветеринарную анатомическую номенклатуру.

Диагноз инфекционный ринотрахеит подтвердили в лицензированной лаборатории, серологическим исследованием с использованием диагностических тест-систем фирмы IDEXX, CIVTEST. В 94% проб выявили антитела к вирусу ИРТ крупного рогатого скота. поголовье ранее не было вакцинировано против ИРТ. В 1-ом хозяйстве провели вскрытие 12 телят в возрасте от 3-х недель до 3-х месяцев. Во 2-ом и 3-ем хозяйствах среди телят в возрасте 1-4 месяца произошли вспышки респираторного заболевания с высокой летальностью. Диагноз пастереллёз подтвердили бактериологическим исследованием. Определили типичные патологоанатомические изменения для каждой болезни. При вскрытии телят с инфекционным ринотрахеитом наиболее выраженные патологоанатомические изменения обнаружили в лёгких. Это лобулярная или лобарная катаральная бронхопневмония: воспалённые дольки и доли уплотнены, тёмно-красного или красного цвета, немного увеличены в объёме. Патологоанатомические изменения у всех животных, установленные в результате исследования, можно считать достоверными, имея их лабораторное подтверждение и соответствие литературным источникам. При каждой из описываемых болезней установлены определённые патологоанатомические изменения, позволяющие отличать болезни одну от других, что способствует совершенствованию дифференциальной диагностики.

ВВЕДЕНИЕ

Респираторные болезни крупного рогатого скота наносят большой ущерб сельскохозяйственному производству, сдерживают развитие отрасли, служат одной из причин снижения продуктивности и племенных качеств животных, высокого процента вынужденного убоя и падежа, больших затрат на лечение и профилактику. В отдельных хозяйствах России респираторные болезни крупного рогатого скота обуславливают заболеваемость поголовья вплоть до 80-100% [1].

Причиной респираторной патологии у крупного рогатого скота, согласно литературным источникам, в большинстве случаев являются инфекционные болезни: инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек, парагрипп - 3, пастереллёз, микоплазмоз, хламидиоз и другие [2,3]. В агрохозяйствах нашей страны нередко возникают трудности в оздоровлении поголовья и профилактике респираторных заболеваний, что во многом зависит от уровня качества диагностики, как важной части противоэпизоотических мероприятий [4]. В диагностическом комплексе важным, а во многих случаях и решающим звеном, бывает патологоанатомическое вскрытие. Оно позволяет выявить типичные для отдельных болезней анатомические изменения, получить объективные данные для их дифференцировки и нередко поставить окончательный диагноз, а при необходимости целенаправленно отобрать материал для дополнительных лабораторных исследований.

В 2015-2016 годах авторы провели вскрытие 22 телят в 3 агрохозяйствах, что, наряду с дополнительными лабораторными исследованиями, привело к диагностированию инфекционного ринотрахеита и пастереллёза. В данной статье освещены результаты этих исследований - материалы по инфекционному ринотрахеиту крупного рогатого скота (ИРТ) и пастереллёзу. Цель работы - ознакомить читателей с результатами диагностических исследований и, главное, показать

характерные патологоанатомические изменения при отдельных инфекционных респираторных болезнях в качестве подспорья в совершенствовании диагностики и дифференциальной диагностики болезни крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом и материалом исследования явились 22 телёнка из 3 крупных агрохозяйств, где авторы провели патологоанатомическое исследование совместно со специалистами хозяйств. Патологоанатомическое исследование проводили по методу полной эвисцерации Г.В. Шора [5]. При описании патологоанатомических изменений учитывали Международную ветеринарную анатомическую номенклатуру [6].

Ветеринарные специалисты 1-ого хозяйства перед нашими исследованиями располагали результатами серологического исследования десятков телят и коров на ИРТ. Серологические исследования проводили в лицензированной лаборатории методом ИФА с использованием диагностических тест-систем фирмы IDEXX, CIVTEST. В 94% проб выявили антитела к вирусу ИРТ крупного рогатого скота. Поголовье ранее не было вакцинировано против ИРТ. В 1-ом хозяйстве провели вскрытие 12 телят в возрасте от 3-х недель до 3-х месяцев.

Во 2-ом и 3-ем хозяйствах среди телят в возрасте 1-4 месяца произошли вспышки респираторного заболевания с высокой летальностью. Совместно со специалистами хозяйств подвергнуто вскрытию 4 телёнка во 2-ом и 6 телят в 3-ем хозяйствах. Патологоанатомические изменения, установленные у всех животных, дали основание предположить пастереллёз, как болезнь, приведшую к падежу. При вскрытии, согласно установленным патологоанатомическим изменениям, отобрали патологический материал (лёгкое и трахеобронхиальный лимфоузел) от 2-х телят из каждого хозяйства и направили на бактериологическое исследование.



Рис. 1. ИРТ. Катаральная бронхопневмония



Рис. 2. ИРТ. Пневмония. Слизистые пробки в бронхах

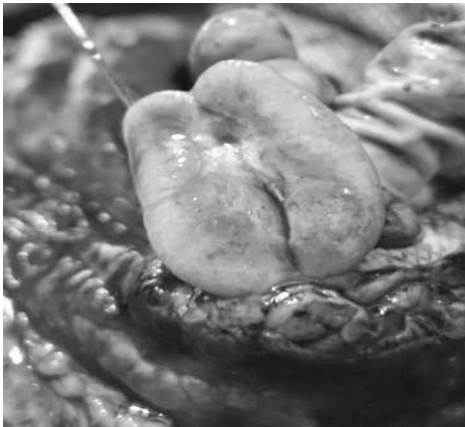


Рис. 3. ИРТ. Воспаление трахеобронхального лимфоузла



Рис. 4. ИРТ. Ларинготрахеит



Рис. 5. ИРТ. Гиперемия носового зеркала



Рис. 6. Пастереллёз. Фибринозная плевропневмония



Рис. 7. Пастереллёз. Мраморность лёгкого на разрезе



Рис. 8. Пастереллёз. Фибринозно-геморрагическая плевропневмония



Рис. 9. Пастереллёз. Кровоизлияния под эпикардом

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Инфекционный ринотрахеит

При вскрытии телят наиболее выраженные патологоанатомические изменения обнаружили в лёгких. У всех 12 животных – это лобулярная или ло-

барная катаральная бронхопневмония: воспалённые дольки и доли уплотнены, тёмно-красного или красного цвета, немного увеличены в объёме (рис. 1). У всех телят воспаление найдено в краиниальных и средних долях. С поверхности разреза воспалённого лёгкого из бронхов выделяется белая, мутная, вязкая жидкость (слизистый экссудат, «слизистые пробки») (рис. 2). У всех телят также установили воспаление трахеобронхиальных лимфоузлов (рис. 3), а у большинства телят к тому же и катаральный ларинготрахеит (рис. 4). Наряду с этим, у 3-х телят обнаружили гиперемию носового зеркала, так называемый «красный нос» (рис. 5). Установленные патологоанатомические изменения, с учётом результатов исследования сыворотки крови ИФА, дали основание диагностировать ИРТ. Результаты нашего исследования согласуются с материалами научных публикаций по этой болезни [7,8].

2. Пастереллёз

Подвергнуто вскрытию 10 телят: 4 телёнка во 2-ом и 6 телят в 3-ем хозяйствах. Патологоанатомические изменения, установленные у всех животных, дали основание предположить пастереллёз, как болезнь, приведшую к падежу. У 8 телят установлена двусторонняя лобарная фибринозная пневмония и фибринозный плеврит. При этом воспаление частично или полностью охватывало и краиниальные, и средние, и каудальные доли. Лёгкие в воспалённых участках уплотнены, «мраморные», окрашены в разные цвета: бело-красный, светло-красный, тёмно-красный (рис. 6), на плевре - тонкие плёнки фибрина. На разрезе видны «мраморность», отёк междольковых перегородок, мелкие «зёрна» фибрина в долях (рис. 7). У 2-х телят установлена фибринозно-геморрагическая пневмония и фибринозный плеврит (рис. 8). У большинства вскрытых телят найдены кровоизлияния под эпикардом (рис. 9). Подобные патологоанатомические изменения описаны и в научной литературе по пастереллёзу крупного рогатого скота [9,10]. В результате бактериологического

исследования предварительный патолого-анатомический диагноз пастереллёза был уточнён: из патологического материала от 4-х телят выделили бактерию *Pasteurella multocida*, патогенную для белых мышей.

Патологоанатомические изменения у всех животных, установленные в результате исследования, можно считать достоверными, имея их лабораторное подтверждение и соответствие литературным источникам. При каждой из описываемых болезней установлены определённые патологоанатомические изменения, позволяющие отличать болезни одну от других, что способствует совершенствованию дифференциальной диагностики.

ВЫВОДЫ

1. Для инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота у телят типичны лобулярная или лобарная катаральная бронхопневмония с локализацией воспаления в краниальных и средних долях и катаральный ларинготрахеит.
2. При пастереллёзе телят патогномична двусторонняя лобарная фибринозная и фибринозно-геморрагическая пневмония, фибринозный плеврит и кровоизлияния под эпикардом.
3. Результаты исследования применимы в диагностике и дифференциальной диагностике болезней крупного рогатого скота.

Diagnostics of infectious bovine rhinotracheitis and pasteurellosis of calves on farms.

Kudryashov, V. Balabanova, E. Belyaeva

ABSTRACT

This article deals with the results of diagnostic tests for infectious bovine rhinotracheitis and pasteurellosis of calves and shows characteristic pathological changes caused by these diseases. The object of the research and study material were presented by 22 calves (including 12 calves diagnosed with rhinotracheitis and 10 calves diagnosed with pasteurellosis) from 3 farms (research was conducted in 2015-2016). Postmortem examination was carried out using Shor's method of complete disembowelment. Standard International Veterinary Terminol-

ogy was taken into consideration in description of pathologic anatomical changes.

Diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis was confirmed in licensed laboratory by serological test using diagnostic systems IDEXX, CIVTEST. 94% of samples revealed antibodies to virus of infectious bovine rhinotracheitis (IBR). Livestock had not been previously vaccinated against IBR. On the first farm, 12 calves were opened at the age of 3 weeks – 3 months. On the second and third farms, there was an outbreak of highly fatal respiratory disease among calves of 1– 4 months. Diagnosis of pasteurellosis was confirmed by bacteriological study. Typical pathologic anatomical changes were determined for each disease. Postmortem examination of calves with infectious rhinotracheitis revealed the biggest pathological changes in the lungs. It was lobular or lobar catarrhal bronchopneumonia: lobules and lobes were dense, of dark-red or red color, slightly enlarged in size. Pathologic and anatomical changes found in all animals as the result of this research can be considered trustworthy as they are confirmed by laboratory tests and conform to the medicine literature. Pathological changes were specified for every of the abovementioned disease which enables to distinguish one disease from others and helps to further develop differential diagnostics.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петрова О.Г. «Распространение респираторных заболеваний у крупного рогатого скота и наносимый экономический ущерб». – «Аграрное образование и наука» № 1, 2015, изд.: Уральский государственный аграрный университет. – с. 10-13.
2. Глотов А.Г., Петрова О.Г., Глотова Т.И., Нефедченко А.В. «Эпизоотология ИРТ и ВД-БС крупного рогатого скота в регионе Сибири и Урала» // Болезни сельскохозяйственных животных вирусной и других этиологий и меры борьбы с ними: материала научно-практической конференции 6-7 сентября. - Иркутск: Сибирское отделение РАСХН, 2002, 21-22
3. Донник И. М., Петрова О. Г., Марковская С. А. Острые респираторные заболевания крупного рогатого скота и пробле-

- мы профилактики в современных условиях промышленного производства. Аграрный вестник Урала. - 2011, 10 (116), 25-27
4. Пудовкин Д.Н., Щепёткина С.В., Карпенко Л.Ю., Решко О.А. Болезни молодняка крупного рогатого скота. – СПб: ГК ЗДОРОВЬЕ ЖИВОТНЫХ, 2016, 182 с.
5. Кудряшов А.А. Патологоанатомическое вскрытие трупов животных. - Часть 2. Техника исследования отдельных органов. - Ветеринарная практика, 2005, 1 (28), 33-37
6. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура на латинском и русском языках. 5-я редакция: Справочник / Перевод и редакция проф. Н. В. Зеленевского. – СПб: Издательство «Лань», 2013
7. Caswell JL, Williams KJ. Infectious Bovine Rhinotracheitis / In Jubb K, Kennedy P, Palmer N. Pathology of Domestic Animals. – Fifth edition. – Vol. 2. - 2007. - Elsevier, Philadelphia, p. 594-596
8. Jones T, Hunt R, King N. Infectious Bovine Rhinotracheitis/ In Jones T, Hunt R, King N. Veterinary Pathology. – 6-th ed. – Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, 1997, p. 228-230
9. Caswell JL, Williams KJ. Bacterial bronchopneumonia due to Pasteurellaceae: Mannheimia haemolytica, Histophilus somni, Pasteurella multocida. / In Jubb K, Kennedy P, Palmer N. Pathology of Domestic Animals. – Fifth edition. – Vol. 2. - 2007. - Elsevier, Philadelphia, p. 601-606
10. Jones T, Hunt R, King N. Pasteurellosis. / In Jones T, Hunt R, King N. Veterinary Pathology. – 6-th ed. – Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, 1997, p. 458-460

ИНФОРМАЦИЯ

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятий при заразных и незаразных болезнях животных и птиц. Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

**Тел/факс (812) 365-69-35, Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49,
e-mail: 3656935@gmail.com**



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК 619:616.995.1:615.284

АЛГОРИТМ ОЦЕНКИ АНТИГЕЛЬМИНТИКОВ НА ПРИМЕРЕ ПРЕПАРАТОВ «ЭПРИМЕК», «РИТРИЛ» И «АВЕРСЕКТ-2»

О. А. Логинова, аспирант каф. паразитологии . ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Ключевые слова: Эпримек, Ритрил, Аверсект-2, гельминтозы, мелкий рогатый скот. **Key words:** Eprimec, Ritril, Aversect-2, helminthosis, small ruminants.



РЕФЕРАТ

Изучена терапевтическая эффективность антигельминтных препаратов «Эпримек», «Ритрил», «Аверсект-2» в условиях овцеводческого хозяйства Выборгского района Ленинградской области. Проанализированы следующие характеристики препаратов: широта спектра действия, объём рекомендуемой разовой дозы, стоимость препаратов за флакон объёмом 100 мл и в пересчёте на разовую дозу, формы выпуска и их влияние на стоимость и удобство хранения, ограничения на использование мяса и молока, условия и сроки хранения. Исследование проведено в 2016 году на овцах романовской породы в возрасте от 1 года до 6 лет. Предварительными клиническими осмотрами и гельминтологическими исследованиями установлено паразитирование у овец нематод: трихоцефал, стронгилоидесов и стронгилят пищеварительного тракта и лёгких. Для испытания каждого препарата были сформированы группы из 30 спонтанно заражённых животных по 10 голов в каждой: 1) подопытная группа со слабой степенью инвазированности; 2) подопытная группа со средней и высокой степенью инвазированности; 3) контрольная группа с различной степенью инвазированности (от низкой до высокой). Животным подопытных групп были введены препараты в соответствии с инструкцией. Животным контрольных групп был инъецирован физиологический раствор в той же дозе, что и испытываемый препарат. На протяжении 5 недель животных ежедневно осматривали клинически и каждые три дня отбирали пробы фекалий для лабораторного исследования методом флотационной овоскопии и путём культивирования личинок из яиц гельминтов по методу А. М. Петрова и В. Г. Гагарина. Установлено, что при низкой интенсивности инвазии достаточно однократного введения препарата «Эпримек», «Ритрил» или «Аверсект-2», а при средней или высокой интенсивности инвазии необходимо повторное введение антигельминтика через 10 дней после первичной инъекции. Сделан вывод о том, что при эквивалентной терапевтической эффективности препарат «Аверсект-2» в данном исследовании является оптимальным выбором.

ВВЕДЕНИЕ

Выбор оптимального антигельминтного препарата – сложная задача, решение которой обусловлено приоритетом той позиции, которую занимает ветеринарный специалист. Если ключевым является состояние здоровья конкретного животного (чаще всего это касается непродуктивных животных), то значение будут иметь такие критерии как высокая биодоступность, высокая терапевтическая эффективность, низкая токсичность, наименьшее число противопоказаний и удобство назначения [1, 2, 7]. Если подходить к вопросу с точки зрения социальной и экологической ответственности, то необходимо принимать во внимание скорость деградации антигельминтных препаратов, выведенных в окружающую среду с продуктами обмена животных, и их возможное патогенное влияние на сообщества копробионтов и иных организмов [6, 9]. Если же речь идёт об антгельминтике для поголовья продуктивных животных в животноводческом хозяйстве, то ветеринарный специалист обязан учитывать ещё и экономическую составляющую специфической фармакотерапии, которая складывается из ряда параметров, не всегда очевидных на первый взгляд.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование терапевтической эффективности антгельминтных препаратов «Эпримек» (производства компании «Ари-Сан», Россия), «Ритрил» («Nita-Farm», Россия) и «Аверсект-2» («PharmBioMed», Россия) было проведено на базе крестьянско-фермерского хозяйства в Выборгском районе Ленинградской области в 2016 году. Материалом послужили фекалии овец романовской породы в возрасте от 1 года до 6 лет, содержащихся в хозяйстве с целью получения мясной продукции. Овцы были трёхкратно осмотрены клинически, а полученные ректально фекалии были исследованы в лаборатории на базе кафедры паразитологии им. В. Л. Якимова ФГБОУ ВО «СПбГАВМ» методом флотационной овоскопии (с использованием флотационной жидкости, разработанной сотрудни-

ками кафедры; патент № 2472154 [3]) и путём культивирования личинок из яиц гельминтов по методу А. М. Петрова и В. Г. Гагарина [8]. На основании данных предварительного обследования было отобрано 90 животных, спонтанно заражённых нематодами (трихоцефалёзом, стронгилоидозом и стронгилятозами пищеварительного тракта и лёгких). Для испытания каждого препарата были сформированы группы из 30 животных: 1) подопытная группа из 10 овец со слабой степенью инвазированности (до 100 яиц гельминтов в 1 г фекалий [5]); 2) подопытная группа из 10 овец со средней и высокой степенью инвазированности (до 1000 яиц гельминтов в 1 г фекалий [5]); 3) контрольная группа из 10 овец с различной степенью инвазированности (от низкой до высокой). Животным подопытных групп были введены препараты в соответствии с инструкцией. Животным контрольных групп был инъецирован физиологический раствор в той же дозе, что и испытываемый препарат. На протяжении 5 недель животных ежедневно осматривали клинически и каждые три дня отбирали пробы фекалий для лабораторного исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

У животных с низкой степенью инвазированности нематодами после однократного введения как «Эпримека», так и «Ритрила» и «Аверсекта» яйца и личинки круглых паразитических червей в фекалиях обнаружены не были уже при первой гельминтоскопии, проведённой через два дня после инъекции.

У животных со средней и высокой степенью инвазированности после первичного введения всех трёх испытываемых препаратов при первой гельминтоскопии, проведённой через два дня после инъекции, были выявлены яйца и личинки нематод, однако количество их существенно сократилось (в среднем до 86 экземпляров на 1 г) и жизнеспособность снизилась. Через 10 дней после первичного введения препаратов инъекции повторили в той же дозировке. Гельминтоскопии, проведённые после повторной

инъекции не выявили присутствия фаз развития гельминтов в фекалиях подопытных животных. Аллергических или побочных реакций у животных на введение «Эпримека», «Ритрила» или «Аверсекта-2» отмечено не было.

В состоянии животных из контрольных групп положительной динамики выявлено не было. В фекалиях этих овец регулярно обнаруживали фазы развития паразитических нематод в тех же количествах, что и до начала испытания.

Помимо терапевтической эффективности, антгельминтики обладают целым рядом иных характеристик, имеющих значение при выборе препарата. Эти параметры представлены в таблице 1.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты испытаний антигельминтных препаратов «Эпримека», «Ритрила» и «Аверсекта-2» свидетельствуют об их эквивалентной терапевтической эффективности при нематодозах овец. Если базировать свой дальнейший выбор исключительно на цене препарата, то, как видно из таблицы, «Аверсект-2» является самым доступным, а «Эпримек» – самым дорогим. (Следует оговориться, что все расчёты произведены исходя из данных электронной платформы «Товары и услуги», так как на сайте компании «Нита-Фарм» препарат «Ритрил» отсутствует в ценовом разделе, на сайте «PharmBioMed» не указана цена, а на сайте «Апи-Сан» указана «рекомендованная цена», составляющая 894 рубля за флакон «Эпримека» объёмом 100 мл). Однако хоть сравнение цен и произведено для равного объёма лекарственного средства, оно не репрезентативно, поскольку в данном случае имеет значение стоимость одной инъекции. В этом случае «Аверсект-2» также сохраняет свою позицию, однако стоимость лечения «Ритрилом» возрастает по отношению к «Эпримеку», поскольку рекомендованная терапевтическая доза «Ритрила» в 4 раза превышает таковые у двух других препаратов.

Предположим, что необходимо провести плановую обработку 1000 овец

(60 кг живой массы каждая) против нематод. Нам потребуется 1,2 литра «Эпримека», либо 4,8 л «Ритрила», либо 1,2 л «Аверсекта-2». Известно, что препарат «Эпримек», как и «Аверсект-2», выпускается во флаконах разного объёма, тогда как «Аверсект-2» (как указано в инструкции) – исключительно во флаконах по 100 мл. Таким образом, в отношении «Эпримека» можно приобрести 2 флакона по 500 мл и 2 – по 100 мл (что даст экономию 1140 руб. при покупке (расчёт по рекомендованным ценам сайта-производителя)). «Аверсект-2» можно приобрести в комбинации 2 по 500 мл и 1 по 200 мл. При этом «Ритрила» придётся приобрести 48 флаконов. Таким образом, актуальным становится вопрос хранения и транспортировки. С точки зрения экономии пространства, «Аверсект-2» представляется наиболее удачным решением. Что касается условий хранения, то хоть диапазон температур у всех препаратов и схож, однако у «Аверсекта-2» он шире в обе стороны на 5 °С, а по срокам «Аверсект-2» хранится на год дольше, что можно отнести к важным преимуществам.

Возвращаясь к данному исследованию, следует отметить, что не изучалась заражённость овец арахноэнтомозами, в отношении которых «Эпримек» и «Аверсект-2» можно назвать препаратами выбора. Кроме того, у животных не было выявлено паразитирующих трематод и цестод. В противном случае препарат «Ритрил» стал бы бесспорным лидером, поскольку только этот препарат из трёх испытуемых обладает широким спектром действия в отношении гельминтов. Кроме того, «Ритрил» обладает ооцидным действием, что положительно сказывается на заражённости пастбищ.

Ещё один фактор, который можно назвать решающим, это ограничения, которые налагает применение препарата на использование продукции сельскохозяйственных животных. Бесспорным преимуществом «Эпримека» является возможность назначения его лактирующим самкам и 8-дневный запрет на использо-

Таблица 1

Параметры оценки антигельминтных препаратов

Параметр	«Эпримек»	«Ритрил»	«Аверсект-2»
Действующее вещество	эприномектин	рикобендазол, триклабендазол	аверсектин-С (+ новокаин)
Нематоцидность	+	+	+
Цестодоцидность	–	+	–
Трематодоцидность	–	+	–
Гельминтооооцидность	–	+	–
Инсектицидность	+	–	+
Акарицидность	+	–	+
Стоимость флакона (100 мл)*	595 руб.	448 руб.	319 руб.
Дозировка по инструкции	1 мл/ 50 кг	0,8 мл/ 10 кг	1 мл/ 50 кг
Объём препарата на 1 овцу (60 кг)	1,2 мл	4,8 мл	1,2 мл
Стоимость инъекции на 1 овцу (60 кг)*	7,2 руб.	8,1 руб.	3,8 руб.
Расчётное количество инъекций (овцы по 60 кг) для одного флакона (100 мл)	83	21	83
Объём препарата на 1000 инъекций (овцы по 60 кг)	1,2 л	4,8 л	1,2 л
Формы выпуска	10; 100; 500 мл	100 мл	10; 20; 50; 100; 200; 400; 500 мл
Использование молока	разрешено	запрещено	после 21 сут.
Использование мяса	8 сут.	40 сут.	21 сут.
Класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76	IV (малоопасные вещества)	III (умеренно опасные веще- ства)	III (умеренно опасные ве- щества)
Срок хранения закрытого флакона	2 года	2 года	3 года
Срок хранения вскрытого флакона	28 сут.	30 сут.	28 суток
Температура хранения	5-25 °С	5-25 °С	0-30 °С

вание мяса. Однако в данном хозяйстве: а) овец содержат ради получения исключительно мясной продукции; б) на момент исследования не был запланирован массовый убой животных, поэтому ограничительные сроки не имели значения.

Таким образом, проанализировав терапевтическую и экономическую эф-

фективность «Эпримека», «Ритрила» и «Аверсекта-2» при нематодозах овец, можно назвать «Аверсект-2» препаратом выбора. Однако при принятии решений следует каждый раз рассматривать не только терапевтическую эффективность и стоимость, но и широту спектра действия, объём дозировки, условия и сроки хране-

ния, ограничения на использование животноводческой продукции и другие факторы.

Estimation algorithm for anthelmintics on example of "Eprimec", "Ritril" and "Aversect-2"

ABSTRACT

The therapeutic efficacy of anthelmintic drugs "Eprimec", "Ritril", "Aversect-2" in the conditions of the sheep farm in Vyborg district of Leningrad region was studied. The following characteristics of drugs were analyzed: wideness of range of actions, volume of a single recommended dose, cost of drug per 100 ml bottle and in terms of a single recommended dose, pack sizes and their impact on the cost and ease of storage, restrictions on the use of meat and milk, storage terms and conditions. The study was conducted in 2016 on Romanov breed sheep at the age from 1 year to 6 years. Preliminary clinical examinations and helminthological studies estimated the following nematodes parasitizing in sheep: *Trichocephalus*, *Strongyloides* and *Strongylata* of digestive and respiratory system. For testing of each drug groups of 30 spontaneously infected animals 10 heads each were formed: 1) experimental group with a low degree of infestation; 2) experimental group with a medium and high degree of infestation; 3) control group with different degree of infestation (from low to high). Animals of experimental groups were injected drugs in accordance with their instructions. Animals of the control groups were injected saline at the same dose as test drug. The animals were examined clinically daily for 5 weeks and every three days samples of their faeces were taken for laboratory studies by flotation ovoscopy and culturing of larvae from helminth eggs according to Petrov and Gagarin's method. It was found that animal with a low degree of infestation needed a single administration of the drug "Eprimec", "Ritril" or "Aversect-2", and an animal with medium or high degree of infestation needed to be re-injected 10 days after the first injection. It was concluded that among the three drugs having equivalent therapeutic efficacy "Aversect-2" was the optimal choice in this

study.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипов, И. А. Антигельминтики: фармакология и применение / И. А. Архипов. – М.: Типография Россельхозакадемии, 2009. – 406 с.
2. Архипов, А. И. Выбор антгельминтиков для лечения животных / А. И. Архипов, М. Б. Мусаев // Ветеринария. – 2004. – № 2. – С. 28-32.
3. Белова, Л. М. Новая универсальная флотационная жидкость для комплексных лабораторных исследований/ Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова, Д. Н. Пудовкин// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2012. – № 4/1. – С.15 – 17.
4. ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Группа Т-58. Межгосударственные стандарты. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества: Классификация и общие требования безопасности (с Изменениями № 1, 2). – Введен впервые; введ. 01.01.1977. – М. : Изд-во стандартов, 1977. – 5 с.
5. ГОСТ Р 54627-2011. Группа С19. Национальные стандарты Российской Федерации. Животные сельскохозяйственные жвачные: Методы лабораторной диагностики гельминтозов. – Введен впервые; введ. 12.12.2011. – М. : Стандартинформ, 2013. – 20с.
6. Деграция авермектинов в условиях средней полосы России / Русаков С. В., Стерлина Т. С., Новик Т. С. [и др.] // Ветеринария. – 2003. – № 10. – С. 57 – 59.
7. Скрябин К. И. Гельминтозы крупного рогатого скота и его молодняка / К. И. Скрябин, Р. С. Шульц. – М.: Сельхозгиз, 1937. – С. 695.
8. Шустрова М. В., Белова Л. М., Лоскот В. И., Гаврилова Н. А., Токарев А. Н., Кузнецов Ю. Е. Прижизненная диагностика гельминтозов животных. – СПб: Изд-во СПбГАВМ, 2010. – 57 с.
9. Decision making on helminths in cattle: diagnostics, economics and human behavior / J. Charlier, V. De Waele, E. Ducheune [et al.] // Irish Veterinary Journal. – 2016. – №27 (69). – pp. 14-26.

ВЛИЯНИЕ МАСТИФИТА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЛОКА ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ

Барышев В.А. – ассистент кафедры фармакологии и токсикологии
ФГБОУ ВО СПбГАВМ

Ключевые слова: Корова, мастит, казеин, лактоза, сывороточный белок, иммуноглобулин. **Key words:** cow, mastitis, casein, lactose, serum protein, immunoglobulin.



РЕФЕРАТ

Цель исследований - изучение влияния нового, разработанного на кафедре фармакологии и токсикологии СПбГАВМ, растительного препарата Мاستифит на биохимические показатели молока лактирующих коров больных субклиническим маститом. Эксперимент был поставлен на двух группах коров. Одной группе для лечения субклинического мастита применяли препарат Мастифит, второй группе для лечения животных использовали антибиотик, содержащий препарат Мастисан А. Диагностировали мастит, руководствуясь «Наставлением по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров» (2007) – с использованием 2% раствора мастидина.

Лечебный эффект каждого варианта лечения оценивали по количеству соматических клеток, считая, что содержание их менее 350 тыс. является показателем излеченной четверти вымени.

Определяли рН молока с помощью потенциометра ЛПУ-01. Общий белок в сыворотке молока - рефрактометрически на рефрактометре ИРФ-22. Казеин молока определяли формольным методом.

Уровень иммуноглобулинов в молоке определяли методом радиальной иммунодиффузии с использованием коммерческих сывороток против иммуноглобулинов крупного рогатого скота.

Анализируя данные эксперимента можно сделать вывод, что в результате применения препаратов Мастифит и Мастисан А в подопытных группах в биохимических показателях секрета вымени содержание казеина в молоке у выздоровевших животных возросло на 12,66% и на 8,27%, соответственно ($P < 0,05$).

Количество сывороточных белков к моменту выздоровления снизилось на 11,53% и 10,84% в то время как количество иммунных глобулинов возросло на 15% и 15,69% ($P < 0,05$), что свидетельствует об активизации их синтеза. К концу лечения в молоке коров подопытных групп достоверно возросло содержание лактозы на 7,55% и 6,53%.

Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии препарата Мастифит на биохимический состав молока.

ВВЕДЕНИЕ

Молочное скотоводство является одной из ведущих отраслей сельского хозяйства. Фактором, вызывающим снижение экономической эффективности отрасли, является заболевание крупного рогатого скота маститом. Наибольший ущерб молочному животноводству оказывает заболевание животных субклиническим маститом. Уровень заболевания

субклиническим маститом, в некоторых хозяйствах, достигает 60-80%, в то время как клинически выраженный мастит встречается в два раза реже. Субклинический мастит протекает без ярко выраженной симптоматики, исследования коров на скрытый мастит в хозяйствах, как правило, не проводятся, и поэтому молоко от больных животных попадает в сборное молоко. При 10% уровне заболевания

коров скрытым маститом, уровень санитарного качества молока падает в два раза [2,3].

Вопрос качества молока имеет особый экономический интерес, поскольку изменения в его составе являются серьезным препятствием в изготовлении целого ряда продуктов. 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 [3,4].

Для лечения маститов у коров используется много различных препаратов, но главным образом, содержащие антибиотики. Эти препараты достаточно эффективны. Но у антибиотиков есть ряд недостатков. У патогенной микрофлоры со временем вырабатывается устойчивость к любому препарату [1,5]. Попадание антибиотиков в сборное молоко снижает его санитарное качество и не допускается к приемке. Поэтому при разработке новых противомаститных средств необходимо учитывать влияние препарата на молочную железу и состав молока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения влияния препарата Мастифит на биохимический состав молока было отобрано две группы коров, по 35 голов в каждой. Первой группе в качестве лечения субклинического мастита применяли препарат Мастифит. Препарат вводили интрацистернально, в дозе 10 мл, предварительно нагревали его до температуры 38°C. Второй группе, для лечения мастита применяли Мастисан А. Препарат вводили интрацистернально в дозе 10 мл, на каждую пораженную четверть вымени, 1 раз в день до клинического выздоровления. Коров 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.

Определяли рН молока с помощью потенциометра ЛПУ-01. Общий белок в сыворотке молока - рефрактометрически на рефрактометре ИРФ-22. Казеин молока определяли формольным методом.

Уровень иммуноглобулинов в молоке определяли методом радиальной иммунодиффузии с использованием коммерческих сывороток против иммуноглобулинов крупного рогатого скота.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализируя полученные данные (табл.1) можно сделать вывод, что в результате применения препаратов Мастифит и Мастисан А в подопытных группах в биохимических показателях секрета вымени содержание казеина в молоке у выздоровевших животных возросло на 12,66% и на 8,27%, соответственно ($P < 0,05$).

Количество сывороточных белков к моменту выздоровления снизилось на 11,53% и 10,84% в то время как количество иммунных глобулинов возросло на 15% 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 7,55% и 3,81%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что препарат Мастифит оказывает положительное влияние на биохимические свойства молока. В ходе эксперимента установлено увеличение казеина и лактозы на 4,41% и на 2,68%. Также отмечено увеличение иммунных глобулинов на 15%. Необходимо учитывать, что при применении антибиотик содержащих препаратов необходимо учитывать сроки выведения антибиотиков из организма, так как попадание антибиотиков в сборное молоко снижает его санитарное качество, и не допускается к приемке. Применение препаратов на растительной основе лишены таких недостатков и, сводит до минимума возникновение побочных эффектов от применения лекарств. При этом удастся избежать кумуляции токсинов, не редко возникающих после применения химиотерапевтических средств.

Таблица 1

Биохимические показатели молока коров до и после лечения препаратами Мастифит и Мастисан А, (M±m, n=35)

Показатели	Мастифит		Мастисан-А	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
рН	6,76±0,13	6,54±0,15	6,87±0,11	6,51±0,14
Общий белок, г/л	35,48±0,15	36,24±0,11	35,65±0,14	35,64±0,11
Сывороточный белок, г/л	13,35±0,16	11,81±0,15*	13,65±0,16	12,17±0,15*
Казеин, г/л	22,03±0,15	24,82±0,13*	22,0±0,15	23,82±0,14*
Лактоза, г/л	36,42±0,50	39,17±0,40*	36,72±0,50	38,12±0,40*
Альбумины, г/%	18,71±0,91	16,93±0,82	18,53±0,91	16,33±0,82
Иммунные глобулины, г/%	21,32±0,14	24,52±0,12*	22,17±0,15	25,65±0,15*
IgG, мг/мл	2,41±0,05	0,84±0,04***	2,52±0,07	0,94±0,07***
IgM, мг/мл	0,46±0,03	2,87±0,04***	0,56±0,03	3,82±0,05***

Примечание: * =P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001.

The influence of mastifit on biochemical parameters of milk of lactating cows. V. Barishev.

ABSTRACT

The aim of the research was to study the impact of the new, developed at the Department of Pharmacology and Toxicology of SPbGAVM a vegetable drug Mastifit on biochemical parameters of milk of cows suffering from subclinical mastitis. The experiment was carried out on two groups of cows. In one group for the treatment of subclinical mastitis we used the preparation Mastifit, in the second group for the treatment of animals - antibiotic-containing drug Mastisan A. Mastitis was diagnosed, guided by the «Manual on the diagnosis, therapy and prevention of mastitis in cows" (2007), using 2% solution of mastidin.

The therapeutic effect of each treatment option was evaluated by the number of somatic cells, considering that their content less than 350 thousand is an indicator of cured quarter of the udder.

Milk pH was determined with potentiometer LPU-01. Total protein in the serum of milk - refractometrically on the Refractometer CRF-22. Casein milk was determined with formol method.

The level of immunoglobulins in blood serum and milk was determined by radial immunodiffusion using commercial serums against immunoglobulins of cattle.

Analyzing the experimental data it can be concluded that as a result of the use of drugs Mastifit and Mastisan A in the experimental groups in biochemical indicators of udder secretion, the content of casein in milk from healthy animals has increased by 12.66% and 8,27% respectively (P<0.05).

The amount of serum proteins at the time of recovery decreased by 11.53% and 10,84% while the number of immune globulin increased by 15% and 15,69% (P<0.05), indicating that activation of their synthesis. By the end of treatment in the milk of cows of the experimental group significantly increased the lactose content by 7.55% and

6,53%.

The obtained data indicate to positive influence of the drug Mastifit on the biochemical composition of milk.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Блохин, А.А. Препараты «Иммомаст-А» и «Иммомаст-В» в лечении мастита лактирующих коров / А.А. Блохин, В.В. Исаев, Н.А. Гладкова // Международный

вестник ветеринарии. – 2015. – №4. – С. 10-15.

3. Касянчук, В.В. Мастит: основы диагностики и лечения // Молочное и мясное скотоводство.-1992.-№4.-С. 14-15.

4. Трошин, А.Н. Усовершенствование лечебных и профилактических мероприятий при мастите у коров: Автореф. дисс...канд. вет. наук. Ставрополь.- 1996.- 24с.

5. McDhnauld J.S. Streptococcal and Staphylococcal mastitis // Veter. Clin. N. America-Large. Anim. Pract., 2000. - V. 6. - N. 2. - P. 269-285.

УДК 619.615.28+615.254

ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ЦИСТИТА КОШЕК

Боляхина С.А., кандидат ветеринарных наук, ст. научный сотрудник
Насаргдинова Г.Ф., научный сотрудник, Коптев В.Ю., кандидат ветеринарных наук, ст. научный сотрудник, Онищенко И.С., кандидат ветеринарных наук, ст. научный сотрудник, Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Сибирского федерального научного центра агrobiотехнологий Российской академии наук

Ключевые слова: геморрагический цистит, микрофлора, наночастицы серебра, кошка. **Key words:** hemorrhagic cystitis, microflora, nanoparticles of silver, cat.



РЕФЕРАТ

Для расширения арсенала способов лечения геморрагического цистита домашних кошек нами был испытан препарат с рабочим названием «Аргомаст», который содержит в своем составе наночастицы серебра стабилизированные субмикронными частицами

диоксида титана ($Ag-TiO_2$ (масс.%) $2,0 \times 10^{-3}$) и полимер синтетического происхождения поли-N-винилпирролидон-2. В опыте было использовано 80 больных геморрагическим циститом кошек, распределенных на 4 группы ($n=20$). Животным в зависимости от группы, один раз в сутки инстилляцией в мочевой пузырь, вводили «Аргомаст» в дозе - 1 мл, 2 мл, 3 мл до момента выздоровления. Контрольной группе – р-р колларгола 2% в дозе 2 мл. Оценку эффективности способа лечения проводили путем учета результатов биохимического, цитологического и бактериологического исследования проб мочи, а также с учетом сроков выздоровления подопытных животных. Установлено, что применение препарата «Аргомаст» в дозе 2 мл и 3 мл, сокращает сроки выздоровления животных ($2,85 \pm 0,51$ и $2,45 \pm 0,27$ сут.) в сравнении с группой животных, которым применялся кол-

ларгол 2% ($4,95 \pm 0,53$ сут.). Применение препарата «Аргомаст» способствует прекращению гемат- и протеинурии. При проведении бактериологических исследований, до начала терапии была установлена контаминация мочи больных кошек микрофлорой в количестве $3-9,2 \times 10^3$ КОЕ/мл. Выделенная микрофлора была представлена микроорганизмами родов *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Escherichia*. После окончания терапии в пробах мочи второй и третьей опытных групп присутствие представителей условно-патогенной микрофлоры не установлено, в то время как у кошек первой опытной и контрольной группы в пробах присутствовали стрептококки, стафилококки, и кишечная палочка (от $2,1-9 \times 10^2$ до $3,5 \times 10^3 \pm 0,2$ КОЕ/мл.). Таким образом, предлагаемый препарат «Аргомаст», в дозе 2,0 мл один раз в сутки при инстилляционном методе введения, до момента полного выздоровления, является эффективным способом лечения геморрагического цистита кошек.

ВВЕДЕНИЕ

Кровь в моче – всегда тревожный симптом. Кровь обнаруживается в моче из-за того, что в результате воспаления повреждаются внутренние стенки мочевого пузыря, и нарушается целостность кровеносных сосудов, именно так начинается геморрагический цистит у кошек. Из-за отсутствия адекватной терапии однажды случившийся цистит переходит в хроническую форму и регулярно доставляет пациенту массу проблем. Для лечения хронических циститов оправдано применение препаратов, обладающими антисептическим действием, например, 0.02% водный раствор хлоргексидина, 1% р-р диоксида, 10% линимент дибунола.

В литературных источниках описаны способы терапии геморрагического цистита, где в качестве действующих веществ выступает 2-3% р-р колларгола или протаргола вводимые в мочевой пузырь [1]. Показания к введению: прижигающее, коагулирующее воздействие на воспаленный участок слизистой оболочки с помощью раствора азотнокислого серебра. Действующее вещество – восстановленное металлическое серебро размером менее 1 мкм с белковой оболочкой из альбумина - протаргол или коллаген – колларгол; при интрацистернальном введении может являться аллергеном, также может обладать раздражающим действием на слизистую мочевого пузыря. В нашей практике использование этих препаратов сопровождалось болезненностью при введении интрацистернально и рецидивами геморрагических циститов у

больных животных.

Для расширения арсенала способов лечения геморрагического цистита домашних кошек использовали препарат с рабочим названием «Аргомаст» для лечения маститов коров (см. патент РФ № 2532407 от 10.11.2014) разработанный в Институте экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Сибирского федерального научного центра агробιοтехнологий Российской академии наук. Суспензия «Аргомаст» содержит наночастицы серебра стабилизированные субмикронными частицами диоксида титана ($Ag-TiO_2$ (масс.%) $2,0 \times 10^{-3}$) и полимер синтетического происхождения поли-N-винилпирролидон-2. Проведены доклинические исследования препарата, а именно: изучена острая и хроническая токсичность, местно-раздражающие свойства, а также антибактериальная и терапевтическая эффективность при мастите крупного рогатого скота [2]. Ранее препарат не использовался для лечения геморрагического цистита кошек.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С целью определения терапевтической эффективности при применении было подобрано 80 кошек больных геморрагическим циститом. Животные были разделены на 4 группы. Первой подопытной группе вводили «Аргомаст» в дозе 1 мл. Второй - в дозе 2 мл. Третьей группе - в дозе 3 мл. Контрольной группе применяли антибактериальный препарат – р-р колларгола 2% в дозе 2 мл. Все препараты вводили инстилляци-

Терапевтическая эффективность препарата «Аргомаст»

Группа		Всего в опыте	Выздоровело		Срок выздоровления, сутки
			кошек	%	
Препарат «Аргомаст»	1	20	16	80	4,81 ± 0,65
	2	20	19	95	2,85 ± 0,51
	3	20	19	95	2,45 ± 0,27
р-р колларгола, 2%	4	20	16	80	4,95 ± 0,53

ей в мочевого пузыря один раз в сутки до выздоровления.

Оценку эффективности способа лечения проводили путем учета результатов исследования проб мочи для биохимического, цитологического и бактериологического исследования, с учетом сроков выздоровления подопытных животных [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Как видно из таблицы 1, при применении препарата «Аргомаст», содержащего наночастицы серебра, выздоровление животных во второй и третьей подопытных группах наступало в 95% случаев на 2,85 ± 0,51 и 2,45 ± 0,27 сутки курса лечения соответственно. В первой подопытной группе вылечено 80% животных на 4,81 ± 0,65 сут. В контрольной группе кошек выздоровление отмечали на 4,95 ± 0,53 суток.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что антибактериальный препарат «Аргомаст», включающий наночастицы серебра в дозе 2,0 мл и 3,0 мл, обусловил ускорение процесса заживления и сокращение сроков выздоровления животных в сравнении с контрольной группой животных, которым применялся известный препарат колларгол 2%. Но так как сроки выздоровления кошек больных геморрагическим циститом при использовании дозы препарата «Аргомаст» 2 мл и 3 мл одинаковы, для снижения расхода препарата рациональнее применять «Аргомаст» в дозе 2 мл.

Для изучения влияния лекарственных препаратов на состав мочи подопытных кошек (см. таблица 2) ежедневно исследовали пробы мочи с помощью тест-полосок nanoPHAN и микроскопии осадка окрашенного метиленовым синим.

На основании полученных результатов, можно сделать вывод, что применение препарата «Аргомаст» способствует прекращению гемат- и протеинурии.

В последнее время изучаются возможности применения металлопрепаратов при терапии заболеваний, осложненных микрофлорой [4-6]. Использование наночастиц серебра обеспечивает препарат «Аргомаст» антибактериальными свойствами. Субмикронные частицы диоксида титана находясь в комплексе с наночастицами серебра способствуют пролонгированному действию препарата, обеспечивая постепенное высвобождение ионов серебра к очагу воспаления [7-9].

Для определения влияния лекарственных препаратов на микрофлору урогенитального тракта проводили бактериологическое исследование проб мочи кошек всех групп. Пробы отбирались с соблюдением правил асептики и антисептики с помощью катетера до введения препаратов и по окончании лечения.

До введения препаратов у всех больных кошек обнаружили микрофлору в количестве 3-9,2 × 10³ кл/мл. Выделенная микрофлора была представлена микроорганизмами родов *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* (*St. albus*), *Escherichia* (*Esh. coli*). После окончания терапии в

Таблица 2

Физические и биохимические показатели мочи животных

Показатель	«Аргомаст»	Р-р колларгола, 2%	Норма
относительная плотность	1,020±0.02/1,032±0.02	1,022±0.02/1,015±0.02	1,020-1,040
pH	5,8±0.02/6,2±0.02	6,0±0.02/6,4±0.02	5,8-6,8
Белок, mg/dl	100±8.0/30±2.0	100±8.0/30±2.0	0-30
Кровь, Ery/ml	300±1.0/10±1.0	300±10.0/50±2.0	0

Примечание: до ведения препарата/на следующий день; показатели нормы из справочника Лабораторные исследования в ветеринарии/ под ред. В.Я.Антонова, П.Н.Блинова., 1974 г., С.140

Таблица 3

Микрофлора мочи животных

Группа	Первичный прием			Вторичный прием		
	<i>E.coli</i>	<i>St.albus</i>	<i>Str.spp</i>	<i>E.coli</i>	<i>St.albus</i>	<i>Str.spp</i>
1	4*10 ³ ±0,1	2*10 ³ ±1,2	-	2,1*10 ² ±0,1	-	-
2	3.2*10 ³ ±1,2	9*10 ² ±0,5	1,3*10 ² ±0,2	-	-	-
3	3*10 ³ ±0,5	2*10 ³ ±0,1	-	-	-	-
4	5*10 ³ ±0,9	3,3*10 ² ±0,5	2,2*10 ² ±0,3	3,5*10 ³ ±0,2	6*10 ² ±1,1	9*10 ² ±0,4

пробах мочи второй и третьей опытных групп (100,0%) отсутствовала контаминация условно-патогенной микрофлорой, в то время как у кошек первой опытной и контрольной группы в пробах присутствовали стрептококки, стафилококки, и кишечная палочка (от 2,1-9×10² до 3,5*10³±0,2) (таблица 3).

Результаты исследований свидетельствуют о том, что антибактериальный препарат «Аргомаст», включающий наночастицы серебра, стабилизированные субмикронными частицами диоксида титана, обладает бактерицидным действием в отношении микрофлоры мочевого пузыря кошек больных геморрагическим циститом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предлагаемый способ лечения геморрагического цистита у кошек с использованием антибактериального препарата «Аргомаст», содержащего наночастицы серебра, стабилизи-

рованные субмикронными частицами диоксида титана, с концентрацией действующего вещества Ag-TiO₂ (масс.%) 2,0×10⁻³ в дозе 2 мл один раз в сутки, до выздоровления инстилляцией в мочевого пузыря, является эффективным, что выразилось в уменьшении сроков лечения и санацией мочевого пузыря.

BolyahinaS.A., NasartdinovaG.F., KoptevV.Y., OnishenkoI.S.

Preparation on the basis of nanochastits of silver for the treatment of hemorrhagic cystitis cats

ABSTRACT

To expand the arsenal of methods of treatment of hemorrhagic cystitis in domestic cats we have tested the drug under the working title "Argomast", which contains in its composition silver nanoparticles stabilized by submicron particles of titanium dioxide (Ag-Ti iO₂, 2,0×10⁻³) and a polymer of synthetic origin poly-N-vinylpyrrolidone-2. 80 cats with hemorrhagic cystitis were used in the research, they were divided into

4 groups with 20 cats in each (n=20). Once a day "Argomast" at a dose of 1.0 ml, 2.0 ml, 3.0 ml was introduced intracisternally to animals depending on the group till the recovery time. To control group collargol 2% at a dose of 2.0 ml was introduced. Evaluation of the effectiveness of the method of treatment was performed by considering the results of biochemical, cytological and bacteriological examination of the urine samples, and the recovery time of test animals. The use of the drug "Argomast" at a dose of 2.0 ml and 3.0 ml shortens the recovery time of animals ($2,85 \pm 0,51$ and $2,45 \pm 0,27$ days) in comparison with the group of animals to which collargol 2% ($4,95 \pm 0,53$ days) was introduced. The use of the drug "Argomast" helps stop the blood- and proteinuria. Conducted bacteriological studies before therapy estimated contamination with microorganisms of the urine of sick cats to be $3-9,2 \times 10^3$ CFU/ml. Isolated microorganisms were the species of the genera Streptococcus, Staphylococcus, Escherichia. When the experiment was completed in the urine samples of the second and third experimental groups the presence of the representatives of conditionally pathogenic microorganisms was not established, while the samples of the urine of the cats in the first experimental and control groups contained streptococci, staphylococci, and Escherichia coli ($2,1-9 \times 10^2$ to $3,5 \times 10^3 \pm 0,2$ CFU/ml). Thus, the proposed drug "Argomast", at a dose of 2.0 ml once a day introduced intracisternally proves to be effective for the treatment of hemorrhagic cystitis in cats.

ЛИТЕРАТУРА

1.Ерохин, А.П. Применение ионов серебра в комплексном лечении циститов у детей. Кафедра детской хирургии 2 МММ./ А.П. Ерохин, Н.П. Муртузалиев // Педиатрия. - 1981 - №4 - с.15-17
2.Титова, М.А. Доклиническое исследование антибактериального препарата «Аргомаст», включающего наночастицы серебра. / М.А.Титова, Н.А. Шкиль // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: мат. XI Сиб. конф.(Новосибир. гос. аграр. ун-т, 22-23 марта 2012)/. – Новосибирск,

2012. – С. 101 – 102.

3.Лабораторные исследования в ветеринарии/ под ред. В.Я.Антонова, П.Н. Блинова. - М., «Колос», 1974. – 320с.

4.Belly R.T., Kydd G.C. Silver resistance in microorganisms/ R.T. Belly, G.C. Kydd// Dev Indust Microbiol.- 1982.- № 23.- pp. 567-577

5.Lansdown A.B.G. Metallothioneins: Potential therapeutic aids for wound healing in the skin/ A.B.G. Lansdown // Wound Repair and Regeneration.- 2002.- Vol. 10 (3).- pp. 130-1324.

6.Kudrinskiy A.A. The Mode of Action of Silver and Silver Halides Nanoparticles against Saccharomyces cerevisiae Cells [Электронный ресурс]/ А.А. Kudrinskiy, А.Ю. Иванов, Е.В. Кулаковская, А.И. Klimov, P.M. Zherebin, D.V.Khodarev, Le Anh-Tuan, Tam Le Thi, G.V. Lisichkin, Yu. A. Krutyakov// J. Nanoparticles, 2014, Article ID 568635, 7 p. –режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/568635>

7.Титова М.А. Оценка антибактериальной и терапевтической эффективности препарата, включающего наночастицы серебра при мастите крупного рогатого скота / М.А. Титова, Н.А. Шкиль, В.Ю.Коптев, А.Л. Бычков//Ветеринарная медицина. – 2011. – №3-4. – С. 103 – 104.

8.Коптев В.Ю. Сравнительная оценка терапевтической и экономической эффективности препаратов при лечении субклинических маститов у коров / В.Ю. Коптев,

М.А. Титова, А.В. Вольф, С.И. Логинов, А.Л. Бычков // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: мат. XI Сиб. конф. (Новосибир. гос. аграр. ун-т, 22-23 марта 2012)/ – Новосибирск, 2012. – С. 103 – 105.

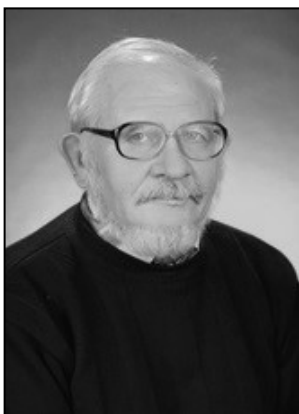
9.Титова М.А. Терапевтическая эффективность препарата Аргомаст при субклиническом мастите коров / М.А. Титова // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2012. – № 4. – С. 129-131.



ВЛИЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА МОЛОКА НА ЕГО СПОСОБНОСТЬ К СКВАШИВАНИЮ

Скопичев В.Г. - д.б.н., проф. кафедры биохимии и физиологии ФГБОУ ВО СПбГАВМ, Дмитриева Н.С. - асп. кафедры биохимии и физиологии ФГБОУ ВО СПбГАВМ, Гунькова П.И. – к. техн.н., доц. кафедры химии и молекулярной биологии Университета ИТМО, Бучилина А.С. - магистрант Университета ИТМО

Ключевые слова: соматические клетки молока, переработка молока, стартовые культуры, молочнокислые бактерии. **Key words:** somatic cells of milk, processing of milk, starter culture, lactic acid bacteria.



РЕФЕРАТ

Клеточный состав молока характеризует его безопасность и способность к переработке в молочные продукты. Соматические клетки, представленные лейкоцитами, макрофагами, миоэпителиальными клетками, эпителиоцитами в небольшом количестве всегда присутствуют в молоке и обеспечивают пассивный иммунитет новорожденного. При этом уровень и состав этих клеток отражает физиологическое состояние животного. При заболевании коров маститом в молочную железу, вследствие различных причин, проникают возбудители заболевания, чаще всего стрептококки и стафилококки.

Следствием маститов является неблагоприятное для молочного производства изменение состава и свойств выделяемого молока. Накопление в маститном молоке микробных токсинов и остатков различных лекарственных препаратов делает его небезопасным для людей. Цель работы в выявлении влияния количества соматических клеток в молоке на его важнейшее технологическое свойство – способность к сквашиванию. При проведении экспериментов использовали коровье молоко хозяйств Ленинградской области и стандартные методики, применяемые в производственных лабораториях. Результаты исследования показали зависимость активности стартовых культур от уровня содержания соматических клеток в молоке. Наибольшее торможение роста при повышении в молоке числа клеток наблюдается у мезофильных молочнокислых лактококков, а так же у термофильного стрептококка. В ходе экспериментальной части было выявлено, что для обеспечения процесса сквашивания молока молочнокислыми бактериями число соматических клеток не должно превышать 400 тыс./см³ молока, - именно при такой концентрации этих клеток не происходит существенного изменения скорости технологического процесса. Оптимальные параметры технологического процесса достигаются при содержании соматических клеток в молоке-сырье менее 300 тыс./см³.

ВВЕДЕНИЕ

Способность к сквашиванию является важнейшим технологическим свойством молока при выработке из него кисломолочных продуктов. Это свойство молока характеризуется его способностью ферментироваться заквасочными культурами при условиях процесса производства. Активность бактериальных культур в молоке в значительной степени определяет правильное течение технологического процесса и качество готового молочного продукта. Заквасочные культуры для кисломолочных продуктов представляют собой смесь штаммов различных молочнокислых бактерий. В некоторых случаях они содержат бифидобактерии, пропионовокислые бактерии, дрожжи и некоторые другие. Микроорганизмы заквасок чрезвычайно требовательны к питательной среде. Для оптимального развития им необходим определенный набор аминокислот, пептидов, углеводов, витаминов, азотистых оснований, органических кислот, магний и другие минеральные элементы. Присутствие в молоке различных веществ, переходящих в него при лечении животных (например, антибиотиков, гормонов и др.), высокого количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микробов и соматических клеток могут тормозить рост культур. Поэтому способность молока к сквашиванию, обуславливаемая активностью в нем заквасочных культур, находится в значительной зависимости от состава молока-сырья, а значит и от состояния здоровья, рационов кормления и условий содержания животных [1,2,3,4,5].

Маститы крупного рогатого скота приводят к неблагоприятным изменениям состава и свойств молока. В нем уменьшается содержание лактозы, жира, казеина и кальция, а количество сывороточных белков, хлора, натрия, наоборот, увеличивается. Маститное молоко характеризуется повышенным значением электропроводности, низкой кислотностью и плотностью. Маститы, как правило, возникают при нарушении условий доения и содер-

жания животных вследствие которых в молочную железу и молоко попадают стафилококки, стрептококки, бактерии группы кишечных палочек (БГКП) и другие виды бактерий. При этом в молоке повышается до 10^6 в см³ и более число соматических клеток, главным образом лейкоцитов. Маститное молоко не подлежит переработке [2,4].

Молоко-сырье, поступающее на молокоперерабатывающие предприятия, согласно действующему ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» может содержать соматических клеток не более $7,5 \cdot 10^5$ в см³, а число мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в нем не может превышать $5,0 \cdot 10^5$ КОЕ/см³. ГОСТ 31449-2013 «Молоко коровье сырое. Технические условия», нормирует содержание соматических клеток в молоке не более $4,0 \cdot 10^5$ в см³, а КМАФАнМ – не более $1,0 \cdot 10^5$ КОЕ/см³. Однако молоко, производимое хозяйствами (в том числе Ленинградской области), нередко имеет в 1 см³ более $5,0 \cdot 10^5$ соматических клеток и КМАФАнМ выше 10^6 КОЕ/см³. Все это негативно сказывается на безопасности, технологических свойствах молока и на качестве готовой продукции.

Цель настоящей работы в выявлении зависимости между количеством соматических клеток в коровьем сыром молоке и ростом заквасочных культур для кисломолочных продуктов.

Объекты исследований:

- молоко сырое цельное с с различным уровнем соматических клеток от хозяйств Ленинградской области со следующими качественными показателями: массовая доля жира-3,0 – 4,35%, массовая доля белков-2,6 – 3,36%, массовая доля сухих обезжиренных веществ молока (СОМО) -7,8 – 9,4%, содержание соматических клеток - 90 – более 1000 тыс./см³, КМАФАнМ, КОЕ- $1 \cdot 10^6$ – $6,0 \cdot 10^{10}$ см³, кислотность -16,0 – 18,0 °Т, плотность-1027 - 1029 кг/м³, температура замерзания - минус 0,56 – 0,52°С, наличие ингибирующих веществ - отсутствие

вали, антибиотики- отсутствовали. Эксперимент проводили в весенне-летний период 2016 года.

- заквасочные культуры, широко используемые предприятиями Санкт-Петербурга и Ленинградской области:

CHOOZIT TA (DANISCO FRANCE SAS), состоящая из штаммов *Streptococcus thermophilus*;

YO-MIX 205 (DANISCO FRANCE SAS), состоящая из смеси штаммов *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*;

CHN-19 (CHR HANSEN), содержащая смесь множественных штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали общепринятые методики, применяемые на молочных заводах при контроле молока-сырья, этапов технологического процесса и готовой продукции. В пробах молока на приборе MilkoScan Minor определяли массовые доли жира, общего белка, СОМО и температуру замерзания. Контролировали кислотность молока путем его титрования раствором NaOH, pH смеси измеряли на приборе Hanna HI 8314. плотность — с помощью ареометра. Содержание соматических клеток измеряли на приборе «Соматос-В». Наличие ингибирующих веществ контролировали путем проведения пробы с индикатором метиленовым голубым, присутствие антибиотиков — экспресс-методом четыре-сенсор. Количество в молоке мезофильных, психротрофных, термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, а также бактерий группы кишечных палочек определяли по ГОСТ Р 53430 - 2009 Молоко и продукты переработки молока. Методы микробиологического анализа. Определение содержания дрожжей проводили по ГОСТ 10444.12 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов. Число мо-

лочнокислых бактерий в сквашенном молоке подсчитывали сразу по окончании процесса сквашивания методом предельных разведений. Молочнокислые стрептококки и палочки дифференцировали с помощью микроскопического анализа и значения титруемой кислотности сгустка. Содержание бифидобактерий контролировали руководствуясь МУК 4.2.999-00 Определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для изучения влияния маститного молока на ход процесса сквашивания были сформированы 7 групп проб молока по 3 пробы в каждой группе с различным числом соматических клеток. Обозначение проб представлено в табл. 1.

В пробы молока вносили заквасочные культуры в количестве 5 % и в течение 14 часов выдерживали смесь при оптимальных для каждого вида культур температурах (для мезофилов температура составляла 30°C, для термофилов — 45°C). Каждый час фиксировали значение pH сквашиваемой смеси. На основании полученных данных строили кривые роста заквасочных культур в исследуемом молоке.

При производстве кисломолочных продуктов процесс сквашивания считается оконченным при достижении сгустком pH равного 4,7 – 4,6. Если заквасочные культуры имеют достаточно высокую активность в молоке, то продолжительность времени сквашивания минимальна. Кривые роста заквасочных культур в молоке с разным числом соматических клеток представлены на рис. 1, 3 и 5. Продолжительность процесса сквашивания культурами молока с различным содержанием соматических клеток показана на диаграммах рис. 2, 4 и 6.

Как видно на графике, представленном на рис.1. бактериальная культура CHOOZITTA, состоящая из штаммов термофильного стрептококка, имеет достаточно высокую активность в молоке А, Б, В (с числом соматических клеток до 100, от 101 до 200 и от 201 до 300 тыс. кл./см³ соответственно). Активность культуры

Таблица 1

Обозначение проб молока с различным числом соматических клеток

Маркировка пробы	Количество соматических клеток, тыс. в см ³ молока
А	До 100
Б	От 101 до 200
В	От 201 до 300
Г	От 301 до 400
Д	От 401 до 500
Ж	От 501 до 750
З	Свыше 751

существенно снижается в молоке Д (от 401 до 500 тыс. кл./см³) и далее продолжает снижаться с возрастанием количества соматических клеток. При превышении в молоке числа клеток 750 тыс. /см³ развитие термофильного стрептококка резко замедляется, что недопустимо для технологического процесса.

Как видно из данных диаграммы, представленной на рис.2, продолжительность процесса сквашивания молока термофильным стрептококком заметно возрастает при содержании соматических клеток выше 400 тыс. /см³. Оптимальное (3 – 3,5 часа) время сквашивания наблюдается у проб А, Б, В. Время сквашивания увеличивается, по сравнению с оптимальным, в пробе Г примерно на 8%, в пробе Д – уже на 57 %, а в пробе Ж увеличение происходит на 86 % (без малого в 2 раза). Продолжительность процесса сквашивания термофильным стрептококком молока пробы З удлиняется почти в 4 раза (увеличение составляет 385 %) и составляет около 14 часов.

Аналогичные результаты наблюдались у термофильной бактериальной культуры YO-MIX 205.

Кривые роста, представленные на рис.3, показывают, что культура YO-MIX 205 проявляет максимальную активность также в пробах молока А, Б, В. Снижение активности происходит в молоке, начиная с пробы Г (число соматических клеток более 300 тыс./см³).

Различие в продолжительности сквашивания проб молока видно из диаграммы на рис. 4.

Из данных диаграммы продолжительности сквашивания проб молока стартовой культурой YO-MIX 205 видно, что оптимальное время сквашивания наблюдается в пробах молока А и Б. В пробе В процесс был немного более продолжительным, по сравнению с оптимальным, а в пробе Г превышение оптимального времени составило более чем на 28 %. Резкое увеличение (в 2 – 3 раза) продолжительности сквашивания происходит в молоке с числом соматических клеток выше 500 тыс. /см³.

Различия процессов роста и продолжительности сквашивания у термофильных культур SNOOZITTA и YO-MIX 205 можно объяснить их видовым составом. В состав культуры YO-MIX 205, кроме термофильного стрептококка, входят штаммы болгарской и ацидофильной палочек, а также бифидобактерии. Вероятно, эти виды обладают большей, чем термофильный стрептококк, устойчивостью к соматическим клеткам молока.

Характеристика процесса роста и времени сквашивания мезофильной культуры молочнокислых бактерий СНН-19 представлена на рис. 5 и 6.

Графики, представленные на рис.5, показывают, что мезофильные молочнокислые бактерии проявляют максимальную активность в молоке, где количество соматических клеток ниже значения 300 тыс./см³. Превышение этого значения вызывает резкое торможение роста мезофильных молочнокислых бактерий (молоко начиная с пробы Г).

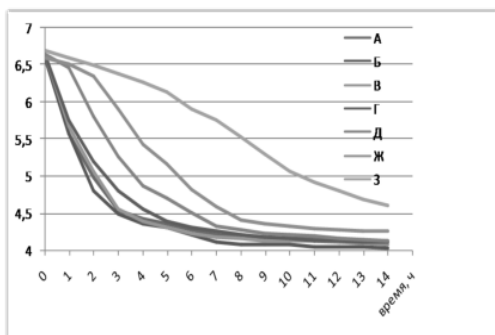


Рис.1. Кривые роста стартовой культуры CHOOZITTA в молоке с разным числом соматических клеток

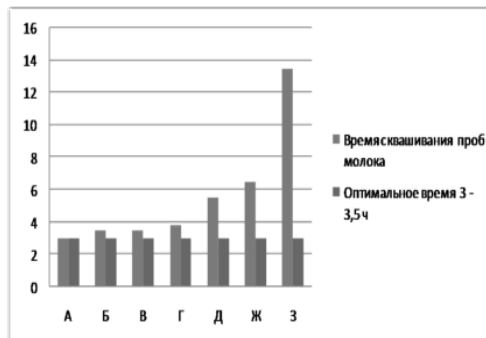


Рис. 2. Продолжительность процесса сквашивания проб молока стартовой культурой CHOOZITTA

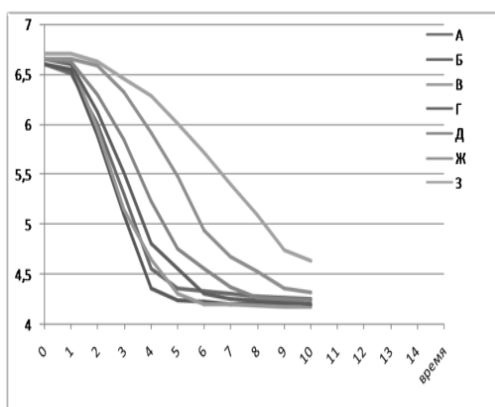


Рис.3. Кривые роста стартовой культуры YO-MIX 205 в молоке с разным чис-

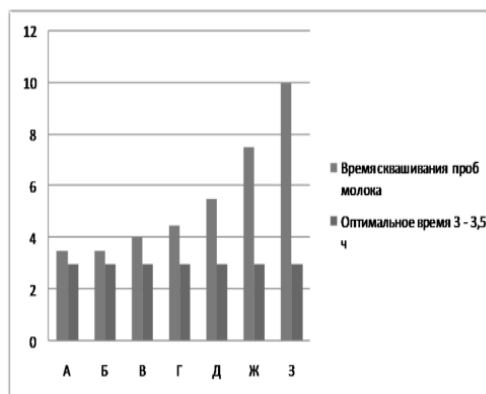


Рис. 4. Продолжительность процесса сквашивания проб молока стартовой культурой YO-MIX 205

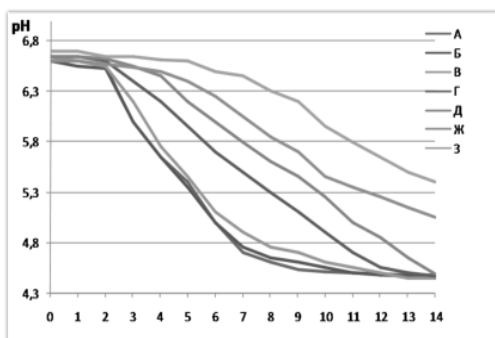


Рис.5. Кривые роста стартовой культуры CHN-19 в молоке с разным чис-

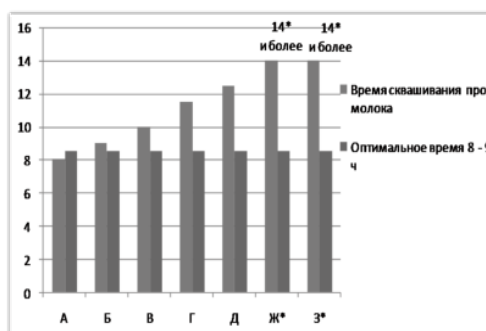


Рис. 6. Продолжительность процесса сквашивания проб молока стартовой

Как показывает диаграмма, представленная на рис. 6, время сквашивания молока мезофильной культурой возрастает с увеличением числа соматических клеток. Продолжительность сквашивания молока проб А и Б близка к оптимальной. У пробы В наблюдается превышение оптимального времени на 11 %, у проб Г и Д оно составляет соответственно 28 и 39 %. Процесс сквашивания молока проб Ж и З тормозится, через 14 часов после внесения стартовой культуры рН смеси не достигает требуемого значения.

Известно, что при любой форме мастита до появления клинических симптомов происходит изменение качества молока. Причём, характер изменений состава и свойств молока, полученного от коров с клинической и субклинической формами мастита, одинаков.

При описании патогенеза мастита принято позиционировать его как следствие проникновения в молочную железу возбудителей заболевания, чаще всего стрептококков и стафилококков, но проникновение этих микроорганизмов - это следствие действующего на вымя раздражающего фактора, которым является вакуум, использующийся при машинном доении. Он может быть не достаточным - в этом случае молоко остается в вымени и ведет себя как антиген, запуская механизм асептического воспаления, которое затем осложняется микрофлорой, при этом инфицирование вымени происходит галактогенным путем с последующим развитием различных форм мастита; либо вакуум излишен - что приводит к травме сосков и попаданию микроорганизмов через раны на вымени и сосках (лимфатический путь передачи). Патогенез маститов характеризуется нарушением проводимости нервов и переходом нервных окончаний в состояние парабиоза с потерей ферментативной активности, снижением выработки окситоцина и вазопрессина, изменением обмена веществ и трофики тканей молочной железы. Развивающаяся воспалительная гиперемия сопровождается застойными процессами с экссудацией плазмы и эмиграцией форменных элементов крови вследствие повышения порозности стенок

сосудов. В результате этих процессов вокруг очага воспаления создается демаркационная линия и в молочной железе повышается количество клеток лейкоцитарного ряда, определяемых как соматические, что иллюстрирует представленная на рис.7 микрофотография препарата молока животных, больных маститом. С другой стороны, соматические клетки необходимы для становления колострального (пассивного) иммунитета новорожденного и поэтому в небольшом количестве присутствуют в молоке на протяжении всего периода лактации. Спектр данных клеток широк: среди них имеются лейкоциты, макрофаги, миоэпителиальные клетки, эпителиоциты. Находящиеся в молоке лимфоциты обеспечивают клеточный и гуморальный иммунитет, они усиливают иммунный ответ при становлении активного иммунитета [3,4,6].

Одной из важных особенностей клеток лейкоцитарного ряда является их способность к фагоцитозу микробных клеток и их токсинов, с помощью чего реализуется их участие в гуморальном иммунитете.

Фагоцитоз бактерий молока лейкоцитами - нейтрофилами показан на рисунке 8.

На рис.8 показано, как нейтрофилы с помощью псевдоподий (выростов цитоплазмы) поглощают бактериальные клетки, покрытые антителами - иммуноглобулинами. Затем бактерии в фагосомах соматических клеток подвергаются фагоцитозу, т. е. перевариваются с помощью лизосомальных гидролитических ферментов [2].

Таким образом, наличие соматических клеток в молоке имеет физиологическое обоснование, остается лишь вопрос об их допустимом количестве.

С точки зрения использования молока в качестве сырья для молочных продуктов повышение количества соматических в нем нежелательно, так как приводит к нарушению процесса сквашивания молока и снижению безопасности и качества продукции.

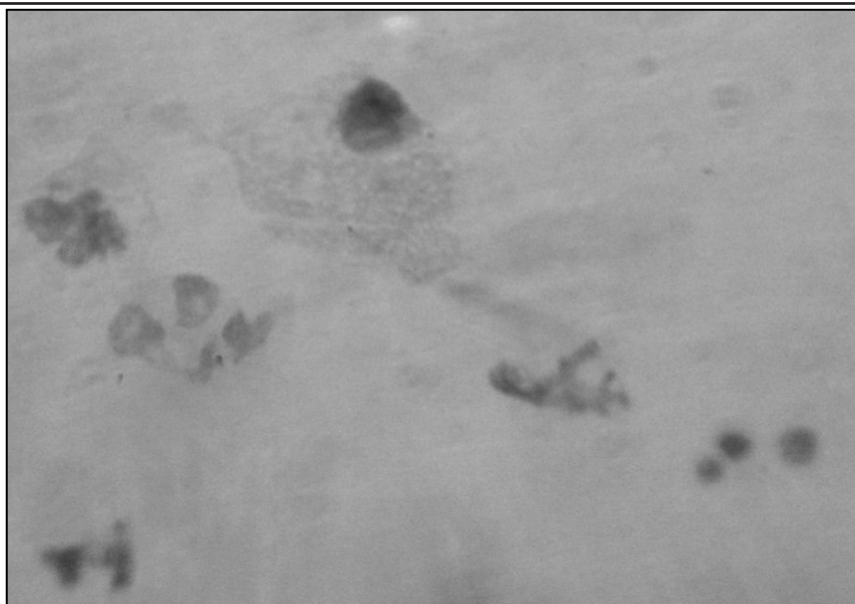


Рис. 7. Соматические клетки в молоке больных животных

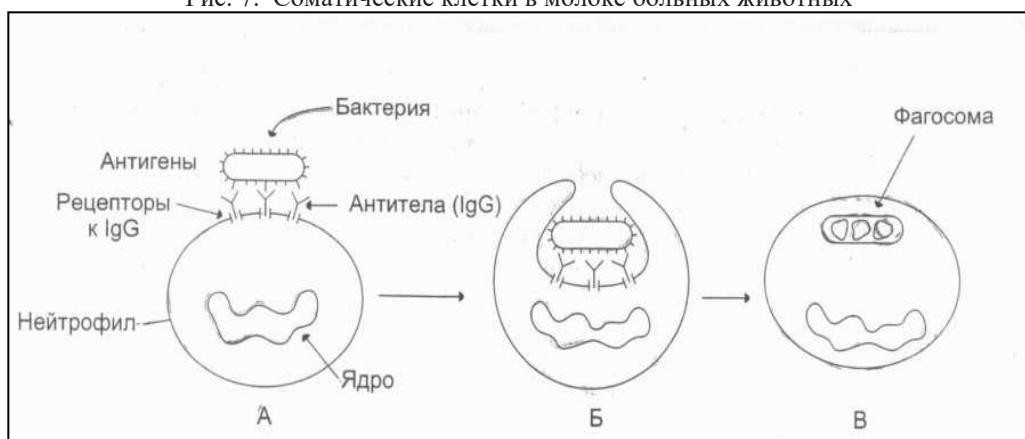


Рисунок 8. Фагоцитоз бактерий лейкоцитом – нейтрофилом: *A* — взаимодействие бактерии, покрытой IgG, с рецепторами нейтрофилов; *B* — поглощение бактерии нейтрофилом; *C* — переваривание бактерии внутри фагосомы нейтрофила [2].

ВЫВОДЫ

1. Соматические клетки влияют на рост заквасочных культур.
2. Для обеспечения процесса сквашивания молока молочнокислыми бактериями число соматических клеток не должно превышать 400 тыс./см³ молока.
3. Оптимальные параметры технологического процесса достигаются при содер-

жании соматических клеток в молоке-сырье менее 300 тыс./см³.

The influence of milk cellular composition on its fermentation capacity

Skopichev V.G., Dmitrieva N.S., Gunkova P.I., Buchillina A.S.

ABSTRACT

Cellular composition of milk charac-

terizes his safety and the ability for processing into dairy products. Somatic cells, represented by leukocytes, macrophages, myoepithelial cells, epithelial cells in small quantities always are present in milk and provide passive immunity of the newborn. The level and composition of these cells reflects the physiological condition of the animal. When the disease of cows with mastitis in the mammary gland, due to various reasons, penetrate the pathogen, most often streptococci and staphylococci. The consequence of mastitis is negative for dairy production changes in the composition and properties of milk secreted. Accumulation in milk of microbial toxins and residues of various drugs makes it unsafe for people. The aim of this work to examine the effect of the number of somatic cells in milk in its most important technological property – the ability to ripen. While conducting experiments used the milk from the cow farms of the Leningrad region and the standard techniques used in industrial laboratories. The results showed the dependence of the activity of the starter cultures from the content of somatic cells in milk. The greatest growth inhibition with increasing in milk the number of cells observed in mesophilic lactic acid *Lactococcus*, as well as from thermophilic *Streptococcus*. During the experimental part revealed that to ensure the process of fermentation of milk with lactic acid

bacteria the number of somatic cells shall not exceed 400 thousand/cm³ of milk, that at such concentration of these cells there is no significant change in the rate of technological process. The optimal process parameters are achieved when the content of somatic cells in milk-raw materials less than 300 thousand/cm³.

ЛИТЕРАТУРА

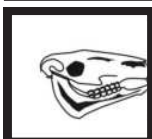
1. Гунькова П.И., Павлов М.С., Скопичев В.Г. Взаимосвязь между микробной обсемененностью, составом коровьего молока, выходом и качеством получаемых из него белковых продуктов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии — 2015. — № 3. — С. 128–132.
2. Гунькова П.И., Горбатова К.К. Биотехнологические свойства белков молока. — СПб.: ГИОРД, 2015. — 216 с.
3. Свириденко Г.М. Микробиологические риски при производстве молока и молочных продуктов. — М.: Издательство Россельхозакадемии, 2009. — 246 с.
4. Скопичев В.Г., Максимок Н.Н. Молоко. — СПб.: Проспект Науки, 2011. — 368 с.
5. Тамим А.Й., Робинсон Р.К. Йогурт и другие кисломолочные продукты. — СПб.: Профессия, 2003. — 664 с.
6. Bhatia J., Greer F. American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Use of soy-protein based formulas in infant feeding // Pediatrics. — 2008. — 121. — P. 1062–1068.

ИНФОРМАЦИЯ

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающимся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения ветеринарных мероприятий при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

Тел/факс (812) 365-69-35, Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49,
e-mail: 3656935@gmail.com



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК: 611.13-08:598.20

МЕТОДИКА ИЗУЧЕНИЯ АРТЕРИАЛЬНОГО РУСЛА ПТИЦ

Прусаков А.В. – к.в.н., доцент кафедры анатомии животных; Щипакин М.В. – д.в.н., доцент кафедры анатомии животных; Вирунен С.В. – к.в.н., ассистент кафедры анатомии животных; Бартенева Ю.Ю. – к.в.н., доцент кафедры анатомии животных, Васильев Д.В. – к.в.н., ассистент кафедры анатомии животных (ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская Государственная академия ветеринарной медицины»)

Ключевые слова: птица, артерия, артериальная система, кровь, кровоснабжение. **Keywords:** bird, artery, arterial system, the blood, the blood supply.



РЕФЕРАТ

Мы предлагаем методику изучения артериального русла птиц, разработанную на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГАВМ. В отличие от млекопитающих, стенка артерий птицы более тонкая и менее прочная. Это необходимо учитывать, чтобы избежать разрыва сосудов при подаче массы в сосудистое русло. У птиц кости таза, грудной, поясничной и крестцовой отделы позвоночного столба полностью срастаются друг с другом, образуя практически единый костный конгломерат. Данное обстоятельство делает практически невозможным осуществить доступ к аорте с дорсальной стороны через рассечение позвоночного столба. Мы предлагаем осуществлять доступ к аорте у птиц с вентральной стороны тела. Для этого труп необходимо положить на спину, сагиттальным разрезом рассечь кожный покров в области кила, оголяя с обеих сторон большие грудные мышцы и мышцы живота. Двумя разрезами ножниц, идущими параллельно позвоночному столбу, рассечь справа и слева ребра, а также коракоидные кости и ключицы, после чего удалить грудину с покрывающими ее мышцами. Проведя такую манипуляцию, получаем доступ ко всем органам брюшной полости, включая сердце. Вскрыв сердечную сорочку, аккуратно оттягиваем сердце вместе с сосудами каудально и катетеризируем начальный участок аорты. При таком доступе травмируются только поверхностная и глубокая грудные, а также межреберные артерии, которые легко легируются. Для инъекции артериальной системы птиц можно применять общепринятые методы.

Предложенная нами методика является универсальной и может применяться не только в научных целях, но и для изготовления учебных препаратов по курсу «Анатомия домашней птицы». Также она может помочь физиологам и патофизиологам при изучении особенностей кровообращения различных органов и тканей у птиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Кадаверный материал для исследования был доставлен на кафедру анатомии животных ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» с ООО "Племенная птицефабрика Лебяжье". Исследование проводили на взрослой птице в количестве 10 особей. При разработке методики изучения артериальной системы у птиц использовали инъекционные методики, включающие инъекцию тушь-желатиновой смесью, вазорентгенографию и методику изготовления коррозионных препаратов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении артериальной системы птицы исследователь сталкивается с рядом трудностей. Во-первых, в отличие от млекопитающих, стенка артерий птицы более тонкая, а, следовательно, и менее прочная. Данную особенность необходимо учитывать, чтобы избежать разрыва сосудов при подаче массы в сосудистое русло в процессе инъекции. В связи с этим качество инъекции невозможно оценить по степени отдачи поршня шприца. Вторая особенность связана с затрудненным доступом к брюшной (спинной) аорте. Так, у птиц кости таза, грудной, поясничной и крестцовой отделы позвоночного столба полностью срастаются друг с другом, образуя практически единый костный конгломерат. Данное обстоятельство делает практически невозможным осуществить доступ к аорте с дорсальной стороны через рассечение позвоночного столба, как это делается у млекопитающих.

Мы предлагаем осуществлять доступ к аорте у птиц с вентральной стороны тела. Для этого труп необходимо положить на спину, сагиттальным разрезом рассечь кожный покров в области кила, оголяя с обеих сторон большие грудные мышцы и мышцы живота. Через прокол за последним ребром в области соединения его позвоночного и стернального участков ввести браншу пуговичных ножниц. Двумя разрезами ножниц, идущими параллельно позвоночному столбу, рас-

сечь справа и слева ребра, а также коракоидные кости и ключицы, после чего удалить грудину с покрывающими ее мышцами. Проведя такую манипуляцию, получаем доступ ко всем органам брюшной полости, включая сердце. Последнее располагается в передней части полости тела. Расширенное основание сердца располагается краниодорсально, а заостренная верхушка направлена каудовентрально и лежит между долями печени. Вскрыв сердечную сорочку, аккуратно оттягиваем сердце вместе с сосудами каудально и катетеризируем начальный участок аорты.

При таком доступе травмируются только поверхностная и глубокая грудные, а также межреберные артерии. Перечисленные сосуды в процессе инъекции без труда можно легировать при помощи гемостатических зажимов. Для инъекции артериальной системы птиц можно применять общепринятые методы, которые используются при изучении сердечно-сосудистой системы млекопитающих. Однако в связи с тем, что стенки артерий у птиц намного тоньше, чем у млекопитающих инъекционные массы следует готовить более жидкой консистенции. Так при использовании метода вазорентгенографии, мы предлагаем в общепринятую массу, состоящую из 1 части свинцового сурика, 8 частей скипидара живичного и 2 частей глицерина, для разжижения добавить еще 3 части скипидара. При использовании методики изготовления коррозионных препаратов мы предлагаем смешивать компоненты пластмассы «Редонт» - порошок и растворитель не в соотношении 1,0:1,5, как это принято при исследовании кровеносной системы млекопитающих, а в соотношении 1,0:2.

Контроль инъекции внутренних органов при использовании вышеописанного метода можно осуществлять визуально по степени заполнения их сосудистых сетей. О качестве инъекции кровеносной системы передней части тела можно судить по степени вытекания массы из вскрытой небной артерии. Степень инъекции задней части тела можно определить

по степени вытекания массы из вскрытых пальцевых артерий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенная нами методика изучения артериального русла птиц является универсальной и может применяться не только в научных целях, но и для изготовления учебных препаратов по курсу «Анатомия домашней птицы». Также она может помочь физиологам и патофизиологам при изучении особенностей кровообращения различных органов и тканей у птиц.

Technique of studying of the arterial course of birds

Prusakov, M. Shchipakin, S. Virunen, Yu. Barteneva, D. Vasilev

ABSTRACT

During the bird arterial system studying the researcher meets some troubles. Unlike mammals artery wall of birds is more thin and less strong. This should be considered in order to avoid vessels rupture when the mass flow into the bloodstream. In the pelvis of birds thoracic, lumbar and sacral regions of the spine are completely grown together, forming almost a single bone conglomerate. This fact makes it almost impossible to access the aorta from the dorsal side of the spinal column through the incision, as it is done in mammals. We offer access to the aorta in birds from the ventral side of the body. To do this, it is needed to put the body on the back, to make sagittal cut of the skin near the keel, exposing large pectoral muscles and the abdominal muscles on the both sides. With two scissors cuts, running parallel to the vertebral column, cut the left and right costae, the coracoids bones and clavicle, and then remove sternum with the covering muscles. After such manipulation, we get access to all of the abdominal organs, including the heart. Opening the heart shirt, gently pull the heart along with the caudal vessels and catheterize the initial portion of the aorta. With such access only superficial, deep pectoral and intercostals arteries are injured, which are readily doped using haemostatic

clips. For the arterial system of bird's injection conventional methods used in the study of the cardiovascular system of mammals can be used. However, due to the fact that the walls of bird's arteries are much thinner than that of mammals, injection must be prepared of a liquid consistency. The proposed method of studying the bird's arterial branches is universal and can be applied not only for scientific purposes, but also for the production of educational products at the course "Anatomy of poultry." It can also help the physiologists and path physiologists during the study of the features of circulation of various organs and tissues in birds.

ЛИТЕРАТУРА

1. Прусаков, А. В. Методика посмертного анатомического изучения артериальной системы головного мозга у животных / А. В. Прусаков // *Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии.* – 2016. - № 2. – С. 123-127.
2. Методика изготовления коррозионных препаратов с применением стоматологических пластмасс / М. В. Щипакин [и др.] // *Вестн. Полтав. державной акад.* - 2014. - № 1. - С. 65 -67.
3. Особенности желчевыводящей системы печени таксы / М.В. Щипакин [и др.] // *Междунар. вестн. ветеринарии.* – 2016. - № 2. – С. 66-70.
4. Основные методики изучения артериальной системы, применяемые на кафедре анатомии животных ФГБОУ ВО СПбГАВМ / А.В. Прусаков [и др.] // *Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии.* – 2016. - № 4. - С. 255-259.
5. Морфологические особенности хода и ветвления бронхиального дерева у кошки домашней, в связи с подразделением легких на сегменты / Прусаков А. В. [и др.] // *Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии.* – 2015. - № 2. – С. 383 – 386.
6. Dyce, K. M. *Textbook of veterinary anatomy* / K. M. Dyce, W. O. Sack, C. J. C. Wensing. - London, 1987. - 820p.

ИЗМЕНЕНИЯ В ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЕ КОСТНОГО МОЗГА У КРОЛИКОВ ПРИ АНЕМИИ

Ковалев С. П., д.в.н., профессор, заведующий кафедрой клинической диагностики; Овсянников А.Г., аспирант кафедры клинической диагностики; Киселенко П.С., к.в.н., доцент кафедры клинической диагностики, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская Государственная академия ветеринарной медицины»

Ключевые слова: кролики, анемия, костный мозг. **Key words:** rabbit, anemia, bone marrow.



РЕФЕРАТ

Наиболее часто встречающейся патологией у растущих кроликов является анемия. Данная патология у кроликов наблюдается в период их интенсивного роста (2-5 месяцев). Авторы изучали патологические изменения у кроликов в костном мозге, обусловленные анемией. Материалом исследований послужили цельных фрагментов мета-эпифизов бедренных костей 10 кроликов с клиническим проявлением анемии. Материал фиксировался в нейтральном забуференном 10% формалине, декальцинация осуществлялась с использованием насыщенного раствора ЭДТА (Трилон Б). Обезвоживание и пропитывание ткани парафином проводилось по общепринятой стандартной методике. Гистологическая проводка осуществлялась с помощью автоматического вакуумного процессора. Обезвоживание осуществлялось с помощью готового раствора Iso-

PREP (БиоВитрум, Россия). Для пропитывания обезвоженной ткани и приготовления блоков применяли среду HISTOMIX.

Изготовленные срезы толщиной не более 4 мкм, которые в дальнейшем депарафинировали, гидратировали, окрашивали гистологическими и гистохимическими методами по общепринятым стандартным методикам. Применялись окраски гематоксилин-эозин, азур-II-эозин, импрегнация серебром, по Массону.

При просмотре препаратов в костномозговых пространствах объем кроветворной ткани не превышал 10-15%. Отмечалась практически полная редукция гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков, выявлялись хаотично располагающиеся без взаимосвязи с макрофагами эритроидные клетки. Кроме того, обнаруживались лакуны с уменьшенным количеством эритрокариоцитов и скопления экстрацеллюлярных эозинофильных масс, также отмечалось снижение количества синусоидальных сосудов костного мозга. У больных животных отчетливо вырисовывалась неоднородность рисунка коллагена костных балок подвздошной кости, свидетельствующая об изменении минерального матрикса трабекул. Также было выявлено снижение содержания коллагена I типа в костных трабекулах, включая зоны прилегания к эндостальным стромальным клеткам.

ВВЕДЕНИЕ

Подъем аграрной отрасли в России в начале нового века затронул и кролиководство. Появились заинтересованные фермеры, увеличилось поголовье живот-

ных в небольших частных хозяйствах. Увеличение продукции кролиководства, является также следствием постепенно увеличивающегося спроса на мясо кролика, оно является диетическим продуктом,

рекомендованным для питания детям, аллергикам и людям престарелого возраста. Мясо кролика выгодно отличается по своему химическому составу от говядины, свинины и баранины более высоким содержанием белка и меньшим жира (1).

Сдерживающим фактором в развитии столь перспективной отрасли являются разнообразные заболевания животных. К числу наиболее встречающихся заболеваний у кроликов многие исследователи относят патологии системы крови, в частности анемии. Данная патология встречается у кроликов в период их интенсивного роста (2-5 месяцев), из-за некачественного кормления животных и содержание в кормах токсичных веществ [1-10]. Целью данной работы являлось изучение патологических изменений у кроликов в костном мозге, обуславливающих развитие анемии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследований послужили цельных фрагментов метаэпифизов бедренных костей 10 кроликов с клиническим проявлением анемии. Материал фиксировался в нейтральном забуференном 10% формалине, декальцинация осуществлялась с использованием насыщенного раствора ЭДТА (Трилон Б) на протяжении 48-72 часов при температуре 37°. Обезвоживание и пропитывание ткани парафином проводилось по общепринятой стандартной методике. Гистологическая проводка осуществлялась с помощью автоматического вакуумного процессора Tissue-Tek Vip 5Jr (Sakura, Япония). Обезвоживание осуществлялось с помощью готового раствора IsoPREP (БиоВитрум, Россия) - абсолютизированный изопропанол 99,7%-ной концентрации с добавкой оксилфеноксиполитоксизтанола (Тритон X15) в соотношении 1:10000. Для пропитывания обезвоженной ткани и приготовления блоков применяли среду HISTOMIX.

Использовали следующий протокол гистологической проводки:

- 4 смены раствора IsoPREP, время экспозиции в каждой смене 1 час;

- 2 смены раствора IsoPREP, время экспозиции в каждой смене 1 час 30 мин;

- 4 смены HISTOMIX, время экспозиции в каждой смене 1 час.

С использованием ротационного микротомы Accu-cut SRM (Sakura, Япония) изготавливали срезы толщиной не более 4 мкм, которые в дальнейшем депарафинировали, гидратировали, окрашивали гистологическими и гистохимическими методами по общепринятым стандартным методикам. Применялись окраски гематоксилин-эозин, азур-П-эозин, импрегнация серебром, по Массону. Все полученные препараты оценивались визуально с помощью микроскопа Nikon Eclipse E200 со встроенной фотокамерой с окуляром x10, при объективах x20, x40. Анализ гистологических препаратов проводился в 20 полях зрения при увеличении 20x для каждого образца.

Контрольную группу составили 5 клинически здоровых кроликов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопическом исследовании гистологических препаратов материал был представлен кортикальной пластинкой и губчатой костной тканью. В костномозговых лакунах обнаруживались элементы трех ростков. Клетки гранулоцитарного ряда были представлены элементами на всех стадиях развития. Молодые предшественники в основном располагались эндостально, а также субэндостально в ассоциации с микрососудами и ретикулярными клетками. Зрелые гранулоциты были диффузно рассеяны среди адипозной ткани костномозговых лакун. Эритрокарициты образовывали островки вокруг макрофагов и вблизи ретикулярных клеток. Мегакариоцитарный росток был сохранен. Ретикулиновый каркас костного мозга при импрегнации препаратов серебром был представлен отдельными тонкими небольшими нитями ретикулиновых волокон, ориентированных в разных направлениях и не имевших пересечений.

В группе больных животных структура костного мозга отличалась от нормы. В костномозговых пространствах объем кроветворной ткани не превышал 10-15%

(рис.1). Отмечалась практически полная редукция гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков, выявлялись хаотично располагающиеся без взаимосвязи с макрофагами эритроидные клетки (рис.2).

Кроме того, обнаруживались лакуны с уменьшенным количеством эритрокариоцитов и скопления экстрацеллюлярных эозинофильных масс, также отмечалось снижение количества синусоидальных сосудов костного мозга.

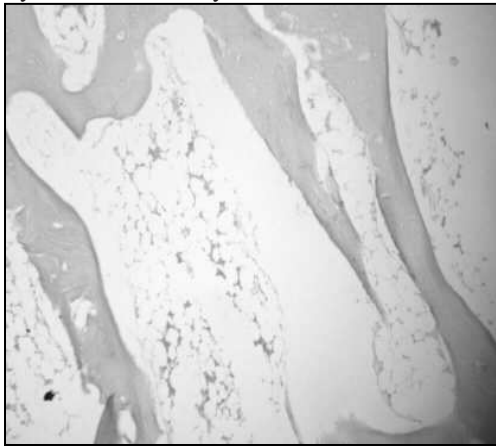


Рис.1. Костный мозг больных животных. Костные балки и гемопоэтическая ткань. Окраска гематоксилин-эозин, ув. 4х.

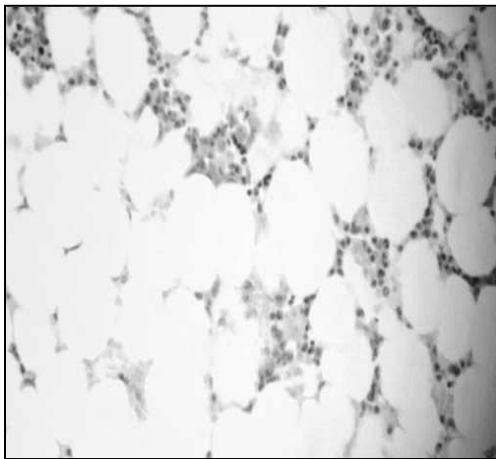


Рис.2. Костный мозг больных животных. Окраска гематоксилин-эозин, ув. 20х.

При изучении костных трабекул с использованием окраски по Массону оценивалось распределение коллагеновых волокон. Как известно белковый матрикс трабекул представлен коллагеном I типа (90%) и 10% неколлагеновыми протеинами. Соотношение белковых компонентов в норме сбалансировано и нарушение содержания одного из них неминуемо ведет к перестройке других. У больных животных отчетливо вырисовывалась неоднородность рисунка коллагена костных балок подвздошной кости, свидетельствующая об изменении минерального матрикса трабекул. Также было выявлено снижение содержания коллагена I типа в костных трабекулах, включая зоны прилегания к эндостальным стромальным клеткам. Это может быть связано с изменением функции эндостальных стромальных клеток, участвующих одновременно в остеогенезе и регуляции развития гемопоэтических предшественников.

В костной ткани также обращало на себя внимание увеличение количества остеоцитов на единицу длины костных трабекул, редукция гранулоцитарного и мегакариоцитарного ростков, нарушение соотношения жировая ткань-гемопоэз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные морфологические исследования кроветворной и стромальной ткани с использованием гистологических методов свидетельствуют о сложных патогенетических механизмах развития нарушений кроветворной функции костного мозга кроликов. Основной находкой при морфологическом исследовании гистологических препаратов костного мозга животных являлись признаки глубокой гипоплазии. При этом затрагивались все линии гемопоэтической дифференцировки – эритроидной, гранулоцитарной, мегакариоцитарной. Это обстоятельство свидетельствует о том, что патогенные факторы действуют на уровне клеток предшественников гемопоэза. Выявленные изменения взаимосвязи клеточных регуляторов эритропоэза с эритроидными клетками могут быть

одним из факторов развития гиперхромной анемии животных.

Changes in bone marrow histology in rabbits by anemia

S.Kovaljev, A.Ovsjannikov, P.Kiselenko
ABSTRACT

The most common pathology of the growing rabbit is anemia. This pathology in rabbits is observed during the period of their intensive growth (2-5 months). The authors studied the pathological changes in rabbits in the bone marrow due to the anemia. Material studies served as integral fragments of metacarpophyses of femurs of 10 rabbits with clinical manifestation of anemia. The material was fixed in neutral buffered 10% formalin, decalcification was carried out using a saturated solution of EDTA (Trilon B). Dehydration and impregnation of the tissue with paraffin was carried out according to conventional standard methods. Histological transaction was carried out by using an automatic vacuum processor. Dehydration was carried out using the prepared solution of IsoPREP (BioVitrum, Russia). For impregnation of the dehydrated tissue and cooking units used environment NTM.

Made the slices not thicker than 4 microns, which further has deparaffinized, hydrated, stained with histological and histochemical methods according to conventional standard methods. Used hematoxylin-eosin, with azure-II-eosin, silver impregnation, Masson.

When viewing the drugs into the marrow spaces of the volume of hematopoietic tissue did not exceed 10-15%. It was observed almost complete reduction of granulocytic and megakaryocyte sprouts, were detected randomly located no interaction with macrophages erythroid cells. In addition, gaps were found with a reduced number of erythrocytes and accumulation of extracellular eosinophilic masses, also noted the decline in the number of sinusoidal vessels in the bone marrow. Patients animals witnessed the heterogeneity of the pattern of bone collagen beams of the Ilium, showing the changes in the mineral matrix to form

trabeculae. It was also revealed the decrease in the content of type I collagen in bone trabecula, including the area of application to endothelium stromal cells.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев, Ю. Г. Ветеринарная клиническая гематология / Ю. Г. Васильев, Е. И. Трошин, А. И. Любимов. – Санкт-Петербург ; Москва ; Краснодар : Лань, 2015. - 656 с.
2. Грюн, П. Кролики / П. Грюн; пер. с нем. – Москва : Астрель : АСТ, 2003. – 128 с.
3. Ковалев, С. П. Нарушение ультраструктурной организации кровяного микроокружения костного мозга у больных анемией телят / С. П. Ковалев // Междунар. вестн. ветеринарии. - 2005.- № 2.- С.71-76.
4. Крячко, О. В. Влияние тимогена на эритропоз при неспецифической бронхопневмонии поросят / О. В. Крячко, О. Д. Долгий // Ветеринария. – 1994. - № 12. - С.10-12.
5. Овсянников, А. Г. Этиология и клиническое проявление анемии у кроликов // Овсянников А. Г., Ковалев С. П. // Вопр. нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2010. - № 4.- С. 93-95
6. Основные синдромы внутренних болезней животных / С. П. Ковалев [и др.]. - Санкт-Петербург, 2013.- 48 с.
7. Практикум по клинической диагностике с рентгенологией : учеб. пособие / Воронин Е. С. [др.]. – Москва : ИНФРА-М, 2014.- 336 с.
8. Симонян, Г. А. Ветеринарная гематология / Г. А. Симонян, Ф. Ф. Хисамутдинов. – Москва : Колос, 1995. - 256 с.
9. Хазимухаметова, И. Ф. Влияние гемобаланса на организм кроликов / И. Ф. Хазимухаметова, И. А. Васильева, Е. А. Шишкина // Животноводство и кормопроизводство. - 2013. - № 8. - С. 57-59.
10. Каюмова, А. F. Effect of dioxin derivatives on erythropoiesis in erythroblastic islands of bone marrow / А. F. Каюмова [et al.] // Organohalogen Compounds. – 1994. – Vol. 21. – P. 291-295.

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕРВНЫХ АППАРАТОВ СЕРДЦА КРЫС РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА С ПОМОЩЬЮ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Чумасов Е.И.1,2, Алексеенко А.Л.1,2, Петрова Е.С.2, Коржевский Д.Э.2,3

1Кафедра биологии, экологии, гистологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская Государственная академия ветеринарной медицины», 2Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 3Кафедра фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий Санкт-Петербургского государственного университета

Ключевые слова: сердце, онтогенез, иннервация, белок PGP 9.5, тирозингидроксилаза, синаптофизин. **Keywords:** heart, ontogeny, innervation, PGP 9.5, tyrosine hydroxylase, synaptophysin



РЕФЕРАТ

Цель работы - исследовать нервные аппараты сердца новорожденных и стареющих крыс, используя иммуногистохимические нейрональные маркеры: белок PGP 9.5 для выявления парасимпатических структур сердца, синаптофизин (СФ) - для выявления

нервных окончаний и ферментный маркер - тирозингидроксилазу (ТН) для идентификации симпатических, катехоламинергических структур. Работа выполнена на новорожденных (P1- P2) и стареющих (18-19 мес) крысах Вистар (n=10). У крыс Вистар 1-2 дня постнатального периода (P1-2) (n=5) и у стареющих крыс (18-19 мес) (n=5) выделяли сердце и фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида. Гистологический анализ проводили на парафиновых срезах толщиной 5-7 мкм. Часть препаратов окрашивали толуидиновым синим. Для иммуногистохимического исследования применяли кроличьи поликлональные антитела к белку PGP 9.5 (PGP 9.5) (1:200, Spring Bioscience, США). Для выявления ТН использовали кроличьи поликлональные антитела (1:1000). Для выявления СФ использовали поликлональные кроличьи антитела (Monosan, Нидерланды). В качестве вторичных реагентов применяли реактивы из набора Super Sensitive Polymer HRP Detection Kit/HRP / Dab (BioGenex, США). Установлено, что в ранний постнатальный период у крыс в основании сердца уже выявляются различных размеров парасимпатические ганглии и отдельные тирозингидроксилаза-содержащие клетки микроганглиев, пучки парасимпатических и симпатических нервных волокон, а также группы хромаффинных клеток. С возрастом во всех изученных отделах сердца заметно снижается плотность нервных сплетений. Выявленные изменения иннервации проявляются в миокарде желудочков. Отмечено отсутствие симпатических нейронов, заметно уменьшается количество ТН-иммунопозитивных аксонов в нервных сплетениях миокарда левого ушка предсердия по сравнению с правой половиной органа. Установлено, что у стареющих крыс сохраняются парасимпатические PGP 9.5- иммунопозитивные ганглии и нервные волокна, при этом холинергическая иннервация преобладает над симпатической.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в экспериментальных и диагностических работах, посвященных изучению иннервации периферических органов, активно применяются специфические иммуногистохимические маркеры для идентификации регуляторных пептидов и нейромедиаторов, свойственных органам ЦНС и ПНС. В наших совместных исследованиях с Лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Института экспериментальной медицины используются современные нейроиммуногистохимические методы на парафиновых срезах [1]. Три из таких маркеров, белок PGP 9.5 (PGP 9.5), синаптофизин (СФ) и тирозингидроксилаза (ТН), апробированные ранее при изучении поджелудочной железы и легкого крысы [2, 4-6], были использованы в настоящем исследовании. Показано, что эти маркеры содержатся преимущественно в цитоплазме нейронов и аксонах ЦНС и ПНС, кроме того, они могут быть использованы в качестве маркера нейроэндокринных клеток. Морфологические особенности иннервации сердца в онтогенезе с применением этих маркеров остаются малоизученными.

Целью работы явилось исследование нервных аппаратов новорожденных и стареющих крыс, используя иммуногистохимические нейрональные маркеры: белок PGP 9.5 для выявления парасимпатических структур сердца, интегральный белок мембран синаптофизин для выявления терминальных окончаний и ферментный маркер - тирозингидроксилазу (ТН) для идентификации катехоламинергических структур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на крысах Вистар (n=10) в соответствии с Приказом Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». У крыс Вистар 1-2 дня постнатального периода (P1-2) (n=5) и у стареющих крыс (18-19 мес) (n=5) выделяли

сердце и фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида [1]. Гистологический анализ проводили на парафиновых срезах толщиной 5-7 мкм. Часть препаратов окрашивали толуидиновым синим. Для иммуногистохимического исследования применяли кроличьи поликлональные антитела к белку PGP 9.5 (PGP 9.5) (1:200, Spring Bioscience, США). Для выявления тирозингидроксилазы использовали кроличьи поликлональные антитела (1:1000). Для выявления синаптофизина использовали поликлональные кроличьи антитела (Monosan, Нидерланды). В качестве вторичных реагентов применяли реактивы из набора Super Sensitive PolymerHRP Detection Kit HRP / Dab (BioGenex, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На препаратах, окрашенных толуидиновым синим по Нисслию, у новорожденных и стареющих крыс легко определялись ушки сердца, предсердия и желудочки, в околосердечной области наблюдались фрагменты главных магистральных сосудов сердца (аорта, легочный ствол, верхние и нижние полые вены), трахеи, лимфатического узла, пищевода, нервные стволы и интрамуральные ганглии. Гистологическое и иммуногистохимическое исследования показали, что у новорожденных крыс морфологические структуры сердца: клапанный аппарат, сосуды микроциркуляторного русла эпикарда и миокарда, нервные элементы, интермиокардиальная соединительная ткань, еще мало дифференцированы и их развитие продолжается. При реакции на PGP 9.5 у новорожденной крысы были выявлены различного строения нервные аппараты. Одни из них представлены относительно крупными ганглиями (от 20-40 нейронов), другие микроганглиями (7-8 клеток), третьи состоят из групп (2-3) нервных клеток. Все клетки являются PGP- иммунопозитивными (PGP+) и окрашиваются в темно-коричневый цвет (рис.1а). Нейроны имеют мультиполярную форму, от тела многих из них отходят отростки, которые, объединяясь, образуют нервные пучки и нервные сплете-

ния. Фрагменты PGP 9.5+ пучков межганглионарного нервного сплетения и связанные с ними микроганглии и группы нейронов находятся, в основном, в рыхлой соединительной ткани среди долек жировой клетчатки между восходящим стволом аорты и легочной артерией, вблизи крупных венозных сосудов, между трахеей и легочными венами.

С помощью иммуногистохимической реакции на TH в этой же области сердца, которая анатомически соответствует основанию сердца, были выявлены также TH-иммунопозитивные (TH+) нервные аппараты. Многие из них представлены нервными стволиками, пучками, располагающимися рядом с сосудами. Часть из них целиком состоит из TH+ аксонов, в то время как другие прослеживаются в составе смешанных пучков межганглионарного сплетения. Интересно отметить, что обособленные TH+ ганглии или микроганглии в околосердечной области практически отсутствуют. Только в одном случае TH+ нервные клетки различной степени дифференцировки, расположенные в виде тяжа, встретились в межганглионарном сплетении (рис.1, б.). Кроме TH+ пучков симпатических нервных волокон и редких симпатических нервных клеток в различных участках межганглионарного нервного сплетения были выявлены TH+ иммунопозитивные мелкие клетки, которые по всем своим признакам сходны с хромаффинными (ХК) нейроэндокринными или так называемыми SIF - мелкими интенсивно флуоресцирующими клетками (рис. 1, в).

Важно отметить, что в отличие от достаточно богато представленной нервными аппаратами присердечной области, где были обнаружены ганглии, микроганглии, нервные столбики, нервные сплетения и ХК, иннервация миокарда предсердий и желудочков еще отсутствует. Только непосредственно под эпикардом предсердий и в меньшей степени желудочков с помощью иммуногистохимической реакции на PGP 9.5 нам удалось наблюдать признаки начала формирования так называемого «поверхностного нервного

сплетения».

В отличие от новорожденных животных в сердце старых крыс (в возрасте 18 –19 мес) выявлено три нервных сплетения. Первое, представленное нервными стволиками и пучками безмякотных и миелиновых волокон, локализовано в области эпикарда, второе - трехмерное сплетение - в миокарде, третье - в эндокарде непосредственно под эндотелием. В них находятся аксоны различной медиаторной природы. Во всех исследуемых нервных сплетениях наблюдаются дистрофические и дегенеративные изменения. В интрамуральном ганглии крысы, расположенном в паравазальной соединительной ткани между аортой и местом впадением верхней полой вены, обнаружены признаки нейродегенерации. Можно видеть гибель части нервных клеток, периаksonальную демиелинизацию, наличие воспалительных мелкоклеточных инфильтратов с увеличенным количеством плазмоцитов. Однако у стареющих крыс еще встречаются в околосердечной области отдельные парасимпатические ганглии, состоящие из крупных интактных PGP 9.5+ нейронов, на телах и отростках которых выявляются с помощью реакции на СФ синаптические нервные окончания в виде бусинок (рис. 1, г). У стареющих крыс в отличие от новорожденных в сердечной области симпатические нейроны не выявлены. С помощью иммуногистохимической реакции на тирозингидроксилазу в одном из ганглиев были выявлены так называемые SIF-клетки, сходные с хромаффинными клетками мозгового вещества надпочечников. У крыс в возрасте 18-19 мес отмечено наличие очаговой денервации клапанного аппарата аорты, миокардиальных волокон в межпредсердной перегородке, в сосочковых нитях, а также уменьшение СФ+ и TH+ терминальных нервных окончаний вокруг гладкомышечных стенок кровеносных сосудов. Установлено, что с возрастом во всех изученных отделах сердца заметно снижается плотность нервных сплетений и изменяется нейро-медиаторный статус. Выраженные изме-

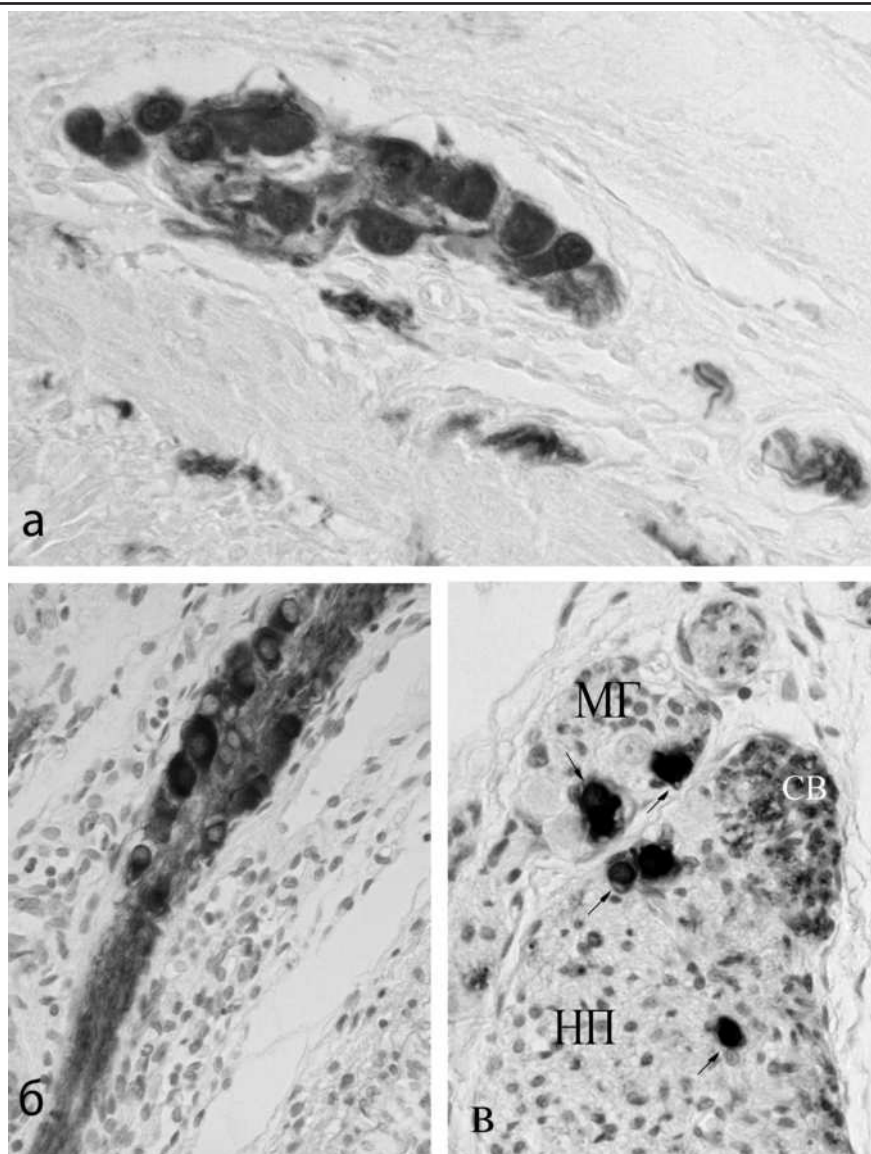


Рис. 1. Нервные структуры в околосердечной области крыс разного возраста. а – нейроны парасимпатического ганглия новорожденной крысы; б – катехоламинергические нейроны в симпатическом нервном стволе; в – хромаффинные клетки в составе микроганглия и нервного ствола новорожденной крысы; г – парасимпатический ганглий в околосердечной области стареющей крысы. Н – тирозингидроксилаза-иммунонегативные парасимпатические нейроны; СВ – симпатические нервные волокна; НП – нервный пучок смешанного типа. Иммуногистохимические реакции на белок PGP 9.5 (а), TH (б, в) и синаптофизин (г), подкраска толуидиновым синим по Нисслию (б,в). Ув.: x400.

нения иннервации проявляются в миокарде желудочков правой и левой частей органа по сравнению с предсердиями. Заметно уменьшается количество ТН-иммунопозитивных аксонов в нервных сплетениях миокарда левого ушка предсердия по сравнению с правой половиной органа. Таким образом, парасимпатические PGP 9.5- иммунопозитивные нервные волокна у стареющих крыс преобладают над ТН-содержащими симпатическими.

Хотелось бы сказать несколько слов о природе описанных нервных аппаратов в околосердечной области. Анализ литературы показал, что выявляемые с помощью реакции на PGP 9.5 элементы относятся к парасимпатическим или холинергическим, а ТН – к симпатическим или катехоламинергическим структурам [4,5]. В работе показано, что у новорожденных крыс в основании сердца уже имеется хорошо сформированный нервный аппарат, представленный преимущественно парасимпатическими и в меньшей степени симпатическими элементами, в отличие от остальной части сердца, где нервные элементы еще отсутствуют.

Другой интересной особенностью является обнаружение в области основания сердца нейроэндокринных хромаффинных клеток, которые, как известно, имеют общее происхождение с симпатическими нервными клетками и образуются из ганглиозной пластинки [3, 8]. Известно, что они вырабатывают катехоламины (норадреналин, дофамин, адреналин) и относятся к симпато-адреналовой системе. Ранее эти клетки были описаны у различных видов взрослых животных (кролик, кошка, собака, человек и др.) в виде небольших долек и тяжей вблизи и внутри парасимпатических ганглиев аортально-пульмональной области, в миокарде предсердий с помощью общегистологических, гистохимических методик, а также электронной микроскопии [3, 7, 9-11]. В настоящей работе ХК обнаружены нами у новорожденных крыс в околосердечной области с помощью двух иммуногистохимических методов в виде неболь-

ших скоплений, групп или по одиночке в составе межганглионарного нервного сплетения. Они выявлены также и у стареющих крыс в составе парасимпатических ганглиев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью иммуногистохимических методов выявления PGP 9.5, синаптофизина и ТН показано, что у новорожденных крыс (P1 – P2) в области основания сердца имеются уже достаточно хорошо сформированные парасимпатические и симпатические нервные аппараты (ганглии, нервные стволы, пучки и сплетения), однако в этот срок иннервация миокарда сердца еще практически отсутствует. Большинство ганглиев и микроганглиев являются парасимпатическими. Адренергические нервные клетки редко встречаются, в основном у новорожденных, основная часть их находится вне органа, в экстраорганных симпатических ганглиях. У стареющих крыс наблюдаются признаки гибели нейронов, демиелинизации и снижения иннервации миокарда, а также встречаются очаговые воспалительные инфильтраты. Кроме нервных клеток и нервных волокон в околосердечной области как новорожденных, так и старых крыс выявлены нейроэндокринные хромаффинные клетки.

Study of the nervous apparatus of the heart of rats of different age by immunohistochemical markers

E. Chumasov, A. Alekseenko, E. Petrova, D. Korzhevsky

ABSTRACT

The aim of this work was to study the nerve apparatus of newborn and aging rats with the help of immunohistochemical neuronal markers: PGP 9.5 protein was used to identify parasympathetic structures of the heart, an integral membrane protein synaptophysin (SPh) was used for identifying terminations and marker enzyme - tyrosine hydroxylase (TH) -to identify catecholaminergic structures. The work was performed on neonatal (P1- P2) and aging (18-19 months) Wistar rats (n = 10). In rats of neonatal period (P1-2) (n=5) and aging rats (18-19 months) (n=5) the heart was removed and fixed in the zink-ethanol-formaline solution. Histological

analysis was conducted in paraffin sections 5-7 microns in thickness. Part of the preparations was stained with toluidine blue. For immunohistochemical study rabbits' polyclonal antibodies to protein PGP 9.5 (PGP 9.5) (1:200, Spring Bioscience, USA) were used. To identify tyrosine hydroxylase (TH) rabbits' polyclonal antibodies were used (1:1000). To identify SPH rabbits' polyclonal antibodies were used (Monosan, the Netherlands). Chemical agents from the set Super Sensitive Polymer HRP Detection KitHRP / Dab (BioGenex, USA) were used as secondary reactive chemicals. It was found that during the early postnatal period in rats at the base of the heart tyrosine hydroxylase-containing ganglion cells, chromaffin cells and sympathetic nerve fibers, parasympathetic nerve fiber bundles and parasympathetic ganglia are already identified. The reduction of the density of the nerve plexus in all compartments of the heart was found in aging rats. Evident changes of innervation were found in the myocardium of the ventricles. In the nerve plexus of the myocardium of the left atrial appendage parasympathetic neurons are absent and the number of TH-immunopositive axons is reduced in comparison with the right side. It was found that in aging rats parasympathetic PGP 9.5-immunopositive ganglia and nerve fibers are preserved and cholinergic innervation prevails over sympathetic one.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Петрова Е.С. и др. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии: руководство. – СПб.: СпецЛит, 2014. – 119с.
2. Коржевский Д.Э., Колос Е.А. Белок PGP 9.5 и его использование в качестве функционального маркера в нейроморфологии // Медицинский академический журнал. 2013. Т. 13. № 4. С. 29-35.
3. Ноздрачев А.Д., Чумасов Е.И. Периферическая нервная система. – СПб.: Наука, 1999. – 281 с.
4. Чумасов Е.И., Майстренко Н.А., Коржевский Д.Э., Довганюк В.С., Петрова Е.С., Прядко А.С. Патогистологические и иммуногистохимические изменения в

тканях поджелудочной железы при кальцифицирующем хроническом панкреатите // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2015. № 2 (50). С. 23-28.

5. Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Коржевский Д.Э. Особенности взаимоотношений нервных аппаратов, островков Лангерганса и кровеносных сосудов в поджелудочной железе крысы // Медицинский академический журнал. 2015. Т. 15. № 3. С. 38-44.

6. Чумасов Е.И., Ворончихин П., Коржевский Д.Э. Эфферентная иннервация сосудов и бронхов легкого крысы (иммуногистохимическое исследование) // Морфология. 2012. Т. 142. № 4. С. 49-53.

7. Швалев В.Н., Сосунов А.А., Гуски Г. Морфологические основы иннервации сердца. М., Наука, 1992. 368с.

8. Huber K. The sympathoadrenal cell lineage: specification, diversification, and new perspectives // Dev. Biol. 2006. V. 298, № 2. P. 335-343.

9. Takaki F., Nakamuta N, Kusakabe T, Yamamoto Y. Sympathetic and sensory innervation of small intensely fluorescent (SIF) cells in rat superior cervical ganglion // Cell Tissue Res. 2015. V. 359, № 2. P. 441-451.

10. Tanaka K., Chiba T. Microvascular organization of sympathetic ganglia, with special reference to small intensely fluorescent cells // Microsc. Res. Tech. 1996. V. 35, № 2. P. 137-145.

11. Kameda Y. Immunoelectron microscopic localization of vimentin in sustentacular cells of the carotid body and the adrenal medulla of guinea pigs // J. Histochem. Cytochem. 1996. V. 44, № 12. P. 1439-1449.



ХИРУРГИЯ

УДК: 617.741-004.1-053.1; 599.742.21; 617-089.844

ОСОБЕННОСТИ ХИРУРГИИ КАТАРАКТЫ У МЕДВЕДЯ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Карпова Е.А. - к.вет.н., старший преподаватель кафедры анатомии, физиологии и микробиологии (ФГБУ ВПО ИрГАУ им.А.А.Ежевского), ветеринарный врач-офтальмолог (ФГБУ Иркутская ГСББЖ); Шантурова М.А., к.м.н., зав. П офтальмологическим (хирургическим) отделением, врач офтальмохирург высшей категории (Иркутский филиал ГУ МНТК микрохирургия глаза им. Академика С.Н.Федорова).

Ключевые слова: медведь, катаракта, факэмульсификация, ИОЛ. **Key words:** bear, cataract, phacoemulsification, IOL.



РЕФЕРАТ

В статье рассматривается клинический случай по поводу хирургии катаракты у бурой медведицы, представлены анатомические и хирургические особенности органа зрения медведя. Операция проведена впервые в России. Глазное яблоко у медведей достаточно мален

ькое по отношению к размерам головы, имеет шаровидную форму, незначительно уплощенное в ростокаудальном направлении, с передним выпуклым и задним – плоским полюсами. По средним анатомическим данным хрусталик у взрослого медведя в норме прозрачный и представляет собой двояковыпуклую линзу, диаметром 9,4 мм, толщиной до 5,2 мм. Капсула хрусталика у медведей представляет собой гомогенную эластическую оболочку, которая по экватору крепится волокнами ресничного пояска венчика к ресничному телу. Светосила глаза медведя составляет 4,3. При первичном осмотре у цирковой годовалой медведицы Марты была диагностирована двухсторонняя зрелая катаракта. Измеренный диаметр роговицы медведицы – 11 мм. Для подборки интраокулярной линзы проведено биометрическое измерение глаза. Глубина передней камеры глаза годовалой медведицы составила 4,77 мм; толщина хрусталика – 3,44 мм; длина оси глаза – 18,8 мм. Внутриглазное давление составило 14-15 мм. Была подобрана гибкая акриловая гидрофобная ИОЛ 40 дптр с желтым фильтром, обеспечивающим защиту сетчатки от УФ-излучения. Операция проведена методом факэмульсификации. Капсула хрусталика складчатая, при катаракте – фиброзно-измененная, хрусталик годовалого медведя имеет размеры детского человеческого хрусталика, оптическая сила линзы равна 40 дптр. Назначено терапевтическое постоперационное лечение – антибиотики, мидриатики, антигипотензивные препараты, корнеропротекторы. Послеоперационное наблюдение и результат показали, что у медведицы восстановилось зрение.

ВВЕДЕНИЕ

Катаракта - физиологическое состояние, связанное с помутнением хрусталика глаза и вызывающее различные степени расстройства зрения вплоть до полной его утраты. Данному заболеванию подвержены все виды млекопитающих и птиц, а также холоднокровных животных [5].

Лечение катаракты только хирургическое и заключается в замене помутневшего хрусталика на интраокулярную линзу (ИОЛ).

Операции по замене катаракты регулярно проводятся у человека, собак, кошек. Однако возникла необходимость оперировать цирковую медведицу.

Подобные операции у медведей были проведены в Азии британскими врачами – офтальмологами Клаудиа Хартли (Claudia Hartley) [6]. Было прооперировано 7 медведей. Из статьи понятно, что медвежий глаз, как и глаза собак, хотя хрусталик имеет меньший размер. В России же подобных операций проведено не было. В статье отсутствуют данные по анатомическим особенностям глаз медведей, размеру и характеристике ИОЛ, о хирургической анатомии, о подобранных линзах и о результатах операции.

Целью работы явилось изучение анатомии и физиологии глаза медведя. Подбор интраокулярной линзы, отвечающей физиологическим требованиям зрения медведицы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биомикроскопическое исследование глаз медведицы щелевой лампой; биометрия А-сканом/пахиметром AL-3000, циркулем marking caliper; измерение внутриглазного давления бесконтактным способом с помощью аппарата «Icare»; хирургия – фактозмюльсификатор; операционный микроскоп с увеличением, интраокулярная линза (ИОЛ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Цирковая медведица Марта в январе 2016 года в составе цирковой труппы под руководством Александра Иванова прибыла в Иркутск. Медведице на это время был один год. Результаты первичного осмотра: при биомикроскопии была диагностирована

на двухсторонняя зрелая катаракта (рис.1).

Реакция зрачков обоих глаз на яркий свет хорошая и быстрая. Дазл-эффект положительный. При осмотре ветеринарного врача-офтальмолога был поставлен

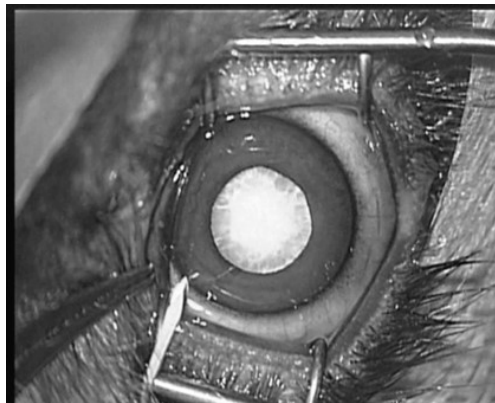


Рис. 1. Зрелая катаракта у медведицы

диагноз – двухсторонняя зрелая катаракта
Анатомические особенности глаза медведя:

Глазное яблоко у медведей достаточно маленькое по отношению к размерам головы. Из органов чувств медведя лучше всего развиты слух и обоняние, зрение – относительно плохо [3]. С.П. Кучеренко [2] указывает: «Слух и обоняние медведя очень остры. А вот глаза очень хорошо приспособлены для рассматривания мелких объектов вблизи – муравьев или гусениц, куколок, а вдаль он видит неважно. Особенно неподвижные предметы».

Глазное яблоко медведя шаровидной формы, незначительно уплощенное в ростокаудальном направлении, с передним выпуклым и задним – плоским полюсами. Для сравнения, у человека диаметр глаза в среднем равен 22-24 мм, у собаки 18-22 мм.

Глаз медведя так же, как и других животных и человека, имеет белочную оболочку или склеру, роговицу, сосудистую оболочку, радужную оболочку, ресничное тело, сетчатку, 4 прямых, 2 косых

Таблица 1
Некоторые средние показатели структур глазного яблока взрослых медведей (мм) [5]

Диаметр глазного яблока в горизонтальной плоскости	17,5 – 18,8
Диаметр глазного яблока в вертикальной плоскости	18,7
Длина оси глаза	18,2
Ширина роговицы глаза в горизонтальной плоскости	14,2
Ширина роговицы глаза в вертикальной плоскости	13,7
Радиус кривизны роговицы	10,2
Толщина роговицы по краю	3,7
Толщина роговицы в центре	3,4
Диаметр зрачка	4,2-5,2
Диаметр хрусталика	9,4
Толщина хрусталика	5,2
Длина кривизны передней поверхности хрусталика	12,0 (6,0)
Длина кривизны задней поверхности хрусталика	11,2 (5,6)
Диаметр зрительного нерва	3,0
Угол бинокулярного зрения	77,0°

глазных мышцы и оттягиватель глазного яблока. К светопреломляющим средам глаза или диоптрическому аппарату относятся роговица, хрусталик, внутриглазная жидкость.

В зрительной части сетчатки глаза медведя выражены все образующие её слои: внутренний пограничный, слой нервных волокон, ганглионарный слой, внутренний сетчатый, внутренний ядерный, наружный сетчатый, наружный ядерный, наружный пограничный и светочувствительный нейроэпителиальный слой, состоящий из палочко- и колбочконосущих эпителиоцитов. Глаза медведя характерны для животных, ведущий ночной и дневной образ жизни, и они не обладают высокой светочувствительностью [1, 4].

Роговица занимает площадь перед-

него выпуклого полюса глазного яблока и представляет бессосудистую, прозрачную часть фиброзной оболочки, богато иннервированную безмякотными и очень тонкими нервными волокнами.

Хрусталик – прозрачная, двояковыпуклая линза, у бурого медведя диаметром 9,4 мм, толщиной до 5,2 мм (см табл.1). Капсула хрусталика у медведей представляет собой гомогенную эластическую оболочку, которая по экватору крепится волокнами ресничного пояса венчика к ресничному телу. При сокращении ресничной мышцы натяжение поясковых волокон ослабляется, хрусталик принимает более выпуклую форму, и зверь видит предметы на близком расстоянии и, наоборот, при натяжении волокон хрусталик по объему становится плоским,

что позволяет зверю видеть предметы на значительном расстоянии.

Стекловидное тело представляет собой прозрачную желеобразную массу с коэффициентом преломления 1,33.

Глаз представляет собой сложную фотооптическую систему. Лучи света, проходящие через эту систему, преломляются и фиксируются на сетчатке. Светосила глаза медведя определяется длиной оси глаза деленной на диаметр зрачка [1] и составляет 4,3.

Рефракция глаза – это преломляющая способность оптической системы глаза, выражающаяся в диоптриях. За одну диоптрию принимается сила линзы с фокусным расстоянием в один метр. Физическая рефракция роговицы глаза медведя составляет 32 дптр, хрусталика – 34,2 дптр, всего глаза в целом – 66,2 дптр [4].

Хирургические особенности глаза медведя: несмотря на имеющиеся данные, подбор ИОЛ проводится строго индивидуально. Более того, было абсолютно неизвестно, какую хирургическую технику применить: факоемульсификацию или экстракапсулярное удаление хрусталика. Все эти вопросы решались в ходе операции.

Диаметр роговицы годовалой медведицы Марты – 11 мм (измерение циркулем marking caliper).

Биометрическое исследование проводят для измерения протяженности биологических структур вдоль оси глаза для расчета интраокулярных линз.

Биометрическое измерение глаза проводили А-сканом/пахиметром AL-3000. Глубина передней камеры глаза – 4,77 мм; толщина хрусталика – 3,44 мм; длина оси глаза – 18,8 мм. Внутриглазное давление составило 14-15 мм.

Учитывая литературные данные и данные биометрии, была подобрана гибкая акриловая гидрофобная ИОЛ 40 дптр с желтым фильтром, обеспечивающим защиту сетчатки от УФ-излучения.

Хирургическая техника катаракты медведя: техника операции по замене помутневшего хрусталика годами отрабо-

тана у людей, собак, кошек. У медведя в России проводили эту операцию впервые.

Сама операция, по большому счету, ничем не отличалась от хирургии человека.

Этапы операции: подготовка операционного поля; 2 парацентеза $d=1,2$ и основной хирургический доступ 2,2 мм; введение мидриатика (мезатон); введение вискоэластика; введение краски; передний капсулорексис; факоемульсификация; постановка ИОЛ; задний капсулорексис; вымывание вискоэластика и введение стерильного воздуха; наложение узловатых швов на роговицу.

Оперировать начали с левого глаза, на котором катаракту диагностировали раньше. Но были некоторые особенности в анатомии хирургии. Во-первых, капсула хрусталика у медведя складчатая, а у данного пациента она фиброзно-изменена (рис.2) и её не удалось снять одним лоскутом, поэтому микро-ножницами переднюю капсулу хрусталика с трёх позиций вырезали.

Хрусталиковое вещество и ядро хрусталика достаточно плотные у медведя, использовали факоемульсификацию. Задняя капсула хрусталика левого глаза также фиброзно-изменена и, учитывая её плотность, задний капсулорексис не провели, т.к. возникла опасность того, что капсула просто треснет. ИОЛ имплантировали с помощью специального картриджа, что не потребовало расширения хирургического разреза. На роговицу медведице наложили узловатые швы нитью нейлон 10,0.

Правый глаз: также фибринозно-изменённая капсула хрусталика и также её не удалось иссечь обычным способом, поэтому делали разрез передней капсулы хрусталика микроножницами. После постановки ИОЛ провели задний капсулорексис (рис. 3).

В правом глазу это удалось сделать, поскольку капсула оказалась более эластичной, чем в левом глазу. На роговицу так же наложили погружные узловатые швы.

Назначено терапевтическое посто-

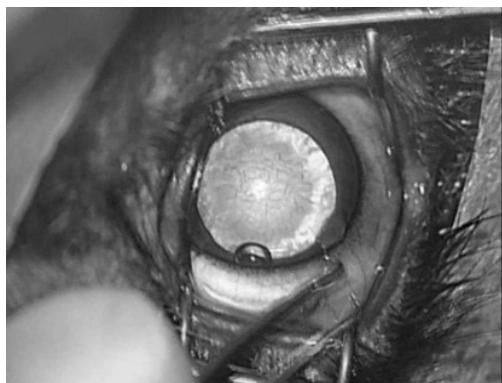


Рис. 2. Передняя капсула хрусталика. Выраженный фиброз и складчатость.

перационное лечение – антибиотики, мидриатики, антигипотензивные препараты, корнеропротекторы.

Послеоперационное наблюдение и результат: медведица чувствует себя хорошо, внутриглазное давление в норме. Медведица прозрела, о чём говорит то, что она с интересом наблюдает за дрессировщиком, за его действиями, ведет глаза за печеньем (любимое лакомство), рассматривает мелкие предметы, не оступается, чего не было до операции.



Рис. 3. Глаз медведицы с установленной ИОЛ. Фотография сразу после операции.

ВЫВОДЫ

Проведение факоэмульсификации у медведей имеет некоторые особенности

анатомические и хирургические. Глаз годовалой медведицы имеет размеры 18,8 мм, это меньше, чем у человека. Глубина передней камеры глаза – 4,77 мм; толщина хрусталика – 3,44 мм; длина оси глаза – 18,8 мм; ИОЛ - 40 дптр. Капсула помутневшего хрусталика складчатая, плотная, фибринозно – измененная, что затрудняет проведение операции и при несвоевременной диагностике замена хрусталика методом факоэмульсификации может быть невозможной.

Внутриглазное давление медведицы после операции, измеренное тем же способом, не изменилось и составило 15 мм на обоих глазах. Таким образом можно предполагать, что нормальное внутриглазное давление у медведя составляет 14-15 мм.

Features cataract surgery a bear (case) . E. Karpova, M. Shanturova ABSTRACT

The article discusses a clinical case about cataract surgery brown bear female, presented anatomical and surgical features of the organ of vision of the bear. The operation carried out for the first time in Russia. Bears' eyeball is quite small relative to the size of the head, it has a spherical shape, slightly flattened in rostrocaudal direction, with the front convex and the rear flat poles. On average anatomical data of the crystalline lens of an adult bear normally transparent and is a biconvex lens with a diameter of 9.4 mm, thickness up to 5.2 mm. Capsule of the lens of bears is a homogeneous elastic shell, which on the equator is fixed by the fibers of the ciliary band of the rim to the ciliary body. Aperture the eyes of the bear is 4.3. At the primary inspection at the circus the year-old bear Martha was diagnosed with bilateral Mature cataract. The measured diameter of the cornea bear – 11 mm. For the selection of the intraocular lens held biometric measurement of the eye. The depth of the anterior chamber of the eye one year old dipper amounted to 4.77 mm; thickness of the lens to 3.44 mm; length axis of the eye is 18.8 mm. Intraocular pressure amounted to 14-15 mm. were chosen flexible hydrophobic acrylic IOL 40 diopters with a yellow filter

protecting the retina from UV radiation. Surgery was performed by phacoemulsification. The capsule of the lens folded, with cataract – fibrous-changed, the crystalline lens is a yearling bear has dimensions of children's human crystalline lens, the refractive power of lenses equal to 40 diopters. Assigned therapeutic postoperative treatment – antibiotics, mydriatics, antihypertensive drugs, corneoprotectors. Postoperative observation and the result showed that bear's vision was restored.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев, Ф. В. К структуре глаза белого медведя / Ф. В. Андреев // Экология, морфология белого медведя. – Москва, 1973. – С. 99-107.
2. Кучеренко, С. П. Звери у себя дома / С. П. Кучеренко – Хабаровск: Хабаров.

книж. изд-во, 1979. - 430 с.

3. Огнев, С. И. Звери Восточной Европы и северной Азии / С. И. Огнев. – Москва; Л., Госиздат, 1931. - С. 63.

4. Шевченко, Б. П. Анатомия бурого медведя / Б. П. Шевченко. – Оренбург, 2003. – 454 с.

5. Veterinary ophthalmology / ed. Kirk N. Gelatt [et al.]. - 5th ed. – [S. l.], WILEY-BLACKWELL, 2013. – 2170 p.

6. I cried every day: British vet's harrowing mission to give sight back to bears blinded in China's cruel "farms" that harvest their bile for medicine [Электронный ресурс]. – Загл. с экрана. - Режим доступа: <http://www.dailymail.co.uk/news/article-2726593/British-vet-giving-sight-bears-rescued-Chinas-unspeakably-cruel-bile-trade.html> (25.12.2016)

ИНФОРМАЦИЯ

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятий при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

Тел/факс (812) 365-69-35, Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49,
e-mail: 3656935@gmail.com



КОНСЕРВАТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ СОБАК ПРИ ДИСГОРМОНАЛЬНЫХ ГИПЕРПАЗИЯХ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ

Суховольский О.К., д.вет.н., профессор кафедры общей и частной хирургии (ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская Государственная академия ветеринарной медицины»)

Ключевые слова: собаки, Ралоксифен, гормонотерапия, дисгормональная гиперплазия, молочная железа. **Key words:** dogs, Raloxifen, hormone therapy, dysgормонаl hyperplasia, mammary glands.



РЕФЕРАТ

В исследование включен материал клинико-морфологического изучения спонтанных новообразований молочной железы у собак различных пород, обследованных и леченных на кафедре общей и частной хирургии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины.

Лабораторные исследования проводятся в лаборатории канцерогенеза и старения ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

При детальном совместном исследовании были изучены все начальные пролиферативные изменения в молочных железах вплоть до развития злокачественных опухолей. Морфологическую оценку опухолей проводили по международной гистологической классификации ВОЗ.

Изучение цитоплазматических рецепторов стероидных гормонов в тканях молочной железы при гиперплазии выполняли по стандартному методу O. Lawry. Для радиоиммунологического определения эстрадиола в сыворотке крови у собак с гиперплазией молочной железы использовали набор меченных гормонов.

В качестве гормонотерапии мы применили новый противоопухолевый антиэстрогенный препарат Ралоксифен (Raloxifene). Дозу и курс лечения назначали в зависимости от породы собак, возраста. Ралоксифен в основном останавливает развитие растущих опухолевых тканей молочной железы, эффективен он при эстрогенозависимых видах опухолей. Воздействуя на опухолевые клетки, он специфически связывается с рецепторами эстрогенов и, таким образом, ингибирует стимулируемый эстрогенами синтез ДНК, что приводит к подавлению репликации клеток. Помимо антиэстрогенных свойств противоопухолевое действие Ралоксифен способствует снижению продукции пролактина, что в свою очередь оказывает положительный эффект при лечении больных животных с повышенной секреторной активностью молочной железы. Кроме того, Ралоксифен обладает превосходными показателями по безопасности различных тканей организма репродуктивных и нерепродуктивных.

Полученные нами совместные результаты проведенных исследований выявили максимальный терапевтический эффект у собак с опухолями молочной железы.

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные новообразования молочной железы у собак занимают лидирующую позицию среди всех опухолей мягких тканей. Собаки являются основной моделью изучения для понимания развития опухолевого процесса злокачественных опухолей молочной железы. Опухоли молочной железы являются лидирующими новообразованиями у собак [1]. Частота данного вида опухолей неуклонно растет в следствии увеличения продолжительности жизни собак. Опухоли данной локализации у собак выше, чем у других домашних животных, они в три раза превышают уровень заболеваемости у людей. Изучение данного вида опухолей у собак в компаративном аспекте с медицинской онкологией позволяет детально изучить этиологию, диагностику, лечение и прогноз для полного понимания развития опухолевого процесса в наиболее распространенных видах опухолей.

Мультистадийные этапы развития опухолей молочной железы не дают до сих пор полной и окончательной картины этиологического фактора. Но основной теорией канцерогенеза является гуморальный фактор, влияние экзогенных и эндогенных воздействий. Новообразования молочной железы у собак встречаются в основном в среднем и старческом возрастном периоде различных пород животных.

Основное значение в развитии новообразований молочной железы у собак на фоне различных воздействий, безусловно, играет нарушение гормонального баланса. Это в свою очередь способствует проявлению характерных ответных реакций, а также изменениям анатомических структур, физиологических функций в репродуктивных органах (тканях – мишенях).

Начальной формой в многоступенчатом развитии рака молочной железы являются дисгормональные гиперплазии молочной железы у собак, которые представляют собой группу доброкачественных заболеваний, частота малигнизации

их бывает довольно высокой при последующем развитии опухолевого роста [2,3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включен материал клинично-морфологического изучения спонтанных новообразований молочной железы у собак различных пород, обследованных и леченных на кафедре общей и частной хирургии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины.

Лабораторные исследования проводятся в лаборатории канцерогенеза и старения ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России.

При детальном совместном исследовании были изучены все начальные пролиферативные изменения в молочных железах вплоть до развития злокачественных опухолей. Морфологическую оценку опухолей проводили по международной гистологической классификации ВОЗ.

Изучение цитоплазматических рецепторов стероидных гормонов в тканях молочной железы при гиперплазии выполняли по стандартному методу O. Lawry. Для радиоиммунологического определения эстрадиола в сыворотке крови у собак с гиперплазией молочной железы использовали набор меченных гормонов.

В качестве гормонотерапии мы применили новый противоопухолевый антиэстрогенный препарат Ралоксифен (Raloxifene). Дозу и курс лечения назначали в зависимости от породы собак, возраста. Ралоксифен в основном останавливает развитие растущих опухолевых тканей молочной железы, эффективен он при эстрогенозависимых видах опухолей. Воздействуя на опухолевые клетки, он специфически связывается с рецепторами эстрогенов и, таким образом, ингибирует стимулируемый эстрогенами синтез ДНК, что приводит к подавлению репликации клеток. Помимо антиэстрогенных свойств противоопухолевое действие Ралоксифен способствует снижению продукции пролактина, что в свою очередь оказывает положительный эффект при лечении

больных животных с повышенной секреторной активностью молочной железы. Кроме того, Ралоксифен обладает превосходящими показателями по безопасности различных тканей организма репродуктивных и нерепродуктивных. Он не провоцирует развитие рака яичников и гиперплазии эндометрия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При проведении данного клинического исследования выявлялись различные изменения в молочных железах. Кистозные формы гиперплазии молочной железы наблюдалась у собак чаще до пятилетнего возраста, с нарушением полового цикла. При осмотре животного в пораженных молочных железах наблюдалась отечность с неровными краями, а также характерные признаки воспалительного процесса. Во время пальпации отмечалась болезненность, при надавливании на сосок появлялись кровянистые выделения. При гистологическом исследовании выявляли образование множественных мелких и крупных кист с застоем секрета.

Средние размеры опухоли до гормонотерапии составили 4,12 см, тогда как после гормонотерапии средние размеры составили 0,48 см. Размеры дисплазий кистозного формы от 0,5 до 1 см рассасывались полностью. При всех размерах кистозных дисплазий в зависимости от породы, возраста выявлялся достоверный терапевтический эффект.

Узловатая форма дисплазии чаще наблюдалась у старых собак. При пальпации она состояла из множества мелких плотных узелков различной величины. При гистологическом исследовании узловатые формы гиперплазии характеризовались разрастанием (пролиферация) железистых и миоэпителиальных клеток.

Средние размеры новообразований до гормонотерапии составили 5,31 см, тогда как после гормонотерапии средние размеры составили 1,28 см. При всех размерах кистозных дисплазий в зависимости от породы, возраста выявлялся достоверный терапевтический эффект.

До гормонотерапии содержание

рецепторов эстрогенов (ER) в гиперплазированных тканях молочной железы было в 1,5 раза выше, чем в нормальной ткани молочной железы. После проведения курса гормонотерапии содержание рецепторов эстрогенов снижалось в 2,5 раза.

У собак с гиперплазией молочной железы уровень эстрадиола в сыворотке крови был в два раза выше по сравнению с контролем, тогда как после применения Raloxifene уровень эстрадиола был ниже, чем в контроле, а после гормонотерапии уровень эстрадиола снижался до уровня контрольной группы. Таким образом, после применения Raloxifene наблюдалось снижение содержания эстрадиола в сыворотке крови.

Под влиянием эстрогенов в молочной железе стимулируется рост секреторных и миоэпителиальных элементов, а также рост протоков [4]. Повышенный уровень гормонального фона также приводит к подобным опухолям яичника, который часто связан с патологическим эструсом и возникновением овариальных кист. Прежде всего, гормонотерапия направлена на уменьшение чрезмерного стимулирующего воздействия эстрогенов на ткань молочной железы, что уменьшает риск развития рака молочной железы у собак.

Гормонотерапия у животных в настоящее время приобретает новое направление в качестве ведущего лечения гормонозависимых новообразований [5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашем исследовании было отмечено, что диффузная гиперплазия не требует серьезных хирургических вмешательств, а узловатая форма гиперплазии может потребовать после гормонотерапии хирургическое вмешательство, т.е. иссечение узлов.

Опухоли молочной железы у собак, уже давно привлекают внимание исследователей. Изучение этих опухолей важно, как для понимания факторов этиологии и патогенеза рака у животных и человека, так и для разработки методов профилактики лечения опухолей. Работы отечественных и зарубежных ученых по-

казывают, что к числу наиболее часто встречающихся новообразований у собак относятся опухоли молочной железы. В отношении этих опухолей нами также получены отдельные данные о возможных причинах их возникновения и развития, а также методах диагностики и лечения новообразований.

**Conservative treatment of dogs at dishormonal hyperplasia of the mammary gland. O. Sukhovolskiy
ABSTRACT**

The article presents research results of spontaneous mammary tumors in dogs of different breeds examined and treated at the Department of General and Specialty Surgery of Saint- Petersburg state academy of veterinary medicine.

Laboratory research was carried out at the laboratory of carcinogenesis and aging at the Federal State Budget Institution "Scientific Research Institute named after N.N. Petrov" of the Ministry of Health of Russia.

Detailed joint examination included the study of all initial proliferative changes in mammary glands up to the development of malignant tumors. Morphological evaluation of tumors was made according to international histology classification adopted by WHO. Cytoplasmic receptors of steroid hormones in mammary gland tissues in case of hyperplasia were studied by standard Lowry's method. For radio-immunological analysis of estradiol in blood serum with mammary gland hyperplasia, the set of labeled hormones was used.

New anti-cancer anti-estrogen drug "Raloxifene" was used for hormone therapy. Dosage and course of treatment was administered depending on the breed of dogs and their age. "Raloxifene" in general stops development of growing tumor tissues in mammary gland, it is also effective in treatment

of estrogen dependent kinds of tumors. It affects cancer cells, binding in a specific way with estrogen receptors and, thus, inhibits DNA synthesis stimulated by estrogen, which leads to suppression of cancer cells replication. Besides, anti-estrogen activity, anti-cancer effect of "Raloxifene" involves decrease of prolactin level, which in its turn has a beneficial effect on treatment of animals with increased secretory activity of mammary gland. In addition to that, "Raloxifene" has excellent safety indicators concerning different body tissues: reproductive and non-reproductive. Joint results obtained in the course of the research work revealed maximum therapeutic effect of "Raloxifene" on the dogs with mammary gland tumors.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sukhovolskiy O.K. et al. Comparative aspects of mammary tumors.// Spontaneous animal tumors. Genova, Italy 1995.- P.255-260.
2. Ogilvie G.K., Moore A.S. Managing the Canine Cancer Patient: A Comprehensive Guide to Compassionate Care.// Veterinary Learning Systems Books. Trenton, NJ, 2006.
3. Суховольский О.К., Забежинский М.А. Классификация опухолей домашних животных по системе TNM. / Методические рекомендации/. Санкт-Петербург 1997г. 39 с.
4. Chang C.C et al. Evaluation of receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors.// J. Am. Vet. Med. Assoc. 2009 Aug 15;235(4):391-6.
5. Thomas Welte et al. Retrieval of Disseminated Tumor Cells Colonizing the Bone in Murine Breast Cancer Metastasis Models.// J. of Mammary Gland Biology and Neoplasia 2015 Aug 21. 125-5.



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЕГУ КАК ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Гайдай Е.А.-биолог, Макарова М.Н.-директор, д.м.н.
ЗАО «НПО» ДОМ ФАРМАЦИИ»

Ключевые слова: доклинические исследования, дегу, биологические тест-системы. **Key words:** pre-clinical studies, degu, the biological test-redundant systems.

РЕФЕРАТ



Обзор посвящен дегу (чилийская белка, *Octodon degus*), обитающим в засушливой зоне предгорья Анд, Чили и Перу, и возможностям использования их в доклинических исследованиях. Этих животных разводят как декоративных, в качестве питомцев, а также широко используют в лабораторных исследованиях.

Интерес к дегу, как лабораторным животным, обусловлен благоприятными зоотехническими характеристиками, некоторыми анатомо-физиологическими особенностями, а также их уникальностью в развитии некоторых патологических состояний, схожих по своему патогенезу с заболеваниями человека. Первые статьи, посвященные дегу, появились в 50-60-х годах 20 века. В них были описаны различного рода паразитарные заболевания дегу.

На сегодняшний день дегу получают все большую популярность в качестве животных для биомедицинских исследований. В частности, нетерпимость к сахару, отмеченная у этих животных, позволяет проводить на них исследования по сахарному диабету и изучать влияние новых фармацевтических субстанций на развитие этого заболевания. Весьма важным аспектом здесь является то, что этот вид животных демонстрирует развитие сахарного диабета 2-го типа, что чрезвычайно трудно достичь на других моделях этого заболевания. Интересен этот вид животных и при изучении систем детоксикации печени, поскольку содержание микросомальных ферментов и цитохрома Р-450 у дегу оказалось в 4 раза выше, чем у крыс. Также дегу используют для моделирования болезни Альцгеймера, что связано, с формированием у них на 3-4 году жизни 3-х патогномных признаков этого заболевания.

Все вышесказанное позволяет рассматривать дегу, как перспективный вид лабораторных животных в фармакологических исследованиях.

ВВЕДЕНИЕ

Дегу - представители семейства *Octodontidae* (Восьмизубые), ископаемые остатки которых известны с позднего олигоцена. Семейство является эндеми-

ком Южной Америки и включает в себя 13 видов, объединяемых в 8 родов. Восьмизубые обитают в сухих низменностях и горах Перу, Боливии, Аргентины, Чили и поднимаются в горы до 4000 м над уров-

нем моря. Представители данного семейства хорошие землерои, они строят сложные системы нор и открытых туннелей. Часто селятся колониями. Большинство ведет ночной образ жизни.

Класс: Mammalia (Млекопитающие), Отряд: Rodentia (Грызуны), Подотряд: Hystricomorpha (Дикобразообразные), Инфраотряд: Caviomorpha, Семейство: Octodontidae (Восьмизубые), Род: Octodon, Вид: Octodon degus Molina, 1782.

Дегу один из наиболее распространенных видов млекопитающих центральных районов Чили и являются сельскохозяйственными вредителями. Обитают в засушливой зоне предгорья Анд, Чили и Перу на высоте 1200 м над уровнем моря. В отличие от других восьмизубых они активны в дневное время [13].

Несмотря на то, что дегу используют в биомедицинских исследованиях более 40 лет, системная оценка анатомии и физиологии этих животных практически отсутствует.

Строение дегу сходно с другими грызунами, используемыми в лабораторных исследованиях. В большей степени они сходны с белками. Средняя длина тела взрослых животных 25 – 31 см, длина хвоста может составлять от 7,5 до 13 см. Вес тела изменяется от 170 до 300 грамм. Голова слегка клиновидная, хорошо выражена, нос плоский, уши средних размеров, округлые. Вибриссы подвижные и достаточно длинные. Шея коренастая и короткая, постепенно переходит в изогнутую спину. Передние лапки грызуна несколько короче, чем задние, видоизмененные когти по внешнему виду похожи на ногти приматов.

Мех более короткий и жесткий, чем у других представителей семейства. Окрас однородный, коричнево-серый, иногда присутствует оранжевый оттенок, брюшко окрашено в кремово-желтый цвет. Хвост покрыт короткой жесткой шерстью и заканчивается кисточкой (характерная особенность рода восьмизубых) [7].

Диплоидный набор хромосом дегу

равняется 58. Инбредные или уникальные линии отсутствуют. Филогенетический анализ представителей надсемейства Octodontoidea показал, что род Octodon является монофилетическим [8].

У дегу 8 пар жевательных зубов и 2 пары резцов, растут зубы всю жизнь, как и у всех грызунов. Щечные зубы по форме напоминают «восьмерку», эта особенность лежит в основе родового названия этих животных [9].

Желудок дегу имеет те же отделы, что и у человека, но отличается меньшей вариативностью формы, которая может быть расценена как крючковидная у крысы, у морской свинки имеет вид деформированного рога, а у дегу больше всего напоминает желудок морской свинки, но относительно шире и занимает меньше места в брюшной полости [1].

В естественных условиях дегу питаются, в основном, растительной пищей: травой, цветками, кустарниками, листьями и семенами. В период зимы дегу питаются в основном сухими листьями, сеном и зернами [8].

В лабораторных условиях дегу нуждаются в строгом соблюдении рациона. Дегу – травоядные животные, их рацион должен быть максимально приближен к природному. В 2012 году международной командой DIC (Degus International Community) была разработана видовая сбалансированная диета для дегу SAB (species-appropriate and balanced). Основную часть рациона (80%) составляет зелень (преимущественно наземные части растений: травы, сорняки, дикие и садовые цветы, листья овощей, листья деревьев), в свежем виде предпочтительнее, чем в засушенном. 20% по SAB составляют семена, со сбалансированным содержанием фосфора и кальция: анис, тмин, сельдерей, чиа, чина посевная, горошек посевной, льняное семя, конопляное семя, желтая горчица, подорожник, мак, рапс, кунжут, кориандр, укроп, фенхель, калинджи. Все зерновые и псевдозерновые семена (амарант, ячмень, гречневая крупа, просо, овсяное зерно, лебеда, пшеница) не подходят для дегу. Они содержат

очень мало кальция и много крахмала. В качестве дополнения в рацион дегу могут входить овощи (морковь, огурец, свекла, баклажан, перец, цветная капуста, кабачок, помидор). Важнейшим элементом в питании дегу является сено. Наилучшим считается злаковое. Такое сено наиболее питательно и содержит необходимые минеральные вещества – кальций и фосфор. В качестве добавки можно использовать сено из бобовых растений (люцерна, вика, клевер и т.д.). Также, в рацион необходимо добавлять витамин D, необходимый для здоровья костей и зубов.

Для питания дегу не подходят готовые корма для других животных. Следует также исключить сладкие фрукты (в том числе «несладкие» яблоки) и орехи, если не стоит задачи формирования сахарного диабета и сопутствующих ему заболеваний. Кроме этого, дегу являются копрофагами. За суточный период они съедают около 38% фекалий, преимущественно в ночное время.

В естественных условиях дегу получают воду из потребляемой пищи. В условиях лаборатории воду необходимо давать *ad libitum*. Исследования Мичиганского университета показали, что взрослые животные потребляют около 23 мл воды в сутки [8].

Содержание дегу, как и других видов лабораторных животных в условиях экспериментального вивария и питомника должно соответствовать ветеринарно-санитарным требованиям и нормам [4]. Очень важно соблюдать режим дня для дегу – 12:12 часов (день/ночь) и поддерживать постоянство условий окружающей среды (температура воздуха = 20° С±2°С, влажность воздуха ≈30-60%). Животные тяжело переносят высокую температуру и могут страдать от потери жидкости в следствие перегревания, что связано со слабой способностью к терморегуляции [8].

Беременность у дегу относительно длительная и продолжается около 3 месяцев. Это обусловлено тем, что малыши рождаются с необычно высокой степе-

ню развития. В помете, как правило, бывает от 1 до 12 детенышей. Дегу рождаются с открытыми глазами и ушами, шерстью и подшерстком, зубами. Сенсорные системы новорожденных настолько развиты, что они могут реагировать на знакомые и новые стимулы окружающей среды уже от рождения. Дегу могут ходить уже через 3-4 часа после рождения, сидеть на корточках, вставать в вертикальное положение и издавать звуки.

Отлучение потомства от матери возможно через 6-7 недель. До этого времени самка вскармливает детенышей молоком. После третьей недели жизни постепенно можно включать в рацион детенышей твердую пищу. Во время процесса отлучения происходит постепенная замена ферментов лактазы (использующихся для переваривания молока) на ферменты сахаразы (для переваривания твердой пищи). Этот процесс протекает очень медленно, поэтому крайне важно, чтобы детеныши питались материнским молоком минимум 3 недели.

Определенных рекомендаций по размерам клеток, для содержания дегу в лабораторных условиях, нет. Допускается использование как поликарбонатных, так и решетчатых клеток. До отъема потомства, животных следует содержать в просторных высоких клетках, насколько позволяет пространство. После, животных можно содержать в клетках поменьше, по 2-3 сиблинга одного пола [8]. В качестве подстилки рекомендуется использовать кукурузные гранулы. Также, в клетке дегу необходимы домик, где животные могли бы прятаться и материал для устройства «гнезда»: лоскутки ткани, мелкие веточки, солома. Для реализации двигательной активности необходимо поставить беговое колесо.

Использование дегу как биологической тест-системы подразумевает контакт с животным при выполнении различных манипуляций. Существует ряд особенностей в работе с этим видом лабораторных животных.

При осмотре дегу не следует брать за хвост. Животное вывернется и в руках

оставит участок хвоста (рис.1), причем ровно от места захвата. Эта природная адаптация к защите от многочисленных хищников сходна с адаптацией некоторых рептилий, однако, в отличие от них, хвост дегу останется обрубком. Животное нужно брать «зачерпывая» двумя руками или с помощью совка. Для осмотра животного наиболее удобным будет использование совка или иного приспособления с прозрачной поверхностью (рис.2).

Дегу ведут себя беспокойно, когда у них под ногами нет твердой поверхно-



Рис.1 Поврежденный кончик хвоста дегу

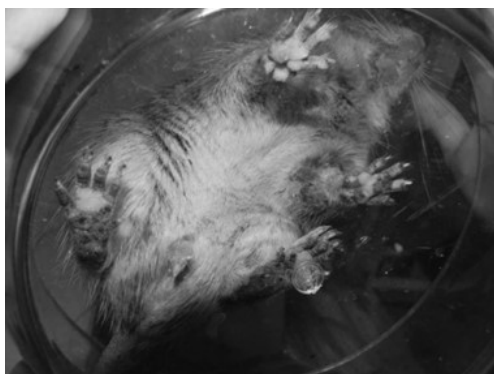


Рис.2 Осмотр дегу

Для идентификации животных лучше всего подойдут следующие методы: чипирование, тату или перфорация

ушных раковин [3]. Подкожные инъекции осуществляются в складку в области холки животного. Для проведения внутрибрюшинных инъекций животное берет за задние лапы и приподнимает таким образом, чтобы передние лапы оставались на твердой поверхности или цеплялись за решетку клетки. Для облегчения работы с данным видом животных используют удерживающие устройства: трубы из оргстекла, в которых животное не может свободно переверачиваться; мелкосетчатые решетки для частичной изоляции животных внутри клетки, а также инъекционные или ингаляционные анестетики. Для эвтаназии дегу используют CO₂-камеру или введение высоких доз анестетика [2].

Зоотехнические характеристики этих животных являются благоприятными для использования в лабораторных целях. Продолжительность жизни позволяет проводить длительные исследования. Основные зоотехнические показатели дегу, в сравнении с другими животными, представлены в таблице 1.

Кровеносная система дегу сходна по строению с морскими свинками. У них имеется чревобрыжеечный ствол, который начинается около аортального отверстия диафрагмы и дает начало чревной и краниальной брыжеечной артерий. После отхождения обычных ветвей чревной артерии остается краниальная брыжеечная артерия. Чревобрыжеечный ствол отсутствует у белкообразных (*Sciuromorpha*) грызунов и, в отличие от них, у морских свинок и дегу есть краниальная брюшная артерия, которая снабжает кровью поперечные и косые мышцы живота. Сердце дегу клиновидное, находится в грудной полости, между легкими, больше смещено влево от средней линии с образованием сердечной вырезки на вентральном крае левого легкого [1].

В таблице 2 представлены показатели биохимического и клинического анализов крови дегу, полученные исследователями Мичиганского университета [11].

Таблица 1
Сравнительные зоотехнические характеристики разных видов лабораторных животных

Параметр/Вид	Дегу	Хомяки	Кролики	Морские свинки	Крысы	Мыши
Продолжительность жизни (годы)	6-8	2-3	5-7	4-6	2-3	1-2,5
Вес взрослых самцов (г)	170-300	30-50	2500-3500	550-1200	200-400	20-35
Вес взрослых самок (г)	170-210	30-40	2500-3500	450-900	180-250	20-35
Вес при рождении (г)	14	1,5-2,5	40-60	90-120	5-6	1-1,5
Продолжительность беременности (дни)	90-95	16-19	28-35	59-72	21-23	19-21
Средний размер помета (число голов)	1-12	6-12	3-12	1-2	11	6
Ректальная температура (°С)	37,9	38-38,5	38,5-39,5	37,5-39,5	37-38	38,5 -39,5

Таблица 2
Показатели клинического и биохимического анализов крови

Показатели	Ювенильные	Взрослые
Лейкоциты ($\times 10^9$ /л)	2,0 - 12	3,5 - 14
Лейкоформула	Лимфоциты, %	33 - 85
	Моноциты, %	0,0 - 5
	Эозинофилы, %	0,0 - 8
	Базофилы, %	0,0 - 2,0
Эритроциты ($\times 10^{12}$ /л)	4,7 - 9	5,3 - 9,9
Гемоглобин, г/л	89 - 134	99 - 131
Гематокрит, %	32 - 51	37 - 50
Тромбоциты ($\times 10^9$ /л)	57 - 896	223 - 530
Аланинаминотрансфераза, МЕ/л	13 - 107	9,6 - 48
Аспартатаминотрансфераза, МЕ/л	10 - 193	19 - 138
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	168 - 1078	41 - 106
Лактатдегидрогеназа, ЕД/л	35 - 1934	313 - 894
Мочевина, ммоль/л	11 - 22	6,6 - 15
Креатинин, мкмоль/л	34 - 87	30 - 77
Холестерин, ммоль/л	1,8 - 4,9	1,2 - 2,7
Триглицериды, ммоль/л	0,01 - 4,5	0,44 - 4,9
Общий билирубин, мкмоль/л	0,9 - 5,4	0,9 - 5,40
Глюкоза, ммоль/л	5,6 - 14	5,4 - 13
Кальций, ммоль/л	2,7 - 3,7	2,01 - 2,96
Натрий, ммоль/л	132 - 157	123 - 151
Калий, ммоль/л	2,9 - 8,1	3,1 - 4,7
Общий белок, г/л	47 - 74	46- 78
Альбумины, г/л	29 - 35	19 - 45
Глобулины, г/л	13 - 53	17 - 48
Отношение альбумины/глобулины	0,66 - 2,50	0,40 - 2,58

В показателях биохимического и гематологического анализа крови дегу наблюдаются некоторые отличия от человеческих данных. Так у дегу наблюдается склонность к эозинофилии, количество этих клеток у дегу в норме может составлять до 12%, в то время как у человека эта величина не должна превышать 5%. Также есть некоторые различия в количестве тромбоцитов: у дегу, верхняя граница нормы до 530×10^9 кл/л, у человека эта величина не должна превышать 360×10^9 кл/л. Остальной клеточный состав крови существенных отличий от человека не имеет. Дегу имеют в норме широкий диапазон активности лактатдегидрогеназы, в то время, как у человека он существенно уже. Уровень триглицеридов в плазме крови у дегу в норме может достигать 4,9 ммоль/л, у человека верхний предел по этому показателю составляет не более 1,7 ммоль/л. Уровень билирубина у человека может колебаться в широком диапазоне от 1,1 до 18,8 мкмоль/л, у дегу отмечены колебания от 0,9 до 5,4 мкмоль/л, что, вероятно, напрямую связано с их рациональным питанием. Наиболее выраженные отличия в биохимическом профиле дегу отмечены для уровня глюкозы крови. Для человека этот показатель в норме не должен превышать 5,5 ммоль/л, у дегу уровень глюкозы находится в диапазоне 5,4-13 ммоль/л, что, вероятно, связано с пониженным содержанием инсулиновых рецепторов [6].

Первые статьи, посвященные дегу, появились в 50-60-х годах 20 века. В них были описаны различного рода паразитарные заболевания дегу: *Echinococcus granulosus*, *Toxoplasma gondii*, *Linguatula serrata* и др [7].

С 1970х гг. активно изучались физиология, гистология, онтогенез, эмбриогенез, поведенческие особенности, генетика дегу, большое внимание уделено исследованиям отделов головного мозга. Уделялось особое внимание изучению связи заботы о потомстве с развитием отделов головного мозга, роли запахов в жизни дегу и другим физиологическим процессам.

На сегодняшний день дегу получают все большую популярность в качестве животных для биомедицинских исследований. Распространенность применения дегу в лабораторной практике растет с каждым годом, перечень основных исследований представлен в таблице 3.

С 1990 года началось активное изучение сахарного диабета на дегу, как на животных с природной предрасположенностью к этому заболеванию.

Низкая метаболическая активность и пониженное содержание инсулиновых рецепторов стали причиной природной нечувствительности дегу к инсулину (инсулинрезистентность). Видовая непереносимость глюкозы связана с различиями в биологической активности инсулина (у дегу активность инсулина составляет от 1 до 10% в отличие от других млекопитающих) и общей функциональной недостаточности их поджелудочной железы. Как и у человека, у дегу развивается амилоидоз и гиперплазия островков Лангерганса, что характерно для сахарного диабета II типа и инсулиномы.

Сахарный диабет редко развивается у дегу в их естественной среде обитания. Это связано с их естественным рационом (пища с низким содержанием углеводов и богатая протеинами). В лабораторных условиях даже небольшие изменения в потреблении углеводов приводят к развитию постоянной гипергликемии и гликозурии.

Способ развития сахарного диабета у дегу в лабораторных условиях довольно простой – достаточно свести к минимуму пищевое разнообразие и ввести большое количество сладких фруктов в рацион. Кроме этого, ускорить процесс можно путем введения стрептозотоцина [5].

Также этих животных используют для изучения роли ангиотензина при диабетическом сахарном диабете [5].

Еще одним интересным заболеванием, сопряженным с сахарным диабетом, является катаракта. Дегу имеют физиологически увеличенную деятельность редуказы альдостерона в хрусталике. Этот фермент превращает глюкозу в сор-

Таблица 3

Распространенность использования дегу в биомедицинских исследованиях

Модель/ патология	Ссылка	
	Автор	Год
Сахарный диабет и катаракта	Ardiles A. et al.	2013
	Hellman U. et al, Nishi M., Steiner D.F.	1990
	Wright J.W. et al.	1984, 1987
	Varma S.D. et al.	1977
	Worgul B.V., Rothstein H.	1975
Атеросклероз	Tannock L.R., King V.L., Homan R. et al.	2010
Болезнь Альцгей- мера	Steffen J. et al, Rivera D.S., Bozinovic F.	2016
	Roychaudhuri R. et al	2015
	Braidly N. et al	2015, 2012
	Inestrosa N.C. et al	2015, 2005
	Ríos J.A. et al	2014
	Ardiles A. et al, Tarragon E. et al	2013
Инфекционные заболевания	Chacón F. et al	2016
	Botto-Mahan C. et al	2015
	Campos R. et al	2007
	Boralevi F. et al	2003
	Miles M.A. et al	1984
	Apt B.W. et al	1978
	Babero B.B., Cattani P.E.	1975
	Alvarez V.	1960
	Neghme A. et al.	1956
	Christen R., Thiermann E.	1953
Изучение разви- тия плаценты	Mess A. et al, Bosco C., et al.	2007
Циркадные рит- мы	Governale M.M.	2001
	Goel N., Lee T.M.	1996, 1995

бит, который увеличивает осмотическое давление и приток воды в хрусталике, а при высокой концентрации глюкозы приводит к катаракте. В лабораторных условиях для формирования модели катаракты у дегу можно использовать животных со стрептозотоцин-индуцированным диабетом [8, 7].

В 2010 и 2012 годах проводились исследования атеросклероза на Octodon degus. У дегу сходный с человеком метаболизм липопротеинов, последние данные показывают, что у дегу может развиваться атеросклероз при потреблении

пищи с высоким содержанием холестерина за 16 недель (таблица 4) [10].

С 2005 дегу стали объектом изучения болезни Альцгеймера. Патологические признаки болезни Альцгеймера у дегу основаны на высокой гомологии (97%) с бета-амилоидами человека. В возрасте около 3-4 лет наблюдается запасание бета-амилоидов в стенках кровеносных сосудов у 80% животных от общей популяции, затем, в возрасте 6 лет, происходит запасание бета-амилоидов в гиппокампе. Кроме этого, у дегу «в возрасте» наблюдается внутриклеточное накопление тау-протеина и убиквитина,

сильный астроцитарный ответ и высокое содержание ацетилхолинэстеразы в пирамидальных нейронах, что является признаками развития спорадической болезни Альцгеймера [6]. Таким образом, можно говорить, о том, что у дегу развивается болезнь Альцгеймера, что находит свое отражение в трех патогномоничных признаках этого заболевания.

В 2012 году группой ученых университета Вальпараисо были предложены и проведены поведенческие тесты на дегу разного возраста, для выявления признаков болезни Альцгеймера. С помощью тестов анализировали кратковременную память (через распознавание объектов) и пространственную память.

Кратковременную память оценивали при помощи открытого поля. Каждый тест состоял из трех этапов по 180 секунд:

«Осваивание». В установку помещали пару идентичных объектов (например, небольшие кубики), которые исследовало животное.

«Задержка». Животное удаляли из установки, объекты очищали и один из них заменяли на иной, отличающийся по форме и размеру, таким образом, в установке оставался один знакомый объект (FO – familiar object) и один новый объект (NO – novel object).

«Узнавание». Животное помещали обратно в установку, где находилась пара различных объектов. Регистрировали общее количество посещений объектов, время до первого посещения любого объекта, время исследования нового объекта (NO), время исследования знакомого объекта (FO) и общее время изучения объектов. По полученным результатам рассчитывали индекс предпочтения (PI – preference index) по формуле: $PI = NO / (NO + FO)$.

В норме, животное должно тратить больше времени на изучение незнакомого объекта.

Работу пространственной памяти оценивали при помощи Т-образного лабиринта, с использованием тренировочного протокола поиска «вознаграждения» в течение 12 дней. Каждая сессия состоит

из 10 испытаний, каждое из которых разделено, в свою очередь, на 3 этапа по 60 секунд:

1. «Вынужденный выбор». Животное помещали в Т-образный лабиринт, где один рукав был закрыт перегородкой, а в открытом рукаве не было поощрения.

2. «Запоминание». Животное помещали в лабиринт, где, закрытый на первом этапе, рукав был открыт. При посещении этого рукава животное получало поощрение в виде семян подсолнечника.

3. «Свободный выбор». На данном этапе оба рукава были открыты. При помещении в лабиринт корректным поведением животного считали посещение рукава, закрытого на первом этапе, где животное получало «вознаграждение». На данном этапе регистрировали время (сек) перед первым заходом в рукав с «вознаграждением» и после количество посещений этого рукава [6].

Дегу интересны для изучения инфекционных заболеваний. На грызунах, в том числе и дегу, изучалась гельминтофауна Чили. Активно изучается эпидемиология болезни Шагаса (Чагаса), возбудителями которой являются *Trypanosoma cruzi* и волчанкоподобной инфекции, индуцированной *Trichophyton mentagrophytes*, так как дегу являются переносчиками данных возбудителей. Кроме того, будучи домашними животными, они могут представлять угрозу заражения человека [7].

Плацентарная недостаточность остается одним из самых распространенных осложнений беременности. Это состояние развивается примерно у 24% будущих мам. При привычной потере беременности плацентарная недостаточность встречается в 50-77% случаев. Для экспериментального изучения этой проблемы и путей ее решения используют лабораторных животных. Плацента дегу, также как и плацента человека, является гемохориальной с одним синцитиальным слоем трофобласта, т.е. они принадлежат к одному типу и имеют одинаковое строение плацентарного барьера.

Таблица 4

Показатели липидного и углеводного обмена у дегу при сбалансированном питании и питании с высоким содержанием холестерина и пальмового масла на протяжении 16 недель

Показатели	Сбалансированное питание		Питание с высоким содержанием холестерина и пальмового масла	
	Самки	Самцы	Самки	Самцы
Общий холестерин (ммоль/л)	5,1±0,3	5,3±0,5	23±3	27±3
Свободный холестерин (ммоль/л)	1,1±0,1	1,1±0,3	4,3±0,6	5,1±0,7
Эфиры холестерина (мг/дл)	156±10	161±15	717±78	843±100
Триглицериды (ммоль/л)	1±0,1	1,4±0,25	0,5±0,11	0,6±0,1
Фосфолипиды (мг/дл)	253±18	250±20	364±27	455±28
Глюкоза (ммоль/л)	13±1	16±2	12±0,6	13±0,4

Несмотря на имеющиеся структурные отличия между плацентами человека и дегу, связанные с характером материнского кровообращения, дегу используют в качестве объекта для исследования закономерностей морфогенеза и воздействия различных факторов на плаценту.

Изучение циркадных ритмов (ритмов день/ночь) на дегу связано с тем, что они имеют сходную с человеком суточную активность и температурный режим, включая разницу в индивидуальной активности и по половому признаку. Эти исследования включают оценку сна, влияние социальной активности, стресса, гормонов на восстановление фазовых сдвигов циклов дня и ночи, известное как «джетлаг» (Jet-lag) или синдром смены часового пояса [8].

Кроме перечисленных заболеваний, дегу также могут быть использованы и при моделировании других патологий. Так при сравнительном изучении обмена веществ дегу и крыс линии Wistar обнаружилась высокая толерантность дегу к морфину. Это было связано с тем, что содержание микросомальных ферментов и цитохрома P-450 у дегу оказалось в 4 раза выше, чем у крыс [12]. Эта особенность дегу может быть использована при изучении механизмов выработки привыкания к различным наркотическим средствам, при изучении лекарственных

средств, направленных на лечение наркотической зависимости, а также изучения метаболизма лекарственных средств с участием микросомальной системы печени.

The laboratory animals: Degu (Octodon Degus Molina, 1782)

E. Gaidai, M. Makarova

ABSTRACT

The review is devoted to degus and possibilities of their use in preclinical studies. The degu, *Octodon Degus*, a hystricomorph rodent inhabiting the arid zone of the Andes, Chile and Peru. These animals are kept as pets and widely used in laboratory research.

Interest in degus, as laboratory animals, appropriate zootechnical characteristics, some anatomical and physiological features, and their uniqueness in the development of some pathological conditions similar to the pathogenesis of human diseases.

In the second half of the 20th century appeared the first article on degus, which have been described in parasitic diseases of these rodents. Today degus are becoming more popular as animals for biomedical research. Intolerance to sugar of these animals makes them an attractive animal model to study the pathophysiology of diabetes mellitus and the impact of new pharmaceutical substances on the development of this disease. It should be noted that this species demonstrates the development of diabetes of

the 2nd type that is very difficult to achieve on other models.

In the *Octodon degus* contains microsomal enzymes and cytochrome P-450 is 4 times higher than rats which makes them curious to study systems of liver detoxification.

Also *degus* are used as models of Alzheimer's disease, which is associated with the formation of three pathognomonic signs of this disease at 3-4 year of age.

All these qualities make perspective *degu* as laboratory animals in pharmacological research.

ЛИТЕРАТУРА

1.Петренко Е.В. Сравнительная анатомия желудка у человека и грызунов / Е.В. Петренко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. -2016. -№ 3-2. -С.255-258.

2.Рыбакова, А.В. Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с европейской директивой 2010/63 / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. -2015. -№2. -С. 96-107.

3.Рыбакова, А.В. Маркировка и идентификация лабораторных животных для проведения научно-исследовательских работ / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. - 2014. -№ 4. -С. 81-90.

4.Рыбакова, А.В. Санитарный контроль экспериментальных клиник (вивариев) в соответствии с локальными и международными требованиями / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. -2015. -№4. -С. 81-89.

5.Ardiles A. *Octodon degus* (Molina 1782): A model in comparative biology and biomedicine // Cold Spring Harb. Protoc. - 2013. -Vol.4. -P.312-318.

6.Ardiles A.O. Postsynaptic dysfunction is associated with spatial and object recognition memory loss in a natural model of Alzheimer's disease / Ardiles A.O., C.C. Tapiar-Rojas, M. Mandal, F. Alexandre, A. Kirkwood, N.C. Inestrosa, A.G. Palacios // PNAS. -2012. -Vol.129. -№34. -13835-13840.

7.Babero B.B. The helminth fauna of Chile: III. Parasites of the *degu* rodent, *Octodon*

УДК 599.731.1:591.491.2:57.082.2

ЗООТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОДЕРЖАНИЯ КАРЛИКОВЫХ СВИНЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ВИВАРИЯХ

Рыбакова А.В. – к.вет.н., Макарова М.Н. – д.м.н.
ЗАО «НПО ДОМ ФАРМАЦИИ»

Ключевые слова: Карликовые свиньи, надлежащее содержание животных, благополучие. **Key words:** mini-pigs, suitable maintenance of animals, welfare.



РЕФЕРАТ

Использование в доклинических исследованиях карликовых свинок, в качестве биологической тест-системы для токсикологических и специфических исследований широко распространено в Европе. В России лишь немногие организации используют карликовых свинок для биомедицинских исследований в связи с рядом сложностей в содержании и особенностях самого вида животных.

Содержание карликовых свинок требует наличия специального оснащенного вивария, обученного персонала, специализированных программ по уходу, лечебно-профилактических мероприятий. Типы, размеры вивариев для карликовых свинок, системы содержания, номенклатуры и виды отдельных зданий и сооружений следует

учитывать в зависимости от намечаемого направления и специализации вивария, нали-

чия необходимого количества земельных угодий с учетом экологического состояния и климатических условий района строительства и обеспечения наибольшей эффективности капитальных вложений. Для размещения карликовых свиней необходимо иметь достаточное пространство в виварии. Большое значение при содержании карликовых свиней должно быть уделено материалам, из которых изготовлены вольеры или боксы содержания, а особенно полы. В помещениях для содержания животных необходимо обеспечивать надлежащие параметры температуры, влажности, воздухообмена и освещенности в соответствии с нормативными регламентами. Для проведения исследований на карликовых свиньях необходимо проводить социализацию и обучение животных. Сотрудники лаборатории должны установить контакт с животными для дальнейшего взаимодействия с ними. Поведение разных животных сильно отличаться друг от друга – как и во всех видах, что подразумевает индивидуальный подход ко всем животным.

Использование карликовых свиней для проведения доклинических исследований в России позволит обеспечить более высокое качество и получение более достоверных результатов исследований.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время свинья считается наилучшей биологической моделью человека в связи с ее анатомо-физиологическим сходством с человеком [1,2]. Использование в эксперименте домашних свиней ограничено рядом неудобств, обусловленных их размерами. В доклинических исследованиях активно используются карликовые свиньи, они удобны для содержания в лабораторных условиях и проведения различных манипуляций.

В Европе карликовые свиньи широко используются в качестве биологической тест-системы для токсикологических и специфических исследований. Карликовые свиньи являются альтернативой использования грызунов с точки зрения сходства с человеком, а также с точки зрения применимости к различным типам исследований. В России лишь немногие организации используют карликовых свиней для биомедицинских исследований в связи с рядом сложностей в содержании и особенностей самого вида животных. Содержание карликовых свиней требует наличия специального оснащенного вивария, обученного персонала, специализированных программ по уходу, лечебно-профилактических мероприятий [3].

При проектировании вивария для содержания карликовых свиней, а также отдельных зданий и сооружений, входящих в их состав, следует руководство-

ваться нормами технологического проектирования ветеринарных объектов, нормами технологического проектирования систем удаления и подготовки к использованию навоза, отраслевыми нормами освещения сельскохозяйственных предприятий и действующими нормами строительного проектирования [4]. Типы, размеры вивариев для карликовых свиней, системы содержания, номенклатуры и виды отдельных зданий и сооружений следует учитывать в зависимости от намечаемого направления и специализации вивария, наличия необходимого количества земельных угодий с учетом экологического состояния и климатических условий района строительства и обеспечения наибольшей эффективности капитальных вложений. С точки зрения здоровья и благополучия животных одним из самых важных критериев выбора месторасположения экспериментального вивария является эпизоотологическое благополучие местности.

На основании Стандарта 27774-88 (СТ СЭ 5963-87) "Свиноводство. Термины и определения" существует следующая классификация возрастных групп свиней согласно и с учетом их физиологического состояния и назначения [4]:

- а) хряки:
 - производители, в возрасте старше 1,5 лет;
 - проверяемые - ремонтные хряки от времени первой случки до оценки их в зависимости от их возраста. Для новорожденных поросят температура должна

составлять минипо весу потомства (в 2 или 6- месячном возрасте);

- пробники, предназначенные для выявления маток, приходящих в охоту (в 8 или 9 месячном возрасте);

б) свиноматки:

- холостые - не осеменённые после отъема поросят;

- супоросные - осеменённые свиноматки, подразделяются на 3 группы, свиноматки после осеменения до установления фактической супоросности, свиноматки с установленной супоросностью и тяжело супоросные за 7-10 дней до опороса;

- подсосные свиноматки - от опороса до отъема поросят.

На свиноводческих предприятиях свиноматок формируют в группы в зависимости от физиологического состояния и содержат в специализированных зданиях, помещениях или секциях;

в) поросята-сосуны - от рождения до отъема от свиноматки (рекомендуются сроки отъема: для племенных ферм 60 дней, при необходимости отъем можно сделать раньше);

г) поросята-отъемыши - от отъема от свиноматки до перевода на откорм или в группы ремонтных карликовых свинок (в 3- 4 месячном возрасте);

д) свинка-самка - от рождения до первого опороса;

е) ремонтные карликовые свиньи - хрячки и свинки - от перевода в группу ремонтного молодняка до начала производственного использования (от 4 до 9-11 месячного возраста);

ж) карликовые свиньи откармливаемые (для исследований) - молодняк в возрасте от 3-4 до 7-9 месяцев

з) взрослые карликовые свиньи (выбраванные свиноматки и хрячки).

Минимальный состав и номенклатура основных и подсобных помещений для содержания карликовых свиней представлена в таблице 1.

Помещения вспомогательного назначения следует отделять от помещений для содержания свиней противопожарными преградами в соответствии с требованиями СНиП "Животноводческие, птицеводческие и звероводческие здания

и помещения" и предусматривать из этих помещений самостоятельные выходы наружу [4].

Дополнительно могут быть оборудованы помещения для функциональной диагностики, рентген-кабинет, операционный - блок, комнаты для изучения физиологии.

В классическом свиноводстве применяют выгульное и безвыгульное содержание животных. Выгульное содержание может быть станково- или свободно-выгульное. Безвыгульное содержание может быть применено в сочетании с лагерьным. Для благополучия животных, используемых в экспериментальных вивариях, наилучшим способом содержания является свободно-выгульное. Свободно-выгульное содержание в свою очередь может быть индивидуальным и групповым. Карликовые свиньи являются высококоразвитыми животными, и общение между особями является необходимым для нормального зоосоциального поведения и благополучия животных. Ранее было предпочтительно раздельное содержание карликовых свиней, используемых в исследовании, чтобы исключить возможные факторы, которые могут возникнуть в результате группового содержания. Однако некоторые исследования указывают на то, что изолированные свиньи испытывают хронический стресс по сравнению с групповым содержанием, что также негативно влияет на достоверность получаемых результатов [8].

В связи с этим рекомендуется, если нет конкретных экспериментальных, ветеринарных или других противопоказаний, содержать животных в группе. Однако исследований по выявлению количественного содержания животных в пределах группы нет. В некоторых исследованиях с использованием карликовых свиней, животных содержали по 6 особей. При этом межгрупповые отличия не были обнаружены [7].

При размещении группы животных, необходимо соблюдать естественную социальную иерархию карликовых свиней, их организацию. Свиноматки живут в группах со стабильной иерархией.

Молодые кабаны формируют холостяцкие группы, старые кабаны живут уединенно. Исходя из этого, ведение свиноматок в группах было бы согласовано с их естественной средой обитания. В то же время, содержание старых кабанов, одиночных в дикой природе, должно быть отдельным.

В зависимости от индивидуальных особенностей животных, лучше использовать групповое содержание для самок, так как животные могут общаться и играть друг с другом. Самцов лучше содержать в вольерах индивидуально, но они могут контактировать и обнюхивать других самцов через перегородки, тем самым, не нанося повреждения друг другу.

Для расчета минимальной площади помещений для содержания карликовых свиней, рекомендуется использовать, как отечественные, так и европейские стандарты [6]. Минимальные площади вольеров содержания одного животного представлены в таблице 2.

Большое значение при содержании карликовых свиней должно быть уделено материалам, из которых изготовлены вольеры или боксы содержания, а особенно полы. Строительные конструкции стен, перегородок, перекрытий, покрытий и полов должны быть устойчивыми к воздействию дезинфицирующих веществ и к повышению влажности, не выделять вредных веществ, а антикоррозийные и отделочные покрытия быть безвредными. Полы должны быть нескользкими, трудно истираемыми, водонепроницаемыми, беспустотными и мало-теплопроводными, стойкими против воздействия сточной жидкости и дезинфицирующих веществ, не выделять вредных веществ. В местах содержания поросят допускается устройство несгораемых полов с пустотами для воздушного обогрева пола. Для свиней на фермах в большинстве случаев используют щелевые полы из бетона, железа, покрытого резиной или пластиком. Из-за большого диаметра ячеек щелевых полов высок риск травматизации животных, в связи с этим большинство специалистов не рекомендуют использовать эти полы для карликовых свиней. Поиск качественных и подходящих материалов для полов

очень трудоемкий процесс. В нашем учреждении полы в боксах содержания карликовых свиней покрыты специальным материалом, изготовленным из натуральных ингредиентов резины и песка. Сочетание этих компонентов имеет много преимуществ, для здоровья и благополучия животных, отсутствие скольжения копыт, стачивание рогового слоя копыт, безопасность для животных.

В помещениях для содержания животных необходимо обеспечивать надлежащие параметры температуры, влажности, воздухообмена и освещенности в соответствии с нормативными регламентами [4].

Поскольку карликовые свиньи, как и остальные животные, чувствительны к проблемам респираторной системы, в комнате для содержания животных должна быть обеспечена достаточная вентиляция. Система вентиляции необходима не только для обеспечения достаточного притока свежего воздуха, но также для поддержания низкой концентрации газов, распространения запахов, пыли и инфекционных агентов любого рода. Вентиляция также предусматривает удаление избыточного тепла и влаги. Оптимальный воздухообмен для помещений содержания карликовых свиней составляет от 10 до 20 объемов помещения в час.

Свиньи очень чувствительны к перепадам температуры. В связи с этим карликовые свиньи должны содержаться в условиях с контролируемой температурой окружающей среды. В идеале в вольере содержания должен наблюдаться температурный градиент, так как это позволяет животному самостоятельно выбрать комфортные условия.

Согласно литературным данным, у карликовых свиней нет широкой термонейтральной зоны, однако была выявлена нейтральная температура для животных, мум 32°C, постепенно ее нужно понижать до 29°C для поросят в возрасте 6-8 недель, до 24°C к возрасту 14-16 недель и до 17,4°C к 34-36-недельному возрасту [9]. Для достижения высоких температур для новорожденных поросят можно использовать лампы инфракрасного облуче-

ния над местом гнезда с поросятами и теплые полы.

По литературным данным, относительная влажность воздуха в промежутке 45% и 90% не оказывает негативного влияния на рост и развитие карликовых свиной. Установлено отсутствие влияния относительной влажности на свиней, пока они размещены в соответствии с их термонейтральной температурой. До тех пор, пока влажность не выходит за рамки 45-75%, важность температуры как физического фактора много выше, чем относительной влажности. Так как относительная влажность воздуха около 45% является рекомендуемой и для людей, то этот уровень относительной влажности является оптимальным и подходит как персоналу по уходу за животными, так и самим животным [9].

Свиньи предпочитают низкую интенсивность освещения для сна и отдыха и проводят до 8 часов в сутки в области с низкой освещенностью. В связи с этим для животных должен быть предусмотрен 8-ми часовой световой цикл. Этот световой период должен обеспечивать минимальный уровень освещенности 50 лк для животных. При проведении контроля или работы с животными уровень освещенности должен быть не менее 250 лк. [10].

Сводная информация о параметрах окружающей среды для содержания лабораторных карликовых свиной представлена в таблице 3.

Корма нормируют по группам животных и раздают, как правило, два раза в день для всех групп, кроме подсосных свиноматок и поросят-отъемышей, кото-

Таблица 1
Минимальный состав и номенклатура основных и подсобных помещений для содержания карликовых свиной

1	2
Номенклатура помещений	Состав помещений
Основные помещения	
Помещения для проведения опороса и дальнейшего содержания поросят-сосунов	<ol style="list-style-type: none"> 1. Помещения (боксы) для животных 2. Помещение или площадка для инвентаря, подстила 3. Площадка (место) для взвешивания свиной 4. Помещение или площадка для санитарной обработки свиноматок 5. Секция манеж для отельного содержания поросят-сосунов 6. Зона для мойки инвентаря 7. Помещение для обслуживающего персонала
Помещения для хряков, холостых свиноматок, хряков-пробников, ремонтного молодняка. свинарник - откормочник	<ol style="list-style-type: none"> 1. Помещения (боксы) для животных 2. Помещение или площадка для инвентаря, подстила 3. Зона для мойки инвентаря 4. Помещение для обслуживающего персонала
Подсобные помещения	
Кормокухня	<ol style="list-style-type: none"> 1. Зона хранения чистых кормушек 2. Холодильное оборудование 3. Зона хранения минимального запаса кормов/докорма 4. Зона для хранения инвентаря для подготовки/изготовления кормов/докорма 5. Зона подготовки/изготовления кормов/докорма 6. Зона для мойки и обработки кормов/докорма 7. Зоны для хранения средств индивидуальной защиты, инвентаря для уборки 8. Зона для мойки инвентаря 9. Зона для сбора отходов класса «А»

Окончание таблицы 1

1	2
Складские помещения	<ol style="list-style-type: none"> 1. Помещение для хранения подстила 2. Помещение для хранения кормов 3. Помещения для хранения докорма (в зависимости от вида и требований к температурному режиму) 4. Зона для снятия первичной упаковки 5. Зона для хранения инвентаря для уборки складских помещений 6. Зона для взвешивания корма/докорма 7. Зона для размещения оборудования для контроля климатических условий 8. Зона для хранения и заполнения учетной документации
Помещение для обеззараживания и временного хранения биологических отходов	<ol style="list-style-type: none"> 1. Зона для расположения морозильных установок 2. Зона для расположения контейнеров с отходами класса «Б» 3. Зона для расположения паллетов с биологическими отходами 4. Зона для хранения уборочного инвентаря 5. Зона для хранения средств индивидуальной защиты 6. Зона для хранения и заполнения учетной документации 7. Зона для хранения средств, применяемых для дезинфекции с биологических отходов
Секционная	<ol style="list-style-type: none"> 1. Секционные столы 2. Весы для взвешивания органов 3. Зона хранения инвентаря для вскрытия 4. Зона для расположения контейнеров с отходами класса «Б» 5. Зона для хранения уборочного инвентаря 6. Зона для хранения средств индивидуальной защиты 7. Зона для хранения и заполнения учетной документации
Санитарный пропускник для персонала	<ol style="list-style-type: none"> 1. Помещение для хранения верхней одежды 2. Раздевалки мужская/женская 3. Душевые мужская/женская 4. Раздевалка для рабочей одежды мужская/женская 5. Туалетные комнаты мужская/женская 6. Зона для хранения уборочного инвентаря

рых кормят три раза в день. При использовании значительного количества объемистых кормов (картофель, свекла и т.п.) допускается трехразовое кормление животных и остальных групп. Тип кормления свиней зависит от направления хозяйства, характера кормовой базы, источников поступления концентрированных кормов и других факторов и в каждом конкретном случае определяется заданием на проектирование.

Кормление всех групп свиней следует предусматривать в станках из кормушек. Подкормку поросят-сосунов производят в станках для свиноматок, где для этой цели выгораживают часть площади станка и оборудуют кормушкой. Кормят

свиней подготовленными сбалансированными по питательности кормами: влажными кормосмесями (влажность 65-70%), сухими гранулированными или рассыпными комбикормами (с увлажнением при раздаче или в кормушках) или комбикормами, предварительно разбавленными водой (при соотношении по весу комбикорма и воды не более 1:3). Удельная масса концентрированных кормов должна составлять 75-95% по питательности. Особое внимание необходимо уделять обеспеченности рационов протеином, в том числе незаменимыми аминокислотами. Все концентраты следует скармливать в виде комбикормов или полноценных кормосмесей вместе с зелеными и

Параметры вольера для содержания лабораторных карликовых свиней

Вес животного, кг.	Минимальная общая площадь места проживания, м ² /1 животное	Минимальная площадь пола, м ² /1 животное	Минимальная площадь места для отдыха, м ² /на 1 животное
до 5	2.0	0.20	0.10
5-10	2.0	0.25	0.11
10-20	2.0	0.35	0.18
20-30	2.0	0.50	0.24
30-50	2.0	0.70	0.33
50-70	3.0	0.80	0.41

сочными кормами. Сочные корма - свеклу, морковь, комбисилос используют в сыром, а картофель - в запаренном виде.

Карликовые свиньи, особенно свиноматки, имеют тенденцию к ожирению. Чтобы избежать ожирения и связанных с ним проблем со здоровьем, особенно скелетной и сердечно-сосудистой системами свиней необходимо держать на ограниченной диете, исключая модели, которые используются в качестве моделей для ожирения [8]. Пища, используемая для карликовых свиней, в отличие от сельскохозяйственных свиней, должна иметь высокое содержание клетчатки. Адекватное кормление имеет большое значение для достижения сытости и позволяет свести к минимуму агрессию. Там, где кормление ограничено, все животные, находящиеся в социальной группе, должны иметь доступ к пище без необходимости конкуренции за пищу; это общая причина агрессивного поведения. Там, где используются желоба для кормления, необходимо обеспечить достаточное пространство, чтобы гарантировать, что все животные могут питаться одновременно. Если кормление будет осуществляться с пола, важно гарантировать поддержание гигиены и нахождения еды во время подачи на достаточно большой площади, чтобы обеспечить доступ всех животных. Необходимо тщательное наблюдение со стороны персонала, чтобы все карликовые свиньи получали достаточное количество пищи.

Поют свиней *ad-libitum* из автопоилок различного вида (сосковых, чашеч-

ных, поплавковых), мисок или кормушек-лотков. Для питья используется вода соответствующая СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества». Соски или миски должны быть на одном уровне с плечом животного и обеспечивать адекватную скорость потока и должны регулярно проверяться и поддерживаться в порядке. Вода должна быть доступной для всех животных группы содержания, важно следить, чтобы доминирующие животные не препятствовали доступу к питьевой точке других животных. Для проведения лечебно-профилактических мероприятий на усмотрение ветеринарного врача в корм, докорм или питьевую воду могут быть добавлены витаминные, минеральные или иные препараты, порядок выдачи может быть изменен в соответствии с фармакологическими особенностями препаратов.

Подстил, используемый для содержания карликовых свиней должен быть сухим, влагоемким, без примеси ядовитых растений, так как играет важную роль в их жизнедеятельности и служит в качестве питательной подложки, обеспечивает экологическое обогащение, особенно в экспериментальных условиях, где иногда возможность передвигаться ограничена. Согласно литературным данным, в качестве подстилки оптимальным является использование древесных гранул, стружки, сена, длинной соломы, допускается использование измельченной соломы, опилок, дре-

Таблица 3

Параметры окружающей среды для содержания лабораторных карликовых свиней

Вес животного, кг	Температура в боксе содержания, °С	Влажность в боксе содержания, %	Кратность воздухообмена в боксе содержания, кол.	Освещенность в боксе содержания, люкс	Цикл освещения в боксе содержания
менее 3	30-36	40-75	10-20	350	12/12
3-8	26-30				
8-30	22-26				
более 30	18-22				

весной стружки и измельченной бумаги [7].

Использование подстилки может быть невозможно в некоторых областях биомедицинских исследований. Необходимо учитывать, что древесина мягких пород, таких как сосна, ель, осина и кедр может оказать влияние на активность печеночных микросомальных ферментов [5].

В подстил по решению ветеринарного врача могут быть добавлены различные присыпки-осушители с лечебно-профилактической целью. Количество и кратность регламентируется инструкцией по применению.

В качестве обогащения среды используются пластиковые шары разных размеров, деревянные палочки, травянистые газоны, в зависимости от времени года, для стимуляции двигательной активности карликовых свиней. Для наилучшего состояния здоровья и благополучия животных необходимо комбинировать различные элементы среды обогащения.

Особенности содержания

Карликовым свиньям свойственно постоянно наблюдать и собирать информацию. Этот процесс может быть назван обучением. Аналогичным определением может быть то, что обучение является изменением поведения, которое является результатом практики. При работе с карликовыми свиньями важно понимать, что все, кто работает с животными, оказывают одинаковое влияние на реакцию животных.

Для проведения исследований на

карликовых свиньях необходимо провести социализацию и обучению животных. Сотрудники лаборатории должны установить контакт с животными для дальнейшего взаимодействия с ними. Свиньи мотивированы иметь визуальные и физические контакты с людьми и отказ людей от физического взаимодействия и/или зрительного контакта является аверсивным для большинства свиней [8]. После перемещения свиней в новое для них помещение, им необходимо предоставить покой и время, чтобы обнюхать и ознакомиться с их новой средой обитания. На следующий день можно прибегать к контакту с животными: процесс кормления дает хорошую возможность для этого, так как это ситуация, в которой они, естественно, получают награду в виде пищи. При этом необходимо помнить, что свиньи пугливые животные, поэтому с ними необходимо вести себя осторожно не совершать резких движений, чтобы не напугать.

Свиньи любопытны и любознательны, так что предлагайте им понюхать руку, но при этом пусть свинья придет к вам сама, а не наоборот. Как только карликовые свиньи начнут доверять вам, их можно гладить. Следует отметить, что в дополнение к этим общим признакам, поведение разных животных будет сильно отличаться друг от друга – как и во всех видах, что подразумевает индивидуальный подход ко всем животным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Состояние здоровья животных играет важную роль для проведения качественных исследований. Использование

карликовых свиней для доклинических исследований позволит повысить безопасность лекарственных средств и даст возможность защитить добровольцев в первой фазе клинических испытаний.

Zootechnical characteristics of dwarf pigs in experimental vivarium

Rybakova A.V., Makarova M.N.

ABSTRACT

The use of dwarf pigs in pre-clinical studies, as a biological test system for toxicological and specific studies, is widespread in Europe. In Russia, only a few organizations use dwarf pigs for biomedical research due to a number of difficulties in relation to and characteristics of the species of animals themselves. The content of pygmy pigs requires special equipment for the vivarium, trained personnel, specialized care programs, and medical and preventive measures. Types, sizes of vivarium for dwarf pigs, content systems, nomenclature and types of individual structures and structures, depending on the specific directions and activities required to provide land, taking into account the state of the environment and climatic conditions of construction and to ensure the greatest amount of capital investment. To accommodate dwarf pigs, you must have sufficient space in the vivarium. Of great importance for the content of dwarf pigs should be the material given, of which cages or boxes are made, and especially floors. In the premises for keeping animals, it is necessary to observe the parameters of temperature, humidity, air exchange and illumination in accordance with regulatory regulations. To conduct research on dwarf pigs, socialization and training of animals must be carried out. Laboratory staff should establish contact with animals for further interaction with them. The behavior of different animals is very different from the others - as in all species, which implies an individual approach to all animals.

The use of dwarf pigs for preclinical research in Russia provides higher quality and more reliable results of research.

Keywords: mini-pigs, suitable maintenance of animals, welfare.

ЛИТЕРАТУРА

1.Тихонов, В.Н. Мини-свиньи – надежда

человечества / В.Н. Тихонов // Химия и Жизнь, 2011. -№9.

2.Марданова, Г.В. Ультраструктурные особенности миокарда новорожденных карликовых свиней при длительной алкоголизации родительской пары / Г.В. Марданова, В.В. Осипов, Г.Н. Кострюков // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1990. -№4. -С. 398-400.

3.Рыбакова, А.В. Надлежащее содержание и уход за карликовыми свиньями для доклинических исследований / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // Материалы IV-го Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии». – СПб. - 2016. –С. 156-157.

4.ВНТП 2-96. Ведомственные нормы технологического проектирования свиноводческих предприятий // Минсельхозпродом России. -1996, -55с.

5.Anderson, J.J. Effect of exercise on mineral and organic bone turnover in swine / J.J. Anderson // J. of applied physiology. -1971. – Vol.30. -№6. –P. 810-813.

6.Appendix A of the European convention for the protection if vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg. -2006. -11pp.

7.Benech-Kieffer, F. Percutaneous absorption of sunscreens in vitro: interspecies comparison, skin models and reproducibility aspects / F. Benech-Kieffer // Skin Pharmacology and Physiology. –2000. –Т.13. –№6. –С. 324-335.

8.Kanitz, E. Consequences of repeated early isolation in domestic piglets (Sus scrofa) on their behavioural, neuroendocrine, and immunological responses / E. Kanitz // Brain, Behavior, and Immunity. –2004. –Vol.18. –№1. –P. 35-45.

9.Morrison, S.R. Effect of humidity on swine at temperatures above optimum / S.R. Morrison, Jr.H. Heitman, T.E. Bond // International journal of biometeorology. – 1969. –Vol.13. –№2. –P. 135-139.

10.Taylor, N. Preference of growing pigs for illuminance / N. Taylor // Applied Animal Behaviour Science. –2006. –Vol.96. –№1. – P. 19-31.

УДК 591.8+619

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОГО ШЕЙНОГО ЛИМФАДЕНИТА

Мужикян А.А. 1 к.вет.н, Ходько С.В. 1к.мед.н., Гуцин Я.А. 1, Макарова М.Н. 1, д.мед.н,
Макаров В.Г. 2, д.мед.н., профессор
1 ЗАО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», 2 ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации»

Ключевые слова: лимфаденит, моделирование патологии, каррагенин, лпс, формалин. **Key words:** lymphadenitis, modeling diseases, carrageenin, LPS, formalin



РЕФЕРАТ

Лимфадениты шейной и лицевой областей широко распространены и регистрируются с большой частотой, как у людей, так и у животных. Однако в современной доступной литературе не достаточно сведений об экспериментальных моделях лимфаденита, сопоставимого с морфологической картиной острого воспаления регионарных лимфоузлов области лица и шеи человека. В данной работе были изучены гистологические изменения в верхних шейных лимфатических узлах крыс при моделировании острого шейного лимфаденита у крыс. В качестве индукторов патологии применяли липополисахарид (ЛПС) в дозе 0,1 мг/кг водный раствор, каррагенин в дозе 0,8 мг/кг водный раствор, 10% и 20 % водный раствор формалина в дозах 10 мг/кг и 20 мг/кг соответственно. Проведенное нами исследование показало, что применение ЛПС и каррагенина в качестве индуктора лимфаденита у крыс приводило к развитию реактивных и воспалительных изменений лимфатических узлов, проявляющихся в увеличении диаметра герминативных центров, расширении и гиалиноцитозе субкапсулярных и мозговых синусов, утолщении капсулы лимфоузла, в отдельных случаях с формированием картины гнойного лимфаденита. Полученная гистологическая картина лимфаденопатии соответствует таковой у человека при ряде острых воспалительных повреждений регионарных лимфоузлов, в связи с чем, данные индукторы могут быть рекомендованы для получения модели острого воспаления шейных лимфатических узлов. Применение 10% и 20% раствора формалина в качестве индуктора патологии вызывало развитие тотальных некрозов с частичным и полным разрушением структуры лимфоузлов, в связи с чем, данные модели могут применяться для изучения некротических и постнекротических репаративных изменений лимфоидной ткани.

ВВЕДЕНИЕ

Неопухольевые лимфаденопатии у взрослых и детей имеют широкое распространение и могут быть проявлениями таких патологических состояний, как лимфопролиферативные заболевания, иммунодефициты, эндокринопатии, метастазы опухолей, а также реактивные лимфадениты различной этиологии и локализации. Особое внимание при изучении этого вопроса исследователями уделяется воспа-

лительным повреждениям лимфатических узлов области головы и шеи. Согласно литературным данным количество пациентов с лимфаденитами лица и шеи составляет от 20 до 35% от всех воспалительных процессов в челюстно-лицевой области [4]. У детей в структуре острых воспалительных заболеваний лица и шеи у детей острые лимфадениты составляют до 30–50%. Из неспецифических лимфаденитов области лица и шеи основную

часть (больше половины) представляют лимфадениты одонтогенной этиологии, причем при всех клинических вариантах течения острых одонтогенных воспалительных заболеваний исследователями были выявлены признаки регионарного лимфаденита с вовлечением подчелюстных, щечных и околоушных лимфатических узлов [2].

Лимфадениты лицевой шейной областей тонзиллогенной этиологии встречаются реже, однако наряду с такими изменениями со стороны лимфоидных органов, как хронический аденоидит, хронический тонзиллит, хронический гиперпластический фарингит, хронический фарингит заднебоковых валиков глотки, хронический ларингит, регионарный лимфаденит (как нозологические единицы и их сочетания) могут являться системными реакциями со стороны периферического отдела иммунной системы [1,13].

К числу воспалительных заболеваний регионарных лимфатических узлов следует также отнести острый тонзиллит, представляющий собой острое воспаление преимущественно небных миндалин, сопровождающееся их отеком, гиперемией, наличием экссудата, а также повышением температуры тела и реакцией периферических лимфатических узлов [9]. Известно, что при обострении хронического тонзиллита воспалительный процесс может локализоваться и в других лимфоидных тканях глотки – в язычных, гортанных и носоглоточных миндалинах, которым соответствуют язычные, гортанные и ретро-назальные (носоглоточные) ангины [5].

На сегодняшний день существует множество экспериментальных моделей воспалительных заболеваний, индуцируемых такими воспалительными агентами как липополисахарид (ЛПС) (Herber-Jonat, 2010; Patial, 2010), каррагинин (Rossi, 2010; Ceccarelli, 2009; Mochizuki, 2005; Dugo, 2004) и формалин [14].

При этом в современной доступной литературе недостаточно сведений об экспериментальных моделях лимфаденита с помощью какого-либо из данных воспалительных агентов, сопоставимого с морфологической картиной тонзиллита, фа-

рингита или иного регионарного лимфаденита области лица и шеи человека, что делает актуальным поиск новых экспериментальных методов для оценки эффективности лекарственных средств, используемых в терапии воспалительных заболеваний лимфатических узлов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись 25 самцов крыс линии Вистар, средней массой 200 г. Было сформировано пять экспериментальных групп по пять животных в каждой группе [12]. Животные содержались в стандартных условиях вивария [11]. Интактная группа (без патологии) и четыре группы, которым вводили провоспалительные агенты, вызывающих воспалительную реакцию в тканях: ЛПС в дозе 0,1 мг/кг водный раствор, каррагинина 0,8 мг/кг водный раствор, 10% и 20 % водный раствор формалина в дозах 10 мг/кг и 20 мг/кг соответственно [7].

Выбор доз для ЛПС и каррагинина был обусловлен литературными данными, где для создания большинства экспериментальных моделей ЛПС используется в дозе 100 мкг/кг [15]. λ -каррагинин используется в виде 1% водного раствора, эти данные были пересчитаны на 1 кг массы тела животных с учетом объема введения 20 мкл [6].

Индукцию острого лимфаденита проводили путем введения провоспалительных агентов в верхний шейный лимфатический узел справа (Inn. Cervicales superficiales) в объеме 20 мкл. На 3-и сутки после индукции лимфаденита животных подвергали эвтаназии в CO₂-камере и извлекали пораженные лимфатические узлы [10].

Материал для гистологического исследования фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов [3], после чего по общепринятой методике заливали в парафин [8]. Затем изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводилось светооптического микроскопа Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия) при

увеличении 100, 200 и 400. Микрофотографирование и морфометрические измерения проводили при помощи цифровой фотокамеры AxioCamICc 1 и программного обеспечения AxioVisionRel. 4.8 (Carl Zeiss, Германия). Гистологическая оценка полученного материала сопровождалась измерением диаметра герминативных центров лимфоидных фолликулов, толщины капсулы лимфатических узлов на разных участках, полуколичественно оценивали степень расширения и гистиоцитоз субкапсулярных и мозговых синусов. При этом минимальные изменения оценивались в 1 балл, умеренные – 2 балла, значительные – 3.

Для данных, подчиняющихся нормальному распределению (диаметр герминативных центров лимфоидных фолликулов, толщины капсулы лимфатических узлов) были подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). Для межгруппового сравнения данных индекса воспаления ушных раковин применяли критерий Тьюки. Для данных, не подчиняющихся нормальному распределению (оценка степени расширения и гистиоцитоза субкапсулярных и мозговых синусов) были подсчитаны медиана (Me) и квартильный размах (Q1;Q3). Межгрупповые различия данных гистологического анализа проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Лимфатические узлы крыс интактной группы имели правильное гистологическое строение, снаружи покрыты тонкой волокнистой соединительнотканной капсулой с небольшим количеством клеточных элементов. Толщина капсулы у исследованных животных составила 17 ± 2 мкм (таб. 1). В корковом веществе обнаруживались лимфоидные фолликулы с центрами размножения, состоящими преимущественно из крупных центробластов, меньших по размеру зрелых centroцитов, плазматических клеток, окруженных малыми лимфоцитами мантийной зоны (рис. 1). Диаметр герминативных центров ин-

тактных крыс составил 246 ± 13 мкм. В герминативных центрах выявлялись ядра фолликулярных дендритных клеток, единичные митозы и умеренное количество макрофагов «окрашенных телец», содержащих фрагменты разрушенных клеточных структур.

Расположенная глубже паракортикальная зона без расширения, была представлена лимфоцитами и интердигитирующими клетками ретикулума, с характерными спиральными, разделенными бороздой ядрами, и обильной, слабо окрашенной цитоплазмой. В единичных случаях такие клетки встречались и центрах размножения. В паракортикальной зоне также обнаруживались вены с высоким эндотелием и мигрирующими в них лимфоцитами. Между лимфоидными фолликулами в редких случаях определялись островки плазматоидных моноцитов, отличающихся эксцентрично расположенными округлыми светлыми ядрами и наличием в очагах скопления макрофагов «окрашенных телец».

В мозговых тяжах, направленных к воротам лимфоузла, определялось большое количество малых лимфоцитов и плазматоцитов. Субкапсулярные и мозговые синусы не расширены, были образованы тонкими тяжами коллагеновых волокон и выстилающими их отростчатыми дендритными клетками, среди которых обнаруживались единичные гистиоциты и другие клетки рыхлой соединительной ткани.

Во 2 группе (ЛПС, 0,1 мг/кг) отмечалось значительное утолщение капсулы лимфоузла (44 ± 8 мкм), расширение и умеренный гистиоцитоз субкапсулярных и мозговых синусов (таб.2), инфильтрация мононуклеарными и единичными полиморфноядерными лейкоцитами. Отмечались реактивные изменения ткани, характеризующиеся увеличением количества и размеров лимфоидных фолликулов с выраженной мантийной зоной (рис. 2). В перикортикальной зоне лимфатических узлов определялось большое количество плазматоцитов, гистиоцитов и интердигитирующих клеток. На фоне большей части участков лимфоузлов, сохранивших правильное гистологическое строение или

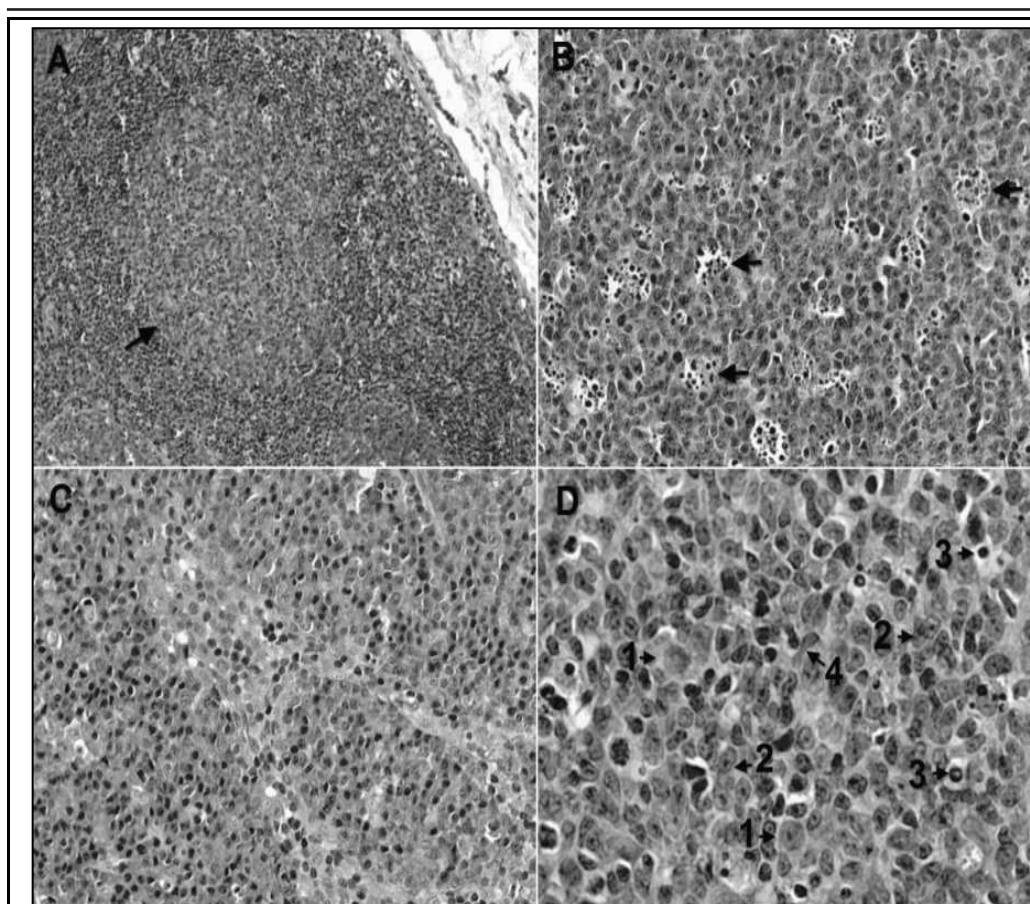


Рисунок 1 – Срез лимфатического узла интактной крысы. Окр. гематоксилин-эозин. **A** - Лимфоидный фолликул с выраженным герминативным центром (стрелка). Капсула лимфатического узла не изменена. Ув. 100. **B** - Герминативный центр, состоящий из центробластов, центроцитов, плазматических клеток. Видны апоптотические клетки и макрофаги «окрашенных телец» (стрелки). Ув. 200. **C** - Мозговой синус не расширен, содержит умеренное количество клеточных элементов. Ув. 200. **D** - Центр размножения. Обнаруживается большое количество центробластов (1), центроцитов (2), апоптотические тельца (3) и единичные интердигитирующие клетки с характерными ядрами (4). Ув. 400

имевших реактивные изменения, определялись небольшие очаги некроза с выраженной круглоклеточной инфильтрацией. В соединительной ткани обнаруживались активированные тучные клетки. В лимфатических узлах крыс 3 группы (каррагинин, 0,8 мг/кг), несмотря на сохраненную цитоархитектонику органа, обнаруживались крупные поля некрозов перинодулярной ткани с поли-

морфноклеточной инфильтрацией, клеточным распадом и формированием гомогенных эозинофильных масс (рис. 3). Определялось развитие грануляционной ткани средней степени зрелости вокруг очагов некроза, представленных бесструктурными массами с большим количеством распавшихся клеточных элементов. Субкапсулярные синусы были расширены, инфильтрированы гистиоцитами с частич-

Таблица 1

Измерения диаметра герминативных центров лимфоидных фолликулов и толщины кап-

№	Группа животных	Диаметр герминативных центров, мкм	Толщина капсулы лимфатического узла, мкм
1	Интактные	246±13	17±2
2	ЛПС	318±11*	44±8*
3	Каррагенин	376±38*	41±12*
4	10% формалин	335±50*	54±9*
5	20% формалин	109±13*	37±12*

Примечание - *- статистически значимые различия с интактной группой, тест Тьюки, $p < 0,05$

Таблица 2

Полуколичественный гистологический анализ степени развития синусового гистиоцито-
за, Me (Q1;Q3) (n=5)

№	Группа животных	Субкапсулярные синусы, оценка в баллах	Мозговые синусы, оценка в баллах
1	Интактные	0 (0;0)	0 (0;0)
2	ЛПС	1 (1;1)*	2 (1;2)*
3	Каррагенин	2 (2;2)*	2 (2;3)*
4	10% формалин	1 (1;3)*	2 (1;2)*
5	20% формалин	2 (1;2)*	2 (2;3)*

Примечание - *- статистически значимые различия с интактной группой, непараметрический критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$

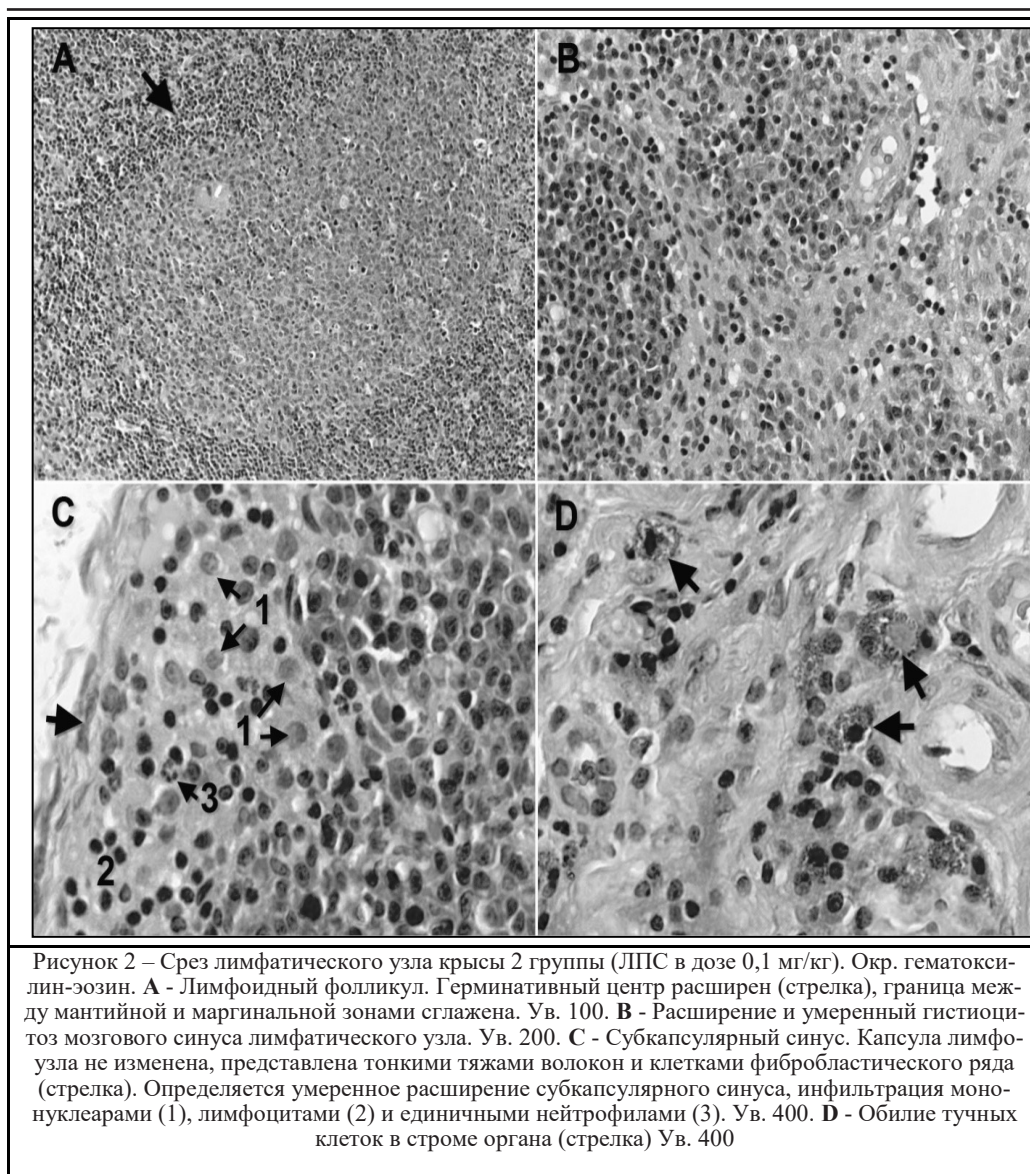
но вакуолизированной цитоплазмой. Отмечалось обеднение лимфоидной ткани клеточными элементами. В сохранившихся участках граница между мантийной и маргинальной зонами фолликулов смазана, герминативные центры увеличены, с большим количеством фагоцитирующих макрофагов «окрашенных телец».

Применение 10% и 20% формалина (4 и 5 группы) приводило к развитию тотальных некрозов с полным распадом стромального и сосудистого компонентов (рис. 4). В сохранных участках лимфоузлов отмечалось значительное расширение лимфатических сосудов, переполненных лимфоцитами. Обильное скопление лимфоцитов отмечалось также в перикортикальной зоне.

Определялся выраженный гистиоцитоз сохранившихся синусов, умеренный гиалиноз сосудов, утолщение капсулы и полиморфноядерная инфильтрация перинодулярной ткани.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное нами исследование показало, что применение ЛПС и каррагенина в качестве индуктора лимфаденита у крыс приводило к развитию реактивных и воспалительных изменений лимфатических узлов, проявляющихся в увеличении диаметра герминативных центров, расширении и гистиоцитозе субкапсулярных и мозговых синусов, утолщении капсулы лимфоузла, в отдельных случаях с формированием картины гнойного лимфаденита. Полученная гистологическая картина лимфаденопатии соответствует таковой у человека при ряде острых воспалитель-

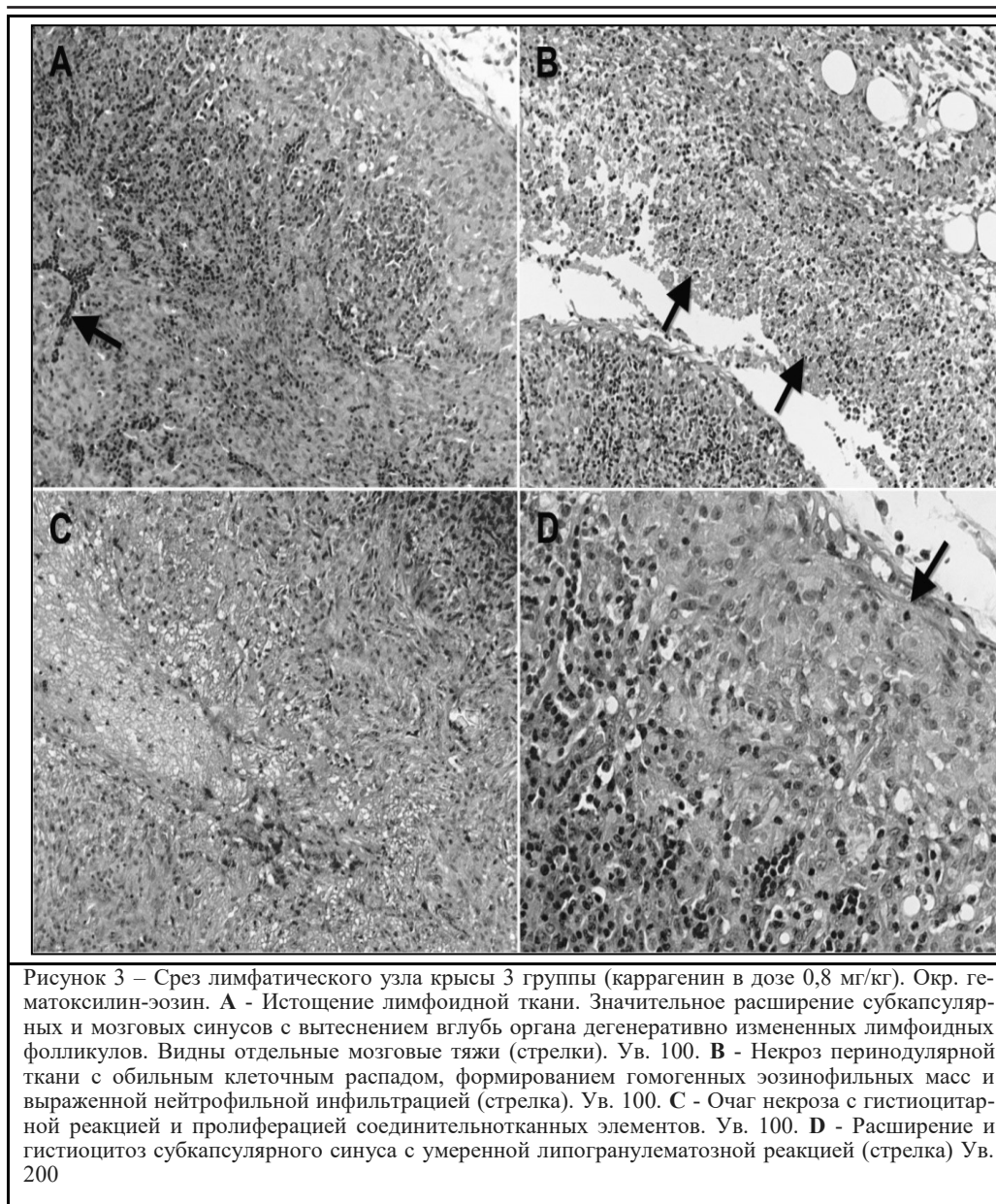


ных повреждений регионарных лимфоузлов, в том числе одонтогенному и тонзиллогенному лимфадениту челюстно-лицевой области, в связи с чем, данные индукторы могут

быть рекомендованы для получения модели острого воспаления шейных лимфатических узлов.

Применение 10% и 20% раствора

формалина в качестве индуктора патологии вызывало развитие тотальных некрозов, с частичным и полным разрушением структуры лимфоузлов. Несмотря на наличие в некоторых сохранившихся участках указанных реактивных изменений, данные модели не вполне отражают истинную картину и течение типичных острых регионарных лимфаденитов у че-



ловека, однако могут успешно применяться для изучения некротических и постнекротических репаративных изменений лимфоидной ткани.

Histological changes in the lymph nodes of rats in modeling acute cervical lymphadenitis

Muzhikyan, S. Khodko, Y. Gushin, M. Makarova
ABSTRACT

Lymphadenitis of the cervical and facial regions is widely distributed and recorded with a high frequency in both adults and children. However, in modern accessible literature there is not enough information

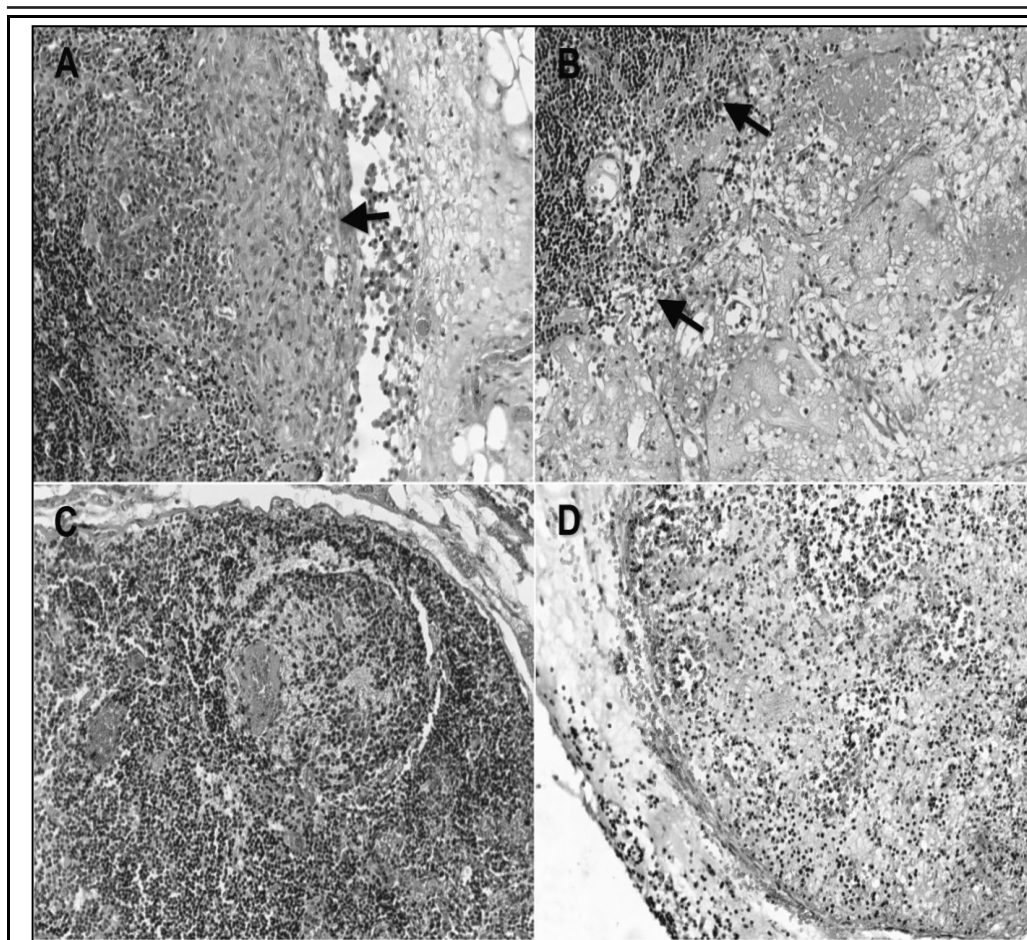


Рисунок 4 – Срез лимфатического узла крысы 4 группы (рис. А, В - 10% формалин в дозе 10 мг/кг) и 5 группы (рис. С, D - 20% формалин в дозе 20 мг/кг). Окр. гематоксилин-эозин. А - Принодулярный некроз с полиморфноклеточной инфильтрацией. Расширение субкапсулярного синуса с умеренной гистиоцитарной реакцией (стрелки). Ув. 100. В - Тотальный некроз лимфатического узла. Виден небольшой участок сохранившейся лимфоидной ткани (стрелка). Ув. 100. С - Нарушение цитоархитектоники лимфоузла. Отмечается истощение и обеднение лимфоидной ткани. Большая часть структур некротизирована. Ув. 100. D - Тотальный некроз лимфатического узла с разрушением сосудистого и стромального компонентов. Видны гомогенные бесструктурные эозинофильные массы, очертания некротизированных сосудов, единичные лимфоциты. Ув. 100

about experimental models of lymphadenitis comparable to the morphological picture of acute inflammation of regional lymph nodes in the face and neck of a human. In this study, histological changes in the upper cervical lymph nodes of rats were studied in modeling acute cervical lymphadenitis in rats. Lipopolysaccharide (LPS) at a dose of 0.1 mg/kg aqueous solution, carrageenin at a

dose of 0.8 mg /kg aqueous solution, 10% and 20% aqueous formalin at doses of 10 mg/kg and 20 mg/kg, respectively. Our study showed that the use of LPS and carrageenin as an inducer of lymphadenitis in rats led to the development of reactive and inflammatory changes in lymph nodes, manifested in an increase in the diameter of germinal centers, expansion and histiocytic infiltration of sub-

capsular and cerebral sinuses, thickening of the lymph node capsule, in some cases with the formation Pictures of purulent lymphadenitis. The resulting histological picture of lymphadenopathy corresponds to that of a human with a number of acute inflammatory lesions of regional lymph nodes, and therefore these inducers can be recommended for the model of acute inflammation of the cervical lymph nodes. The use of 10% and 20% formalin as an inducer of pathology caused the development of total necrosis with partial and complete destruction of the lymph node structure, and therefore, these models can be used to study necrotic and postnecrotic reparative changes in lymphoid tissue.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вандышева, Л.В. Аденоидит и тонзиллит как проявления хронического латентного риносинусита / Л.В. Вандышева, А.А. Хадарцев // *Фундаментальные исследования*. -2008. -№12. -С.60-61.
2. Гандылян, К.С. Острые одонтогенные воспалительные заболевания, варианты течения различных клинических форм / К.С. Гандылян, С.М. Карпов, И.П. Романенко // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. -2015. -№4. -С.394-398.
3. Гушин, Я.А. Влияние фиксирующих жидкостей на микроскопическую структуру органов мелких лабораторных грызунов / Я.А. Гушин, А.А. Мужикян // *Международный вестник ветеринарии*. - 2014. - № 3. - С. 88-95.
4. Забелин, А.С. Дифференциальная диагностика лимфаденита лица и шеи у детей / И.В. Анохина, О.В. Петрущенко // *Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация*. -2011. -№16. -С.125-129.
5. Крышень, К.Л. Оценка противовоспалительного действия лекарственных препаратов на основе шалфея / К.Л. Крышень, С.И. Гусева, С.В. Тесакова, А.А. Ацапкина // *Цитокины и воспаление*. -2009. - №4. -С. 67-72.
6. Макаренко, И.Е. Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным / И.Е. Макаренко, О.И. Авдеева, Г.В. Ванатиев, А.В. Рыбакова, С.В. Ходько, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров // *Международный вестник ветеринарии*. -2013. -№ 3. -С. 78-84.
7. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. - Часть первая. - М.: Гриф и К. -2012. - 944 с.
8. Мужикян, А.А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных / А.А. Мужикян, М.Н. Макарова, Я.А. Гушин // *Международный вестник ветеринарии*. - 2014. - № 1. -С. 75-80.
9. Райт Д. Морфологическая диагностика патологий лимфатических узлов. - М. - 2008 - 176 с.
10. Рыбакова, А.В. Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с европейской директивой 2010/63 / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // *Международный вестник ветеринарии*. -2015. -№2. -С. 96-107.
11. Рыбакова, А.В. Санитарный контроль экспериментальных клиник (вивариев) в соответствии с локальными и международными требованиями / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // *Международный вестник ветеринарии*. -2015. -№4. -С. 81-89.
12. Селезнева, А. И. Методы рандомизации животных в эксперименте / А. И. Селезнева, М. Н. Макарова, А. В. Рыбакова // *Международный вестник ветеринарии*. - 2014. - № 2. -С. 84-89.
13. Таточенко, В.К. Синдром периодической лихорадки, афтозного стоматита, фарингита и шейного лимфаденита (синдром Маршалла) / В.К. Таточенко, А.М. Федоров, М.Д. Бакрадзе, А.С. Николаев // *ВСП*. -2003. -№6. -С.42-45.
14. Тесакова, С.В. Экспериментальная модель шейного лимфаденита у крыс для оценки противовоспалительной эффективности препаратов / С.В. Тесакова, И.А. Самусенко, И.В. Карачинская // *Профилактическая и клиническая медицина*. - 2011. -№1. - С. 57-63.
15. Тюренков, И.Н. Иммуномодулирующие свойства композиции фенотропила и глутаминовой кислоты / И.Н. Тюренков, М.А. Самоутруева, Н.Н. Гражданцева // *Биомедицина*. - 2011. - Т.11, №3. - С. 63-69.

ВНУТРИКОЖНАЯ ИНЪЕКЦИЯ БАКТЕРИЙ STAPHYLOCOCCUS AUREUS В СКАФОКОНХАЛЬНЫЙ УГОЛ УШНОЙ РАКОВИНЫ КАК МОДЕЛЬ АКНЕ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Крышень К.Л. 1 - к.б.н., Мужикян А.А. 2 - к.вет.н., Алякринская А.А. 1-ветеринарный врач, Ковалева М.А. 2- к.б.н., Макарова М.Н. 2- д.м.н., Макаров В.Г. 1-д.м.н., профессор
1 ЗАО «Институт экспериментальной фармакологии», 2 ЗАО «НПО «ДОМ ФАРМА-
ЦИИ»

Ключевые слова: угревая сыпь, модель акне, мыши, крысы. **Key words:** acne vulgaris, acne, acne model, mice, rats, Staphylococcus aureus.



РЕФЕРАТ

Хронические рецидивирующее воспалительное заболевание кожи являются актуальной проблемой в медицине. Акне является наиболее распространенным заболеванием кожи человека. В основе развития акне лежит андрогенозависимый процесс гиперсекреции кожного сала, фолликулярный гиперкератоз и воспаление, являющееся следствием размножения в заблокированной сальной железе микробного агента. Фармацевтическими компаниями продолжается поиск новых

лекарственных средств для лечения этого заболевания, фармакодинамические свойства которых необходимо подтверждать на этапе доклинических исследований с использованием экспериментальных моделей на лабораторных животных. Целью экспериментальной работы явилась отработка и выбор наиболее корректной модели акне с помощью внутрикожной инъекции бактерий золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*), как одного из возможных возбудителей акне у человека, в скафоконхальный угол ушной раковины мышам разных линий и аутбредным крысам. По совокупности полученных результатов воспаление, вызванное внутрикожной инъекцией бактериального агента *Staphylococcus aureus* в ушную раковину мышам Balb/c наиболее полно отражало морфологическую картину воспаления при акне, которое проявлялось отеком, наличием пустулы и носило локализованный характер. У крыс регистрировали наиболее яркую и стойкую клиническую картину воспаления. Наблюдали отек и наличие пустулы на протяжении 4-х дней после внутрикожной инъекции бактериальной взвеси *Staphylococcus aureus* в скафоконхальный угол ушной раковины. Полученные результаты после взвешивания ушных раковин свидетельствуют о развитии воспаления ушной раковины после внутрикожного введения бактериальной взвеси на 2-й день и снижении воспалительного процесса к 4-му дню у всех видов животных.

ВВЕДЕНИЕ

Акне (угревая сыпь) – хроническое рецидивирующее воспалительное заболевание кожи, вызываемое изменениями в пилосебационных структурах (состоят из волосяного фолликула и сальной железы). Наиболее распро-

страненной формой акне является акне vulgaris с волнообразным течением заболевания и частыми обострениями [1].

В соответствии с современными представлениями в основе развития акне лежит андрогенозависимый процесс гиперсекреции кожного сала, фолликуляр-

ный гиперкератоз и воспаление, являющееся следствием размножения в блокированной сальной железе микробного агента (*Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, грибов рода *Malassezia*) [2,3].

Эффективная терапия акне лекарственными препаратами по-прежнему крайне актуальна, ведь заболевание не только поражает видимые области кожи, но и приносит значимый дискомфорт в силу поствоспалительных явлений (остаточные рубцы, шрамы). Многие фармацевтические компании озабочены данной проблемой и разрабатывают различные лекарственные препараты, направленные на лечение этого заболевания. Согласно международным требованиям на этапе доклинических исследований необходимо проводить оценку эффективности новых лекарственных средств на лабораторных животных.

В настоящее время широко используется модель акне, вызванная внутрикожным введением в основание скафокопального угла ушной раковины, главным образом, бактериального инокулюма *Propionibacterium acnes* мышам и крысам [10]. Однако, в современных условиях прогрессирует носительство кожных стафилококков, включая *Staphylococcus aureus*, в том числе устойчивые к антибиотикам штаммы. Так, по разным данным от 43% до 63% заболевание акне вызвано именно этим возбудителем [9].

Поэтому целью экспериментальной работы явилась отработка и выбор наиболее корректной модели акне с помощью внутрикожной инъекции бактерий золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*), как одного из возможных возбудителей акне у человека, в скафокопальный угол ушной раковины мышам разных линий и аутбредным крысам. При этом, наиболее корректную модель выбирали по наличию выраженного отека ткани, пустулы и гистологическим признакам локализованного воспалительного процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовали 10

мышей-самок Balb/c в возрасте 6-7 недель, 10 мышей-самцов СВА в возрасте 6-7 недель, 10 аутбредных крыс-самок в возрасте 10-12 недель.

Всех животных содержали в стандартных условиях вивария [7]. Световой режим составил 12 часов света и 12 часов темноты. Животные получали гранулированный корм и питьевую воду *ad libitum*.

Все животные были рандомизированы и распределены по 2 группам – контрольная и экспериментальная (10 животных в группе) [8]. Каждому животному была присвоена индивидуальная метка при помощи перманентного маркера [6]. Экспериментальным группам мышей Balb/c и СВА внутрикожно в центральную часть внешней стороны уха (в основание скафокопального угла) вводили бактериальный инокулюм *St. Aureus* (патогенные свойства подтверждали реакцией коагуляции с плазмой кролика и зоной активного гемолиза на кровяном агаре) в концентрации 1×10^9 КОЕ/мл объемом 20 мкл выращенную на желточно-солевом агаре, крысам вводили тот же бактериальный инокулюм объемом 40 мкл однократно. Животным контрольных групп вводили физиологический раствор в аналогичном объеме.

Для оценки воспалительного процесса в динамике по 5 животных из каждой группы эвтаназировали в CO₂-камере на 2-й и 4-й день соответственно после индукции патологии [5].

После эвтаназии проводили исследование ушной раковины у основания уха и взвешивание «контрольной» и «опытной» (пораженной) ушных раковин для оценки относительной величины отека. Вычисляли индекс реакции воспаления (отека) для каждого животного по формуле (1):

(1) , где $M_{оп}$ и $M_{к}$ – масса «опытной» и «контрольной» ушных раковин.

После проведения взвешивания «контрольную» и «опытную» (пораженную) ушную раковину передавали для проведения гистологического анализа.

У всех животных ежедневно проводили клинический осмотр. Визуально оценивали наличие отека в месте инъекции инокулюма и сформированной гнойной пустулы.

Для гистологического исследования материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов, после чего по общепринятой методике заливали в парафин [4]. Затем изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали трихромом по Массону. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводилось при помощи светооптического микроскопа Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении 50 и 200. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры AxioCam ICc 1 (Германия).

Оценивали площадь поражения ткани, степень выраженности воспалительной реакции и отека. В качестве гистологических критериев оценки была применена балльная система: 0 баллов - отсутствие каких-либо патологических изменений в ткани, 1 балл - минимальная степень изменений, 2 балла - умеренная степень изменений, 3 балла - выраженная степень изменений.

Для данных, подчиняющихся нормальному распределению (индекс воспаления ушных раковин) были подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). Для межгруппового

сравнения данных индекса воспаления ушных раковин применяли t критерий Стьюдента. Для данных, не подчиняющихся нормальному распределению (гистологический анализ) были подсчитаны медиана (Me) и квартильный размах (Q1;Q3). Межгрупповые различия данных гистологического анализа проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Через 6 часов после индукции патологии (1-й день) у всех животных наблюдали локальное воспаление, характеризующееся покраснением и отеком. На 2-й день у всех животных возникала пустула, наполненная гнойным содержимым (рисунок 1,2). На 3-й день после инъекции бактериальной взвеси у животных наблюдали уменьшение отека и уменьшение размера пустулы. На 4-й день у мышей Balb/c, так и СВА визуально практически не наблюдали признаков воспаления. У крыс видимые признаки воспаления сохранялись до 4-го дня включительно (рисунок 2).

Наиболее ярко клинические признаки воспаления проявлялись у аутбредных крыс и мышей Balb/c (Рисунок 1,2).

Для количественной оценки отека в динамике проводили измерение массы опытной (пораженной) и контрольной

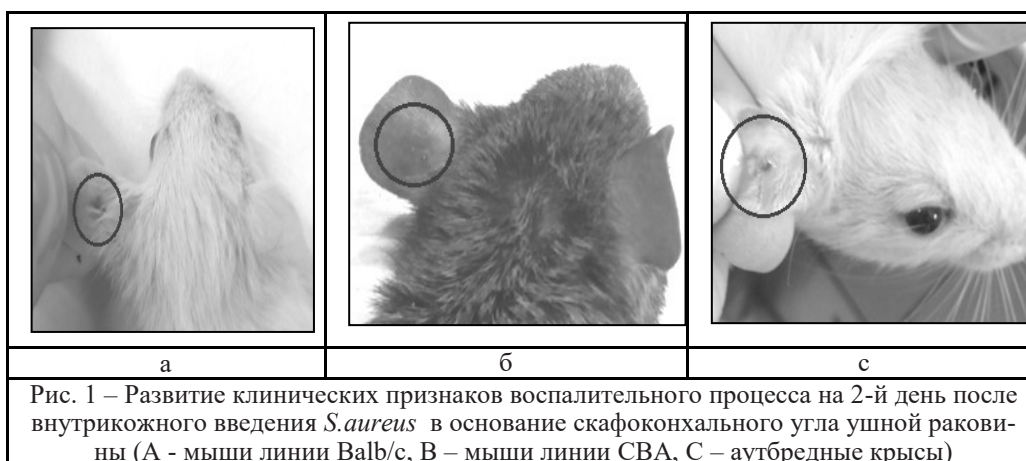


Рис. 1 – Развитие клинических признаков воспалительного процесса на 2-й день после внутрикожного введения *S. aureus* в основание скафонохального угла ушной раковины (А - мыши линии Balb/c, В – мыши линии СВА, С – аутбредные крысы)

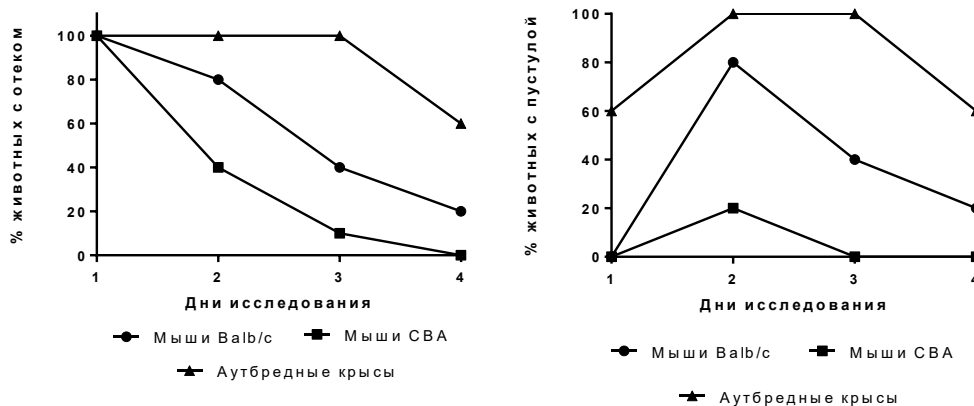


Рис. 2 - Визуальные признаки отека ткани (А) и развития пустулы (Б) после внутрикожной инъекции *S.aureus*

ушных раковин на 2-й и 4-й день после индукции патологии. Вычисляли индекс реакции воспаления (отека).

Полученные результаты свидетельствуют о развитии воспаления ушной раковины после внутрикожного введения бактериальной взвеси *S. Aureus* в концентрации 1×10^9 КОЕ/мл на 2-й день и снижении воспалительного процесса к 4-му дню у всех видов животных (рисунок 3).

Острое воспаление на 2-й день после введения бактериального инокулюма было наиболее выражено у крыс. Так, индекс реакции воспаления (отека) составил 26%, что статистически значимо выше показателя контрольной группы. Индекс реакции воспаления у Balb/c составил 21% и у мышей СВА – 13%. Полученные результаты коррелируют с результатами клинического осмотра.

Для последующей сравнительной оценки ушные раковины подвергали гистологическому анализу. Гистологическая картина воспаления ушной раковины на 2-й и 4-й день после внутрикожного введения бактериальной взвеси *S. Aureus* в скафонохальный угол ушной раковины разным видам животных представлена на рисунке 4.

Полуколичественный гистологический анализ образцов ушной раковины на 2-й и 4-й дни после индукции патологии

приведен в таблице 1.

На 2-й день у животных с модельной патологией гистологический анализ показал утолщение стенки ушной раковины с умеренной и выраженной очаговой смешанноклеточной, преимущественно нейтрофильной и лимфоцитарной воспалительной инфильтрацией и умеренным отеком, локализованными прежде всего в месте введения. В периваскулярных пространствах отмечали небольшие скопления тучных клеток и плазмодитов. В просвете лимфатических сосудов наблюдали лимфостаз. Кожа в месте повреждения была покрыта струпом. Повреждения хрящевой ткани ушной раковины были отмечены при развитии выраженной степени воспаления (рисунок 4).

Воспаление на 2-й день после введения бактериальной взвеси в основном носило очаговый характер, в особенности у мышей Balb/c, у которых отмечали умеренную степень развития отека и воспаления (таблица 1). У мышей СВА наблюдали минимальные изменения как по площади поражения, так и по степени выраженности воспаления и отека. У крыс наблюдали диффузную воспалительную инфильтрацию дермы и подкожной клетчатки с большой площадью поражения тканей, выраженной степенью

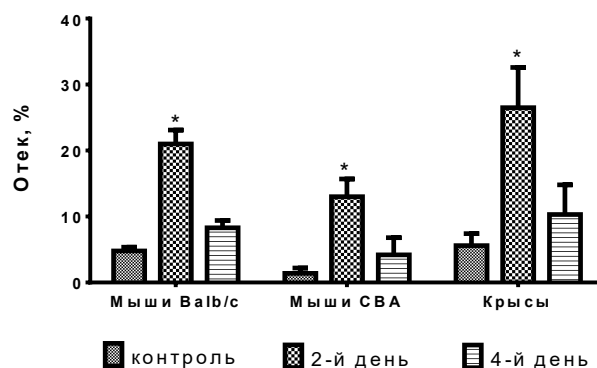


Рис. 3 – Результаты оценки отека пораженной ушной раковины у разных видов животных на 2-й и 4-й день (по 5 животных из группы). Примечание - * - статистически значимые отличия от интактной группы соответствующего вида животных, t критерий Стьюдента, $p < 0.05$

воспаления и отека (таблица 1). При этом, в очаге воспаления у крыс нередко выявлялись некротические массы и клеточный детрит.

К 4-му дню исследования у мышей отмечали разрешение воспалительного процесса. Причем, у большинства мышей СВА гистологическое строение ушной раковины соответствовало норме. У крыс сохранялась умеренная степень воспалительных изменений, носящих диффузный характер (рисунок 4, таблица 1).

В целом, результаты гистологического анализа подтвердили данные клинического осмотра и количественной оценки отека (измерение массы пораженной и контрольной ушных раковин).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты клинического наблюдения, измерение отека и гистологический анализ показали, что развитие воспаления происходило у всех видов животных, но с разной степенью и своими особенностями.

Так, у мышей СВА регистрировали минимальные показатели отека ушной раковины и развитие воспалительных изменений с практически полным восстановлением ткани ушной раковины к 4-му дню после инъекции бактериальной взвеси. В связи с чем, использование этой

линии мышей для моделирования патологии акне внутрикожной инъекцией бактериальной взвеси *Staphylococcus aureus* не представляется корректным.

У крыс регистрировали наиболее яркую и стойкую клиническую картину воспаления. Наблюдали отек и наличие пустулы на протяжении 4-х дней после внутрикожной инъекции бактериальной взвеси *Staphylococcus aureus* в скафонохальный угол ушной раковины. Измерение массы пораженного и контрольного «здорового» уха подтвердило наличие отека ушной раковины. Гистологический полуколичественный анализ показал наличие выраженной степени воспалительных изменений ткани пораженного уха. Необходимо отметить, что воспаление носило диффузный характер, затрагивая не только место инъекции, но и прилежащие области, что не полностью соответствует морфологической картине воспаления при заболевании акне у человека [11].

Модель акне, вызванная внутрикожной инъекцией бактериального агента *Staphylococcus aureus* в ушную раковину мышей Balb/c характеризовалась отеком в месте инъекции и наличием пустулы. Гистологический анализ подтвердил, что воспаление было умеренным и носило в большей степени локализованный харак-

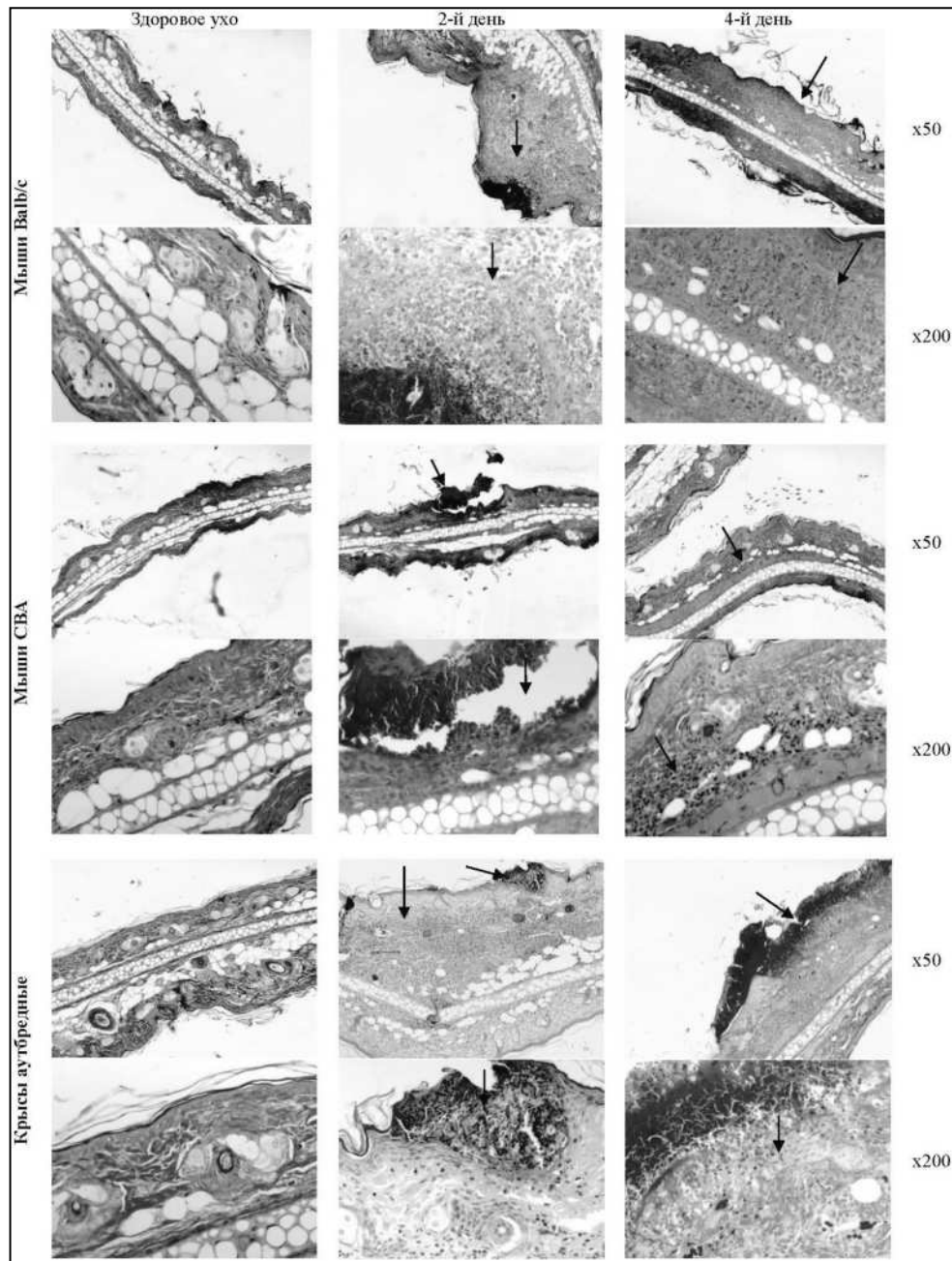


Рис. 4 – Характерная гистологическая картина ушных раковин в месте инъекции у животных на 2-й и 4-й день после внутрикожной инъекции *S. Aureus* в концентрации 1×10^9 КОЕ/мл в основание скафоконхального угла ушной раковины; Окраска трихромом по Массону. → Очаг воспаления в месте инъекции.

Полуколичественный гистологический анализ пораженных ушных раковин, Ме (Q1;Q3) (n=5)

№	Группы	Животные	Эвтаназия, день после индукции патологии	Площадь воспаления, балл	Степень выраженности воспаления, балл	Развитие отека, балл
1	Контроль	Мыши Balb/c	-	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)
2	Индукция патологии		2-й	2 (2;3) *	2 (2;2) *	2 (1;2) *
3			4-й	2 (1;2) *	2 (1;2) *	1 (0;1)
4	Контроль	Мыши СВА	-	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)
5	Индукция патологии		2-й	1 (1;1) *	1 (1;1) *	1 (0;1)
6			4-й	0 (0;1)	0 (0;1)	0 (0;0)
7	Контроль	Аутбредные крысы	-	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)
8	Индукция патологии		2-й	3 (3;3)*	3 (3;3)*	3 (1;3)*
9			4-й	2 (2;2)*	2 (1;2)*	1 (1;2)*

Примечание: *статистически значимые различия с соответствующей контрольной группой, непараметрический критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$

тер. Интересно, что в работах зарубежных авторов воспаление, вызванное *Propionibacterium acnes* у мышей, носило диффузный характер [10], что может быть связано с особенностями иммунного ответа к этому возбудителю.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Принимая во внимание, что, для акне характерно развитие ограниченного очага воспаления, наиболее корректной моделью является внутрикожная инъекция бактериального агента *Staphylococcus aureus* в основание скафонохального угла ушной раковины мышам Balb/c. Полученные результаты позволяют рекомендовать эту модель для оценки фармакологической активности новых лекарственных средств.

Intracoural injection of staphylococcus aureus bacteria in the scatfonconchal angle of the oven sink as a model of acne in laboratory animals

K. Kryshen, A. Muzhikyan, A.

Alyakrinskaya, M. Kovaleva, M. Makarova, V. Makarov
ABSTRACT

Chronic recurrent inflammatory skin disease is an urgent problem in medicine. Acne is the most common disease of human skin. The basis of the development of acne lies the androgen-dependent process of hypersecretion of sebum, follicular hyperkeratosis and inflammation, which is the result of reproduction in the blocked sebaceous gland of a microbial agent. Pharmaceutical companies continue to search for new drugs for the treatment of this disease, the pharmacodynamic properties of which need to be confirmed at the stage of preclinical studies using experimental models on laboratory animals. The purpose of the experimental work was the development and selection of the most correct model of acne by intradermal injection of *Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus*) bacteria as one of the possible causative agents of acne in hu-

mans, in the scaphoocular angle of the auricle in mice of different lines and outbred rats. On the basis of the results obtained, the inflammation caused by the intradermal injection of the bacterial agent *Staphylococcus aureus* into the auricle to the Balb / s mice most fully reflected the morphological pattern of inflammation in acne, which was manifested by edema, the presence of pustules and had a localized character. The rats recorded the most vivid and persistent clinical picture of inflammation. Observed the edema and the presence of pustules during 4 days after intradermal injection of bacterial suspension of *Staphylococcus aureus* into the scaphoocular angle of the auricle. The results obtained after weighing the auricles testify to the development of the inflammation of the auricle after intradermal administration of the bacterial suspension on the 2nd day and the reduction of the inflammatory process to the 4th day in all species of animals.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

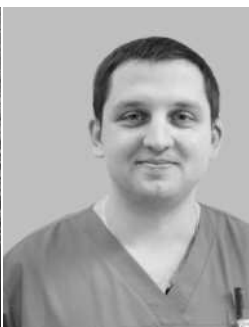
1. Аравийская, Е.Р. Тактика ведения пациентов с себореей и акне / Е.Р. Аравийская, Е.В. Соколовский, Г.Н. Михеев, Н.Н. Третьякова, Г.Н. Соколов, А.В. Кузнецов // Сборник статей. Выпуск 1. СПб. МАЛО, кафедра медицинской косметологии. Санкт-Петербург. -2000. -С.26-29.
2. Бурцева, Г.Н. Перифоликулярная микробиота кожи при акне. Часть I. Общие характеристики колонизации и резистентность к системным антибиотикам / Г.Н. Бурцева, А.Ю. Сергеев, В.Г. Арзуманян, Ю.Ю. Сергеев // Иммунопатология, аллергология, инфектология. -2013. -№2. -С.84-87.
3. Кириченко, И.М. Экспериментальное обоснование использования новых препаратов для наружной терапии инфекционных дерматозов // Альманах клинической медицины. -2007. -№15. -172с.
4. Мужикян, А.А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных / А.А. Мужикян, Макарова М.Н., Гуцин Я.А. // Международный вестник ветеринарии. -2014. -№2. -С.103-109.
5. Рыбакова, А.В. Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с европейской директивой 2010/63 / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. -2015. -№2. -С.96-107.
6. Рыбакова, А.В. Маркировка и идентификация лабораторных животных для проведения научно-исследовательских работ / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. -2014. -№4. -С.81-90.
7. Рыбакова, А.В. Санитарный контроль экспериментальных клиник (вивариев) в соответствии с локальными и международными требованиями / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. -2015. -№4. -С.81-89.
8. Селезнева, А. И. Методы рандомизации животных в эксперименте / А. И. Селезнева, М. Н. Макарова, А. В. Рыбакова // Международный вестник ветеринарии. -2014. - № 2. -С. 84-89.
9. Fanelli, M. Antibiotics, acne, and *Staphylococcus aureus* colonization / M. Fanelli, E. Kupperman, E. Lautenbach, P.H. Edelstein, D.J. Margolis // Arch. Dermatol. -2011. -Vol.147. -P.917-921.
10. Nakatsuji, T. Antibodies Elicited by Inactivated *Propionibacterium acnes*-Based Vaccines Exert Protective Immunity and Attenuate the IL-8 Production in Human Sebocytes: Relevance to Therapy for Acne Vulgaris / T. Nakatsuji, Y. Liu, C. Huang, R. Gallo, C. Huang // Journal of Investigative Dermatology. -2008. -Vol.128. -P.2451-2457.
11. Tanghetti, E.A. The Role of Inflammation in the Pathology of Acne // J. Clin. Aesthet. Dermatol. -2013. -Vol.6. -P.27-35

ОТОАКУСТИЧЕСКАЯ ЭМИССИЯ КАК МЕТОД ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЛУХОВОГО АНАЛИЗАТОРА

С.Г. Журавский^{1,2} – д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории слуха и речи НИЦ ПСПбГМУ, руководитель научной группы экспериментальной патоморфологии ИЭМ СЗФМИЦ, А. А. Паневин^{1,2} – аспирант лаборатории слуха и речи НИЦ ПСПбГМУ, младший научный сотрудник научной группы экспериментальной патоморфологии ИЭМ СЗФМИЦ

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, ²ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России

Ключевые слова: исследование слуха у экспериментальных животных, отоакустическая эмиссия ототоксичность, отопротекция. **Key words:** study of hearing in experimental animals, otoacoustic emission, ototoxicity, otoprotection.



РЕФЕРАТ

Представлен метод исследования отоакустической эмиссии (ОАЭ) для объективной оценки состояния слухового анализатора у экспериментальных животных (крыс, мышей, монгольских песчанок, морских свинок). ОАЭ представляет собой волновой микромеханический ответ волосковых клеток спирального органа улитки, измеряемый в наружном слуховом проходе. Данные ОАЭ позволяют получать картину функциональной активности акустического рецептора быст-

рым в исполнении, неинвазивным и адекватным для групповых сравнений способом. Существующие неспециализированные (клинические) приборы дают возможность проводить оценку в диапазоне 1-8 кГц. У каждого из грызунов имеются свои особенности этих кривых, коррелирующих с видовыми максимумами слуховой чувствительности в области высоких и ультразвуковых частот. При работе с этими биологическими объектами наиболее демонстративными оказываются результаты анализа режима ОАЭ на частоте продукта искажения. Оптимальными средствами общей анестезии при исследовании ОАЭ являются Золетил (внутрибрюшинные инъекции) и изофлюран (ингаляционный наркоз). Мы проводили исследование ОАЭ на приборе «Нейро-Аудио» (ООО «Нейрософт», Россия) с программным обеспечением «Neuro-Audio.NET». В этом случае, в зависимости от вида животного, получают данные амплитуд ОАЭ с величинами от 10-15 дБ до 25-30 дБ. Изучение показателей амплитуды ОАЭ может быть востребовано в ветеринарной практике в рамках характеристики общего состояния здоровья животных, в экспериментальных исследованиях в токсикологии, психофармакологии и отоневрологии. В рамках доклинических исследований метод будет полезен для отбора животных с интактным слухом, в исследованиях по скринингу фармакологических субстанций на выявление ототоксического потенциала, оценке положительных ототропных (слухосохраняющих) свойств.

ВВЕДЕНИЕ

В экспериментальной патологии (токсикологии, психофармакологии, отоневрологии) нередко возникают задачи, связанные с трактовкой ответов на акустическую стимуляцию. Для этого необходимо быть уверенным в сохранности слуховой системы животных перед экспериментом. Наиболее «древним» способом решения этой задачи является исследование простейших защитных безусловно-рефлекторных реакций защитного характера (Preyer's reflex) [6]. Позднее слуховая функция в экспериментах оценивалась при изучении электрических ответов головного мозга – коротколатентных слуховых вызванных потенциалов – на акустический раздражитель (щелчок, тон) [1]. Этот объективный метод дает информацию как о состоянии структур внутреннего уха, так и проводников – ретрокохлеарного участка цепи слухового анализатора [7]. Главным его недостатком является методическая громоздкость. Открытый в 1978 г. Д. Кэмпом феномен отоакустической эмиссии послужил фундаментальным основанием для разработки новой методики оценки функциональной активности улитки [5,10].

Отоакустическая эмиссия (ОАЭ) представляет собой волновой микромеханический ответ структур улитки, измеряемый в наружном слуховом проходе. Источником формирования ОАЭ становятся активно со-кращающиеся наружные волосковые клетки (НВК), которые либо спонтанно, либо в ответ на звуковой стимул генерируют механическую энергию внутри улитки. Эта функция спирального органа (СО) развивалась в процессе эволюции анализатора, как внутриорганный механизм «обратной связи», который позволяет рецептору в допустимом диапазоне регулировать интенсивность механоэлектрической трансдукции. Происходит это путем глушения избыточной амплитуды колебаний волокон базилярной мембраны сокращениями пула НВК

при эфферентной импульсации в рамках безусловно-рефлекторного ответа. Демпфирование афферентной импульсации снижает риск развития экзайтоксического повреждения возбудимых структур анализатора. Физиологической метафорой будет, если определить, что для улитки значение эфферентной системы (пучка Расмуссена) подобно значению *p. vagus* для сердца. С целью обеспечения этой функции НВК экспрессируют ряд сократительных мышечных белков, таких как *Myo 7a* и *престин* [5,13].

Создаваемая сокращениями НВК быстро затухающая звуковая волна передается через мембраны улитковых окон, структуры среднего уха и может быть зарегистрирована в виде акустического сигнала в наружном слуховом проходе высокочувствительным микрофоном [9,12]. Параметром оценки ОАЭ является ее интенсивность, характеризующаяся амплитудой ответа, измеряемой в дБ уровня звукового давления (УЗД). С органичной точки зрения ОАЭ представляется способом тонотопической оценки функциональной сохранности СО (рис. 1).

Из-за своей доступности и понятной трактовки метод приобрел широкую популярность в клинике для проведения аудиологического скрининга у новорожденных в условиях родильных домов [5]. В тоже время в последнее десятилетие метод стал активно использоваться в экспериментальной патологии для оценки остроты слуха в условиях *in vivo*.

Цель работы – представить возможности объективной оценки состояния слуха у экспериментальных животных при использовании метода отоакустической эмиссии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные и условия их содержания.

Работа выполнена на самцах крыс, стока Wistar (200-220 г, N=5), самцах нелинейных мышей (25 г, N=5), пигментированных морских свинках (самцы, 250-380 г, N=5) (ФГУП «ПЛЖ «Рапполово», РФ) и самцах монгольских песчанок (40 г, N=5) без признаков соматической патоло-

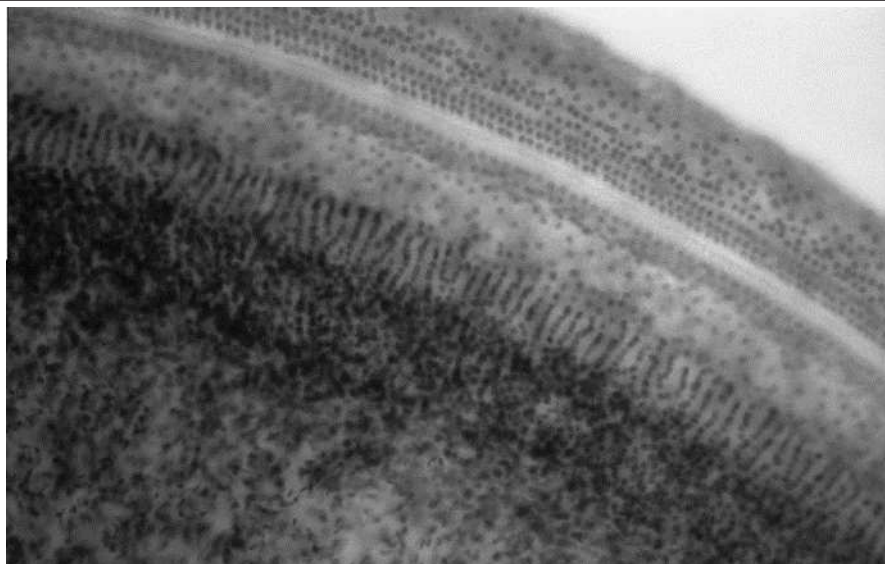


Рис 1. Плоскостной препарат спирального органа интактной морской свинки на уровне основного завитка улитки (Окраска по Einarson'у. Ув. $\times 140$). Три ряда НВК отделены от ряда ВВК светлой линией туннеля Корти.

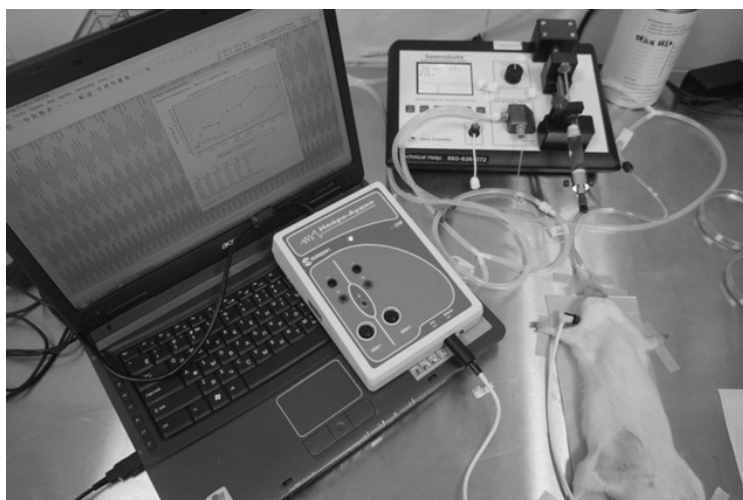


Рис 2. Экспериментальное животное в состоянии ингаляционной анестезии изофлюраном.

гии, с сохранным рефлексом Прейера и без признаков воспаления при отоскопии. Рефлекс Прейера проверяли простейшим способом по реакции животных на щелчок в свободном звуковом поле.

Содержание животных и выполня-

емые экспериментальные исследования соответствовали рекомендациям руководства по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПБГМУ им. И.П. Павлова [2].

Измерение отоакустической эмиссии (ОАЭ)

Оценка ОАЭ производилась на приборе «Нейро-Аудио» (ООО «Нейрософт», Россия), подключенном к персональному компьютеру с программным обеспечением «Neuro-Audio.NET» (рис. 2). Герметичность obturation зондом наружного слухового прохода у животных обеспечивали с помощью одного из прилагаемого в комплекте вкладыша конической формы для исследования слуха у новорожденных. В работе изучали один из вариантов ОАЭ – отоакустическую эмиссию на частоте продукта искажения (distortion product otoacoustic emission – DPOAE). Выбор связан с тем, что по техническим возможностям прибора именно методика DPOAE позволяет характеризовать функциональную сохранность НВК в зоне спирального органа, ответственной за восприятие звуков выше 5 кГц (рис. 3). Подобная необходимость обусловлена тем, что у грызунов слуховое восприятие смещено в сторону высоких частот. Кривая их слышимости лежит в диапазоне от 0,8-1,0 кГц до 80-100 кГц с максимальной слуховой чувствительностью у белых крыс в зоне выше 8-10 кГц, у морских свинок и песчанок – от 1 до 10 кГц, у мышей – от 10 до 20 кГц [6,8].

Измерения проводили поочередно на обоих ушах у животных в условиях

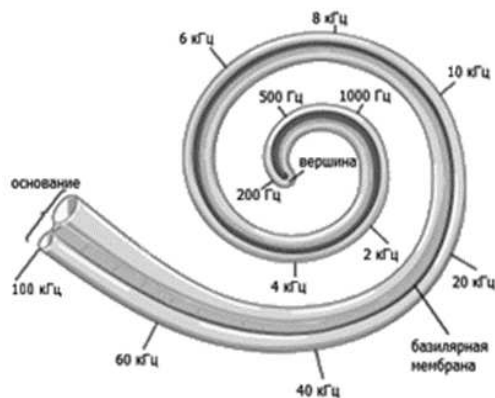


Рис 3. Схематическое изображение расположения зон слуховой чувствительности у крысы.

общей анестезии («Золетил 100», 6 мг/кг, i.p.) или ингаляционным введением изофлюрана (кислородно-воздушная смесь с 2,5% содержанием изофлюрана) (рис. 2).

Ответы на стимулы накапливались в течение 180 сек. Для анализа использовали только те показатели ОАЭ, амплитуда которых по шкале была не ниже – 10 дБ УЗД и одновременно выше на 3 дБ уровня фиксируемого шума на данной частоте.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

У крыс ОАЭ на частоте продукта искажения достоверно начинала фиксироваться с частоты 1,5 кГц. Кривая графически имеет косовосходящую (под углом 45-55°) форму. Уровень плато фиксируется в диапазоне 2-6 кГц на интенсивности 25-30 дБ УЗД (рис. 4а).

У мышей ОАЭ начинает фиксироваться с 5,0 кГц. Кривая имеет плавно восходящую форму. Амплитуда ответов заметно меньше – достигает только 10-15 дБ УЗД (рис. 4б).

У морских свинок наблюдается иной ход кривой ОАЭ. Достоверные показатели ОАЭ начинают фиксироваться сразу же с частоты 700 Гц, выходя в плато уже на последующей частоте при амплитуде 25-30 дБ УЗД (рис. 4в).

У монгольских песчанок кривая ОАЭ схожа с морскими свинками.

Отмеченные особенности хода кривой ОАЭ (начало подъема) у различных видов грызунов несут прямую корреляцию с видовыми максимумами слуховой чувствительности в области высоких и ультразвуковых частот (рис. 4).

Для демонстрации практического применения метода на рис. 4г представлена кривая ОАЭ после моделирования острого акустического повреждения слухового анализатора у крысы. В этом случае отмечается косонисходящее движение кривой ОАЭ, начиная с 3 кГц и при полном угнетении амплитуды на последующих частотах.

В случае тотального повреждения сенсоневральных элементов слухового анализатора (ототоксичность, латентные лабиринтиты), а также при кондуктивной

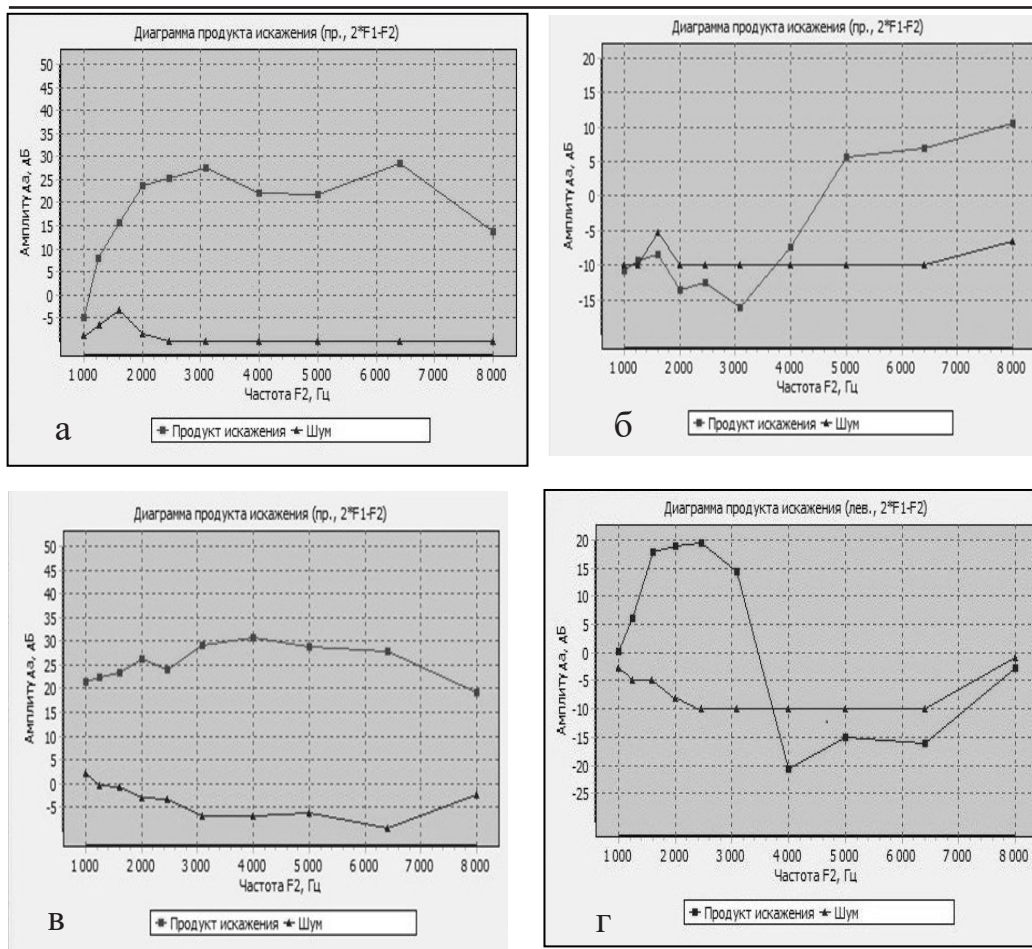


Рис. 4. Кривая ОАЭ на частоте продукта искажения изучаемых животных.
 а – интактная крыса; б – интактная мышь; в – интактная морская свинка; г – крыса после акустической стимуляции на частоте 5,0 кГц интенсивностью 110-112 дБ в течение 2 часов.

патологии (гнойный, экссудативный отит и пр.) показатели ОАЭ не фиксируются. Подобное состояние трактуется как отсутствие слуховой функции.

ОБСУЖДЕНИЕ

Применение «клинического прибора» у экспериментальных животных, принимая во внимание частотный диапазон слуха грызунов, позволяет давать оценку функциональной активности спирального органа в области верхушки улитки (рис. 3).

Критерием включения для воз-

можности индивидуального проведения данной методики должен быть активный, живой рефлекс Прейера. При наружном и отоскопическом осмотре требуется убедиться в интактности состояния наружного слухового прохода и барабанной перепонки. Обнаружение ее рубцов, указывающих на возможный адгезивный процесс в тимпанальной булле, перфораций, выбуханий в просвет наружного слухового прохода за счет экссудата, гноетечения, есть основание для выбра-

ковки животных из экспериментальной группы. Идеальная картина барабанной перепонки делает излишним применение импедансной тимпанометрии, как средства отбора в группу для эксперимента животных с патологией среднего уха.

При всей кажущейся простоте метод требует серьезного навыка экспериментатора. Получаемый ответ ОАЭ чувствителен к процессу установления акустического зонда. В условиях мизерных размеров слухового прохода лабораторных грызунов неверно выбранное направление при установке приводит к тому, что зонд упирается в стенку слухового прохода. При этом появляется артефакт в фиксации амплитуды ОАЭ – ее отсутствие или резкое угнетение.

В экспериментальных условиях для анестезии препаратом первого выбора можно считать ингаляционный анестетик изофлюран, так как он минимально токсичен из-за низкого коэффициента растворения в крови, однако, для его использования требуется специальное анестезиологическое оборудование (рис. 3) [2]. Из инъекционных средств по данным нашего коллеги С.А. Иванова при исследовании ОАЭ оптимальным для анестезии является золетил [4]. Сочетание тилетамина и золазепам в одном лекарственном препарате обеспечивает плавное вхождение в наркоз, достаточную глубину анестезии, выраженный седативный эффект, практически не угнетает дыхание и сердечную деятельность. Немаловажно, что препарат доступен для применения в ветеринарной практике и не требует особых условий использования и хранения [11,14].

В экспериментах отоневрологического профиля анализ ОАЭ, характеризующий функциональную активность анализатора, целесообразно проводить с последующим исследованием гистологической картины улитки. В зависимости от задач, это возможно как традиционным способом (с приготовлением поперечных срезов через модиолус), так и с помощью плоскостных препаратов спирального органа, приготовляемых по методике Я.

А. Винникова и Л. К. Титовой [3].

Исследование ОАЭ представляет собой перспективную методику для экспериментов по скринингу ототоксических, отопротективных свойств фармакологических веществ, для экспериментов психофармакологического профиля, в которых изучаются рефлекторные ответы, связанные с акустическим анализатором, для оценки сохранности слуховой функции у генетически модифицированных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Измерение ОАЭ является практичным, объективным, количественным, неинвазивным и быстрым способом тонотопической оценки функции улитки.

2. Кривая ОАЭ у каждого вида грызунов имеет свои специфические особенности, свойственных видовым максимумам слуховой чувствительности в области высоких и ультразвуковых частот.

Otoacoustic emission: a method for assessment of the functional status of the auditory analyzer

S. G. Zhuravskii1, A. A. Panevin

ABSTRACT:

Otoacoustic emission (OAE) testing method for objective assessment of the status of the auditory analyzer in experimental animals (rats, mice, Mongolian gerbils, guinea pigs) is presented. OAE is a wave micromechanical response of hair cells in the spiral organ of the cochlea measured in the external auditory canal. OAE data enable to monitor the acoustic receptor's functional activity using a quick, noninvasive and group comparison-appropriate technique. Current non-specialized (clinical) instruments make it possible to assess in the 1-8 kHz range. Each of the rodents has its specificities of these curves correlating with the species' peak levels of auditory sensitivity in the high and ultrasonic frequency range. It has emerged that when working with these biological objects the most demonstrative are the analysis results for the OAE mode at the distortion product frequency. Zoletil (intraperitoneal injections) and isoflurane (inhalation anaesthesia) are the optimal anesthetic agents for OAE testing. We performed the OAE study using the Neuro-Audio sys-

tem (NeuroSoft LLC, Russia) with NeuroAudio.NET software installed. In this case, depending on the species of animals, the OAE amplitude values were within the range from 10-15 dB to 25-30 dB. Studying the OAE amplitude values may be sought after in veterinary practice when assessing the overall health of the animals, in experimental studies in toxicology, psychopharmacology and otoneurology. In the preclinical studies, this method will be useful for selection of animals with intact hearing, screenings of pharmacological agents for potential ototoxicity, assessment of beneficial otoprotective (hearing preservational) properties.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Альтман А.Я. Руководство по аудиологии / А.Я. Альтман, Г.А. Таварткиладзе. – М.: ДМК Пресс, 2003. – 359 с.
- 2.Белозерцева И.В. Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И.П. Павлова / И.В. Белозерцева, О.А. Драволина, М.А. Тур. – СПб.: Издательство СПбГМУ, 2014. – 80 с.
- 3.Винников Я.А. Метод прижизненной изоляции перепончатого лабиринта (улитки и преддверия), приготовления и описания плоскостных препаратов кортиева органа / Я.А. Винников, Л.К. Титова // Арх. анат. –1959. –Т.36, №4. –С. 82.
- 4.Иванов С.А. Обеспечение отодоступности с помощью наноразмерных носителей и отопротективный эффект звукового прекондиционирования: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Иванов Сергей Александрович. – СПб. – 2014. – 20 с.
- 5.Таварткиладзе Г.А. Руководство по клинической аудиологии / Г.А. Таварткиладзе. – М.: Медицина, 2013. – 676 с.
- 6.Brown A.M. Auditory sensitivity at high frequencies in mammals / Brown A.M., Pye J.D. // Adv. Comp. Physiol. Biochem. – 1975. – Vol.6. – P.1-73.
- 7.Burkard R.F. Auditory Evoked Potentials: Basic Principles and Clinical Application / R.F. Burkard, M. Don, J.J. Eggermont. New York, 2007. – 731p.
- 8.Fay R.R. Hearing in vertebrates: A psychophysics databook // Winnetka., IL. – 1988. – P. 363-366.
- 9.Harel N. The effects of an-esthesia on otoacoustic emissions / N. Harel, A. Kakigi, H. Hirakawa. et al // Hear. Res. –1997. – Vol.110, N1-2. – P. 25-33.
- 10.Kemp D. T. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system // J. Acoust. Am. – 1978. – Vol. 64. N5. – P. 1386-1391.
- 11.Machado E.F. Effects of different general anesthetics on serum hemolysis and hepatic and muscular glycogenolysis in rats / E.F. Machado, A.C. Normand, L.A. Nunes, R. Brenzikofer, D.V. Macedo // Hear Res. – 2009. – Vol. , N11. – P.1035-38.
- 12.Musiek F. Otoacoustic Emissions and the Olivocochlear Bundle // The Hear. Journ. – 1992. – Vol.45. N11. – P. 12-15.
- 13.Robinette M.S. Otoacoustic Emissions: Clinical Applications / M.S. Robinette, T.J. Glatcke. Ed. 3 edition. – Thieme, 2007. – 496p.
- 14.Saha D.C. Comparison of cardiovascular effects of tiletamine-zolazepam, pentobarbital, and ketamine-xylazine in male rats / D.C. Saha, A.C. Saha, G. Malik, M.E. Astiz, E.C. Rackow // J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. – 2007. – Vol.46. – P.74-80.

ОЦЕНКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРЕПАРАТА ОРОЗИН НА МОДЕЛИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Буренков П.В. 1- фармаколог группы экспериментальной фармакологии, Лютов А.Г. 2- д.б.н., зам. генерального директора ООО "Иммуно-Гем", Ванатиев Г.В. 1- токсиколог группы фармакодинамики, Ковалева М.А. 1- к.б.н., руководитель группы фармакодинамики, Макарова М.Н. 1 – д.м.н., зам. директора по науке, Макаров В.Г. 1- д.м.н., профессор.

1- ЗАО «Санкт-Петербургский Институт Фармации»; 2 – ООО «Иммуно-Гем»

Ключевые слова: доклинические исследования, крысы, геморрагический инсульт, Орозин, Церебролизин. **Key words:** pre-clinical studies, rats, hemorrhagic stroke, Orazin, Cerebrolizin.



РЕФЕРАТ

Целью данного исследования являлось изучение специфической фармакологической активности препарата Орозин на модели экспериментального геморрагического инсульта (Subarachnoid Hemorrhage – SAH) у крыс линии Wistar. Препарат вводили трехкратно внутривенно в дозах 130, 260 и 400 мг/кг. В качестве препарата сравнения был выбран Церебролизин в дозе 538 мг/кг.

Критериями эффективности действия препаратов в динамике послужили: смертность, неврологический статус, поведение животных в тесте «открытое поле», сохранность условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ), степень дефицита двигательной координации в тесте «проваливания лап» (Foot Fault Test, FTT).

На фоне введения препаратов во всех экспериментальных дозах была отмечена тенденция к снижению тяжести неврологической симптоматики экспериментальных животных при сохранении таковой у животных контрольной группы. Тестируемый препарат Орозин в дозах 260 и 400 мг/кг оказал статистически достоверное влияние на снижение тяжести неврологического статуса животных. Кроме того, достоверное снижение тяжести неврологического статуса животных было отмечено и при применении препарата сравнения Церебролизин, что подтверждает адекватность воспроизведенной модели. По результатам проведенного теста «УРПИ» в группе с применением тестируемого препарата Орозин в дозе 400 мг/кг на протяжении всего исследования отмечали достоверные отличия по всем показателям от группы контроля, свидетельствующие о сохранении когнитивных функций на фоне инсульта.

ВВЕДЕНИЕ

Действующим веществом препарата Орозин является альфа-1 кислый гликопротеин – представитель семейства белков острой фазы. Концентрация кислого гликопротеина в сыворотке крови при отсутствии острых состояний составляет 13,4-

34,1 мкмоль/л (0,4 – 1,3 г/л), что составляет 0,5-2,0% от общего количества содержания белков в крови. Показано, что уровень кислого гликопротеина повышается в 2-4 раза в течение периода острой фазы воспаления при различных заболеваниях и состояниях, что позволяет использовать его концентрацию в крови в качестве диа-

гностического и прогностического параметра [7].

Кислый гликопротеин участвует в регуляции проницаемости сосудистой стенки, реологических свойств крови, течения воспалительных процессов, а также выступает как фактор, повышающий неспецифическую резистентность организма [2].

Инсульт определяется как «быстро развивающиеся клинические признаки очагового (или общего) нарушения функции головного мозга, удерживающиеся более 24 ч или приводящие к смерти при отсутствии каких-либо причин, кроме причин сосудистого происхождения». Субарахноидальное кровоизлияние – это угрожающее жизни состояние, которое может привести к инвалидизации пациента даже в случае ранней диагностики и своевременного лечения. Частота встречаемости субарахноидального кровоизлияния составляет 2-16 случаев на 100000 населения. До половины всех случаев возникновения субарахноидального кровоизлияния заканчиваются летальным исходом, 10-15 % больных погибают ещё до поступления в стационар [9]. При всей тяжести заболевания, до сих пор не разработаны лекарственные средства, позволяющие значительно снизить риски неблагоприятного исхода. Таким образом, актуальность поиска новых лекарственных препаратов, направленных на лечение данной патологии, а также на снижение тяжести течения заболевания не вызывает ни малейших сомнений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте были использованы крысы самцы линии Wistar, сформированные в 7 групп по 20 особей в каждой группе [6]. Животных содержали в стандартных условиях вивария [5]. Масса животных к моменту начала эксперимента составляла 300-350 г, возраст 11-13 недель. Данный вид животных является наиболее подходящим и часто используемым для моделирования патологий головного мозга, в частности субарахноидального кровоизлияния [12]. Первая группа – интактная (отрицательный контроль), вторая группа

– ложнооперированная (только оперативный доступ для моделирования патологии), третья группа – контроль без лечения (позитивный контроль), группы 4-6 – на фоне сформированной патологии получали препарат Орозин в трех дозах, седьмая группа – лечение Церебролизином в одной дозе на фоне патологии.

Субарахноидальное кровоизлияние моделировалось путем внутрипросветной перфорации сосудов основания черепа по методу Zea Longa [13] в модификации Bederson [8]. Доступ осуществлялся через внутреннюю сонную артерию, на которую накладывали 2 лигатуры, между которыми была пересечена артерия (рис.1,2). Затем через отрезок наружной сонной артерии вставляли монофиламент, который проводили во внутреннюю сонную артерию и проводили внутрь к основанию головного мозга на 24 мм (рис. 3). После перфорации среднемозговой артерии, монофиламент удаляли, накладывали лигатуру на дистальный отрезок наружной сонной артерии, после чего восстанавливали кровоток. Далее послеоперационная рана была послойно ушита, шов – обработан антисептиком.

Тестируемый препарат Орозин вводили животным внутривенно, так как этот путь введения предусмотрен для применения в клинической практике. Аналогичный путь введения был использован для препарата сравнения. Препараты вводили трехкратно – через 20 минут после моделирования патологии и затем на 2-е и 3-е сутки. Орозин был протестирован в трех дозах - высшая доза была лимитированная предельно допустимым объемом и составила 400 мг/кг, доза 260 мг/кг (2/3 высшей дозы) и 130 мг/кг (1/3 высшей дозы). Согласно литературным данным, доза Церебролизина 2,5 мл/кг является максимально эффективной для коррекции неврологических нарушений, обусловленных инсультом у крыс [23], что эквивалентно протестированной в ходе исследования дозе Церебролизин 538 мг/кг. Препараты вводили на основании последних данных по массе тела крыс, взвешивание осуществляли перед каждым введением.

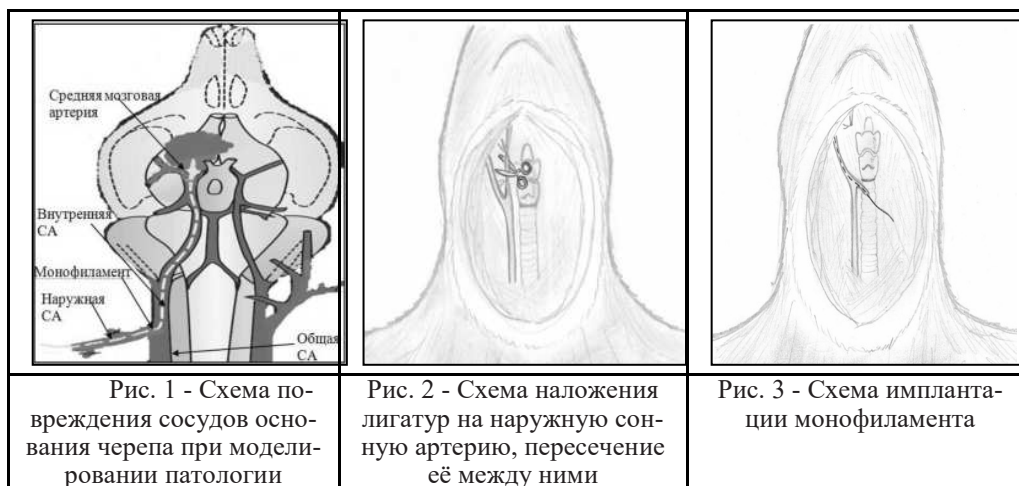


Таблица 1

Схема оценки неврологического статуса у животных

№	Показатель	Баллы	№	Показатель	Баллы
1	Атаксия	-	6	Боковой рефлекс	-
	нет	0		сохранен	0
	есть	1		отсутствует	1
2	Нарушение координации	-	7	Хватательный рефлекс	-
	нет	0		двумя лапами	0
	есть	1		одной лапой	1
3	Стереотипные движения	-	8	отсутствует	2
	нет	0		Корнеальный рефлекс (роговичный рефлекс)	-
	слабо выражены	1		сохранен	0
4	сильно выражены	2	9	отсутствует с одной стороны	1
	Реакция на акустический стимул	-		отсутствует с двух сторон	2
	есть	0		Ипсилатеральный флексорный рефлекс	-
5	отсутствует	1	10	нет	0
	Палпебральное закрытие	-		отсутствует на одной лапе	1
	веки широко открыты	0		отсутствует на обеих лапах	2
	птоз	1		Отрицательный геотаксис	-
				есть	0
				нет	1

Объемы для введения не превышали допустимые для данного вида лабораторных животных [1].

Тест проваливания лап (Foot Fault Test) проводили на 3, 7 и 10 сутки после формирования патологии. Данный тест ориентирован на оценку силы сцепления и координации животного [3].

Функциональное состояние нервной системы животных было оценено с помощью набора тестов, характеризующих сохранность основных рефлексов [10]. Успешность выполнения тестов была оценена в баллах (таблица 1). Оценку проводили на 3, 7 и 10 сутки после формирования патологии.

Когнитивные функции животных оценивали в тесте УРПИ (условный рефлекс пассивного избегания). Оценку когнитивных функций животных проводили при помощи установки УРПИ при красном освещении. Установка представляет собой клетку, разделенную на 2 камеры: светлую и темную. Пол темной камеры оборудован металлическими пластинами с подведенным к нему током 1-50 мА, напряжение 40В. Длительность нахождения животного в установке в период тестирования составила 3 минуты.

На третий, седьмой и десятый день после индукции патологии было проведено тестирование животных в экспериментальной установке УРПИ для оценки ноцицептивной чувствительности оценки когнитивных функций животных. Регистрировали следующие показатели: количество заходов в темную камеру, длительность пребывания в светлой камере, длительность пребывания в темной камере. После проведения тестирования животных в экспериментальной установке УРПИ, была оценена сохранность УРПИ относительно тестирования УРПИ на третий день.

Оценку индивидуального поведения крыс в эксперименте проводили на 3-й, 7-й и 10-й дни после моделирования патологии в тесте «открытое поле» с учётом ориентировочно-исследовательского, эмоционального, стереотипного и двигательного компонентов по поведенческому

атласу для грызунов.

Эвтаназию животных осуществляли на 10 день после моделирования патологии с помощью CO₂ – камеры [4]. Патоморфологическому исследованию подлежали все экспериментальные животные в конце исследования.

Статистический анализ выполнялся с помощью программного обеспечения пакета статистических программ Statistica 10.0 (StatSoft, США). Различия были определены при 0,05 уровне значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Смертность животных в интактной и ложнооперированной группах отсутствовала. В остальных группах смертность была сопоставима и отмечалась только в первые двое суток после индукции патологии. В контрольной группе она составила 60%, в группах, получавших препараты 40 – 50% (рис. 4). Дозозависимого влияния препаратов на данный показатель отмечено не было.

У погибших животных при макроскопическом исследовании визуально отмечали наличие субарахноидальной гематомы на стороне поражения и кровоизлияние в основание головного мозга, что подтвердило корректность сформированной патологии.

В ходе исследования проводили ежедневное клиническое наблюдение в ходе которого наблюдали постепенное снижение упитанности, нарушение положения тела, осанки, координации движений и появление атаксии. Максимальное проявление признаков неврологического дефицита было отмечено на вторые и третьи сутки после моделирования патологии. Наиболее выражены признаки отмечены у животных контрольной группы. Кроме того, характерными признаками воспроизведенной модели субарахноидального кровоизлияния, являлись односторонний экзофтальм на стороне поражения (в результате развития внутрисерпной гипертензии), односторонние парезы и параличи на контрлатеральной стороне повреждения, а также вынужденное блуждание животных по кругу.

Влияние препаратов на дефицит

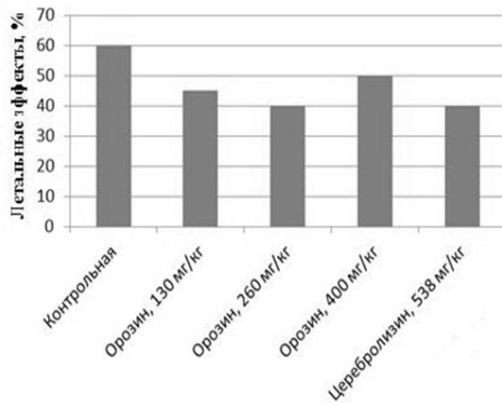


Рис. 4 - Летальность на 2-е сутки после индукции патологии.

двигательной координации оценивали в тесте FFT. Результаты представлены в таблице 2.

По данным FTT (Foot Fault Test) у животных ложнооперированной группы дефицит двигательной активности отсутствовал, так же как и у интактной группы, что свидетельствует об отсутствии влияния оперативного доступа на данный показатель. На третий день исследования у всех экспериментальных животных с моделированной патологией был отмечен ярко выраженный дефицит двигательной координации. Применение, как тестируемого препарата, так и препарата сравнения, к 10 дню введения выявило сохранение достоверной значимости дефицита двигательной координации по сравнению с интактной и ложнооперированной группами и не выявило отличий от группы контроля. Тем не менее, на фоне введения экспериментальным животным тестируемого препарата Орозин во всех дозах и препарата сравнения Церебролизин была отмечена тенденция к снижению дефицита двигательной активности.

На 3, 7 и 10 дни исследования проводили оценку тяжести неврологического статуса экспериментальных животных. Результаты оценки представлены в таблице 3.

На протяжении всего эксперимента выраженность и распространенность

неврологических отклонений у животных контрольной группы были статистически значимо выше, чем у ложнооперированной и интактной групп. Животные данной группы характеризовались гиподинамией, атаксией, нарушением координации, что может свидетельствовать о поражении передних (моторных) отделов головного мозга.

Картина неврологической симптоматики у животных, получавших тестируемый препарат и препарат сравнения, была аналогичной таковой в контрольной группе, но менее выраженной. На фоне введения препаратов во всех экспериментальных дозах была отмечена тенденция к снижению тяжести неврологической симптоматики экспериментальных животных при сохранении таковой у животных контрольной группы. Тестируемый препарат Орозин в дозах 260 и 400 мг/кг вызвал статистически достоверное снижение тяжести неврологического статуса животных. Кроме того, достоверное снижение тяжести неврологического статуса животных было отмечено и при применении препарата сравнения Церебролизин, что также подтверждает адекватность воспроизведенной модели.

Результаты оценки состояния когнитивных функций у экспериментальных животных представлены на рисунках 5-7.

Показатели УРПИ ложнооперированной и интактной групп не отличались на протяжении всего эксперимента. На третьи сутки животные всех экспериментальных групп заходили в темную камеру преимущественно один раз. К 10 дню исследования у большинства животных, получавших терапию препаратами была отмечена сохранность УРПИ, которая варьировала от 27 до 60 %. При этом сохранность УРПИ у животных контрольной группы к 10 дню отсутствовала.

Поведение животных контрольной группы на протяжении всего исследования характеризовалось повторными заходами в темную камеру в пределах одного измерения, а также более длительным временем пребывания в ней. Сохранно-

Таблица 2

Влияние препаратов на дефицит двигательной координации в тесте «проваливания лап», количество «провалов» на день исследования, (M ± m)

Группы	n	3 день	7 день	10 день
Интактная	20	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Ложнооперированная	20	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Контрольная	8	20,9±2,0 [#]	19,9±1,3 [#]	17,8±0,9 [#]
Орозин, 130 мг/кг	11	19,1±0,9 [#]	15,6±0,8 [#]	13,1±1,2 [#]
Орозин, 260 мг/кг	12	18,4±1,0 [#]	16,6±1,1 [#]	15,5±1,0 [#]
Орозин, 400 мг/кг	10	17,7±1,3 [#]	16,4±1,9 [#]	13,2±1,2 [#]
Церебролизин, 538 мг/кг	12	18,7±1,2 [#]	15,3±1,6 [#]	15,2±1,6 [#]

Примечания: # - статистически значимо отличается от ложнооперированной группы согласно критерию Тьюки (p<0,05).

Таблица 3

Неврологический статус животных после моделирования патологии (Me(Q₁;Q₃))

Группы	n	3 день	7 день	10 день
Интактная	20	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)
Ложнооперированная	20	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)
Контрольная	8	12,0(10,5;12,0) [#]	8,0(7,0;9,0) [#]	8,0(8,0;9,0) [#]
Орозин, 130 мг/кг	11	11,0(10,0;11,0) [#]	8,0(8,0;9,0) [#]	8,0(7,0;9,0) [#]
Орозин, 260 мг/кг	12	10,0(9,0;11,0) ^{#^}	8,0(7,5;9,0) [#]	7,0(6,0;7,5) ^{#^}
Орозин, 400 мг/кг	10	9,0(8,0;10,0) ^{#^}	6,5(5,0;8,0) ^{#^}	6,0(5,0;6,0) ^{#^}
Церебролизин, 538 мг/кг	12	9,0(8,0;9,0) ^{#^}	7,5(7,0;8,5) [#]	7,0(6,0;7,5) ^{#^}

Примечания:

- статистически значимо отличается от ложнооперированной группы согласно критерию Манна-Уитни (p<0,05)

^ - статистически значимо отличается от контрольной группы согласно критерию Манна-Уитни (p<0,05).

сти рефлекса отмечено не было, что говорит о том, что в условиях данной патологии нарушаются функции долговременной и кратковременной памяти, что также проявляется и у людей.

На протяжении всего эксперимента в группе, получавшей тестируемый препарат Орозин в дозе 400 мг/кг, отмечали достоверное отличие от группы контроля по времени, проведенном как в темной,

так и в светлой камере. Тенденция к снижению количества заходов в темную камеру и времени, проведенному в ней, также наблюдалась и в других экспериментальных группах, однако, достоверных отличий от группы контроля выявлено не было.

Во всех экспериментальных группах, получавших исследуемые препараты, наблюдали сохранность УРПИ, максимум

которой выявлен в группе с применением тестируемого препарата в дозе 400 мг/кг и составил 60%. При этом в группе препарата сравнения Церебролизин сохранность УРПИ составила 33 %.

Изучение ориентировочно-исследовательского поведения и двигательной активности проводили в установке «открытое поле». Животные контрольной группы и групп, получавших исследуемые препараты, проявляли выраженное снижение локомоторной и поисковой активности. Также в группах с патологией у животных были отмечены случаи оцепенения и заваливания животных на бок (в подавляющем большинстве - на правый), что можно интерпретировать как неоднородное поражение головного мозга преимущественно на стороне моделирования патологии. В группах, получавших препараты, оцениваемые показатели не отличались от контрольной, однако была отмечена тенденция к уменьшению времени оцепенения. Результаты по изменению времени оцепенения приведены на рисунке 8. К 10-му дню исследования, в связи с уменьшением у животных интактной группы двигательной активности (за счет запоминания установки «открытое поле»), а также ее увеличением к контрольной группе, межгрупповых отличий выявлено не было. Кроме того, дозозависимой тенденции в увеличении двигательной и поисковой активности у животных групп, получавших тестируемый препарат, отмечено также не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На фоне применения исследуемых препаратов во всех экспериментальных дозах была отмечена тенденция к снижению тяжести неврологической симптоматики у экспериментальных животных при сохранении таковой у животных контрольной группы. Тестируемый препарат Орозин в дозах 260 и 400 мг/кг статистически достоверно снижал тяжесть неврологического статуса животных. Наиболее выраженный эффект был отмечен при применении Орозина в дозе 400 мг/кг. Кроме того, достоверное снижение тяжести неврологического статуса животных

было отмечено и при применении препарата сравнения Церебролизин.

Применение, как тестируемого препарата, так и препарата сравнения, к 10 дню введения выявило сохранение достоверной значимости дефицита двигательной активности по сравнению с интактной и ложнопериорированной группами, однако не выявило отличий от группы контроля. На основании этого, можно утверждать об отсутствии влияния исследуемых препаратов на данный показатель.

В результате оценки ориентировочно-исследовательского поведения животных не выявлено влияния исследуемых препаратов на показатели двигательной активности и поведения животных.

По результатам проведенного теста «УРПИ» в группе с применением тестируемого препарата Орозин в дозе 400 мг/кг на протяжении всего исследования отмечали достоверные отличия по всем показателям от группы контроля, свидетельствующие об увеличении у животных когнитивных функций. Кроме того, сохранность УРПИ в группах тестируемого препарата в дозах 130, 260 и 400 мг/кг составила 27, 33 и 60 % соответственно, при отсутствии сохранности УРПИ в контрольной группе и сохранности УРПИ у препарата сравнения Церебролизин – 33%.

Таким образом, в результате проведенного исследования, в условиях воспроизведенной модели геморрагического инсульта, у тестируемого препарата Орозин была установлена специфическая фармакологическая активность, проявляющаяся в увеличении мнестических способностей у экспериментальных животных. Данное действие в ряде случаев превосходило действие препарата сравнения Церебролизин.

Evaluation of the pharmacological effects of the drug on Orozin model of hemorrhagic stroke

Bourenkov P.V., Liutov A.G., Vanatiev G.V., Kovaleva MA, Makarova M.N., Makarov V.G.

ABSTRACT

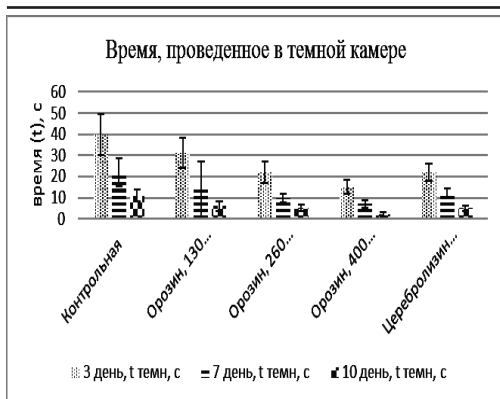


Рис. 5 – Время, проведенное в светлой камере в тесте УРПИ

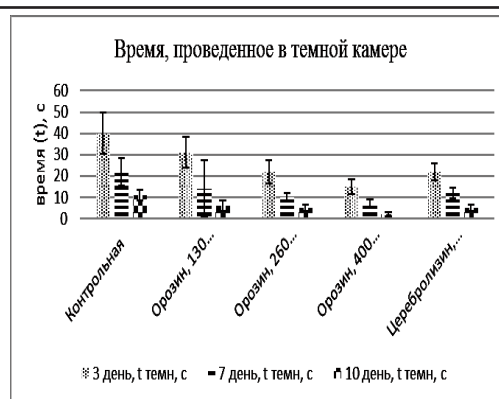


Рис. 6 – Время, проведенное в светлой камере в тесте УРПИ

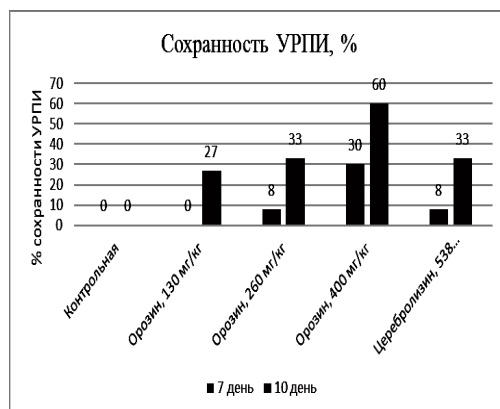


Рис. 7 - % сохранности УРПИ экспериментальных животных на 7-й и 10-й дни

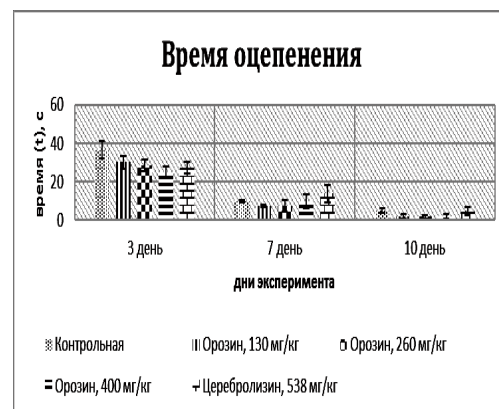


Рис. 8 – Оценка времени оцепенения животных при проведении теста «Открытое поле».

The aim of this study was to investigate the specific pharmacological activity of the drug Orozin experimental model of hemorrhagic stroke (subarachnoid hemorrhage - SAH) in Wistar rats. The drug was administered intravenously in doses three times 130, 260 and 400 mg / kg. As a comparison, the drug was chosen Cerebrolisin dose of 538 mg / kg. The criteria for the effectiveness of the drugs in the dynamics served as mortality, neurological status, the behavior of animals in the "open field" test the safety of passive avoidance (CRPA), the degree of motor coordination deficits in the test of "falling through the clutches» (Foot Test Fault, FTT). Against the background of the introduction

of drugs in all experimental doses showed a trend to a decrease in the severity of neurological symptoms in experimental animals, while maintaining that of the control group. Orozin test drug in doses of 260 and 400 mg / kg had a statistically significant effect in reducing the severity of the neurological status of animals. In addition, a significant decrease in the severity of the neurologic status of the animals was observed, and when using the drug comparisons Cerebrolisin, which confirms the adequacy of the model reproduced. According to the results of the "CRPA" test group with test Orozin the drug at a dose of 400 mg / kg throughout the study noted signifi-

cant differences in all parameters from the control group, indicating preservation of cognitive functions in the background of a stroke.

ЛИТЕРАТУРА

1.Макаренко, И.Е. Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным / И.Е. Макаренко, О.И. Авдеева, Г.В. Ванатиев, А.В. Рыбакова, С.В. Ходько, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров // Международный вестник ветеринарии. -2013. -№ 3. –С. 78-84.

2.Макаров Е.В. Альфа-1-кислый гликопротеин, реактант острой фазы воспаления, как важный гомеостатический фактор организма: обзор литературы / Е.В. Макаров, Л.В. Кривохижина //Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2005. – №. 4 (44).

3.Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

4.Рыбакова, А.В. Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с европейской директивой 2010/63 / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. -2015. -№2. –С. 96-107.

5.Рыбакова, А.В. Санитарный контроль экспериментальных клиник (вивариев) в соответствии с локальными и международными требованиями / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. -2015. -№4. -С. 81-89.

6.Селезнева, А. И. Методы рандомизации животных в эксперименте / А. И. Селез-

нева, М. Н. Макарова, А. В. Рыбакова // Международный вестник ветеринарии. - 2014. - № 2. –С. 84-89.

7.Чупров М.П. Изучение серомукоида сыворотки крови у больных перитонитом / М.П. Чупров, П.И. Чупров, Т.И. Чупрова, С.К. Керопьян // Актуальные проблемы педиатрии: Труды Астраханской гос. мед. академии. -2006. - Т. 34 (XLIX) . - С.275-278.

8.Bederson J.B. Cortical blood flow and cerebral perfusion pressure in a new noncraniotomy model of subarachnoid hemorrhage in the rat / J.B. Bederson, G.L Germano // Stroke.1995. Vol.26. P.1086–91.

9.Connolly E.S. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage a guideline for healthcare professionals from the American heart association // American stroke association. – 2012. – Vol. 43. – №. 6. – P. 1711-1737.

10.Moser V.C. Rat strain and stock comparisons using a functional observational battery: baseline values and effects of amitraz / V.C. Moser, L.K. Mc Daniel, P.M. Phillips // Toxicol. Appl. Pharmacol. -1991. –Vol.108. –P. 267-283.

11.Ren J.M. Cerebrolysin enhances functional recovery following focal cerebral infarction in rats //Restorative neurology and neuroscience. – 2007. – Vol. 25. – №. 1. – P. 25-31.

12.Thierry F. Alpha-1-acid glycoprotein Biochimica et Biophysica Acta (BBA) / F. Thierry, Medjoubi-N. Najet, D. Porquet // Protein Structure and Molecular Enzymology. – 2000. – Vol. 1482. – P. 157-171.

13.Zea Longa E.L. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats // Stroke. -1989. -Vol.20. -P. 84-91.

ГЕМОБАЛАНС®



ФОРМУЛА ЗДОРОВЬЯ

в/в, п/к, в/м

haemobalans.com

Незаменимые аминокислоты + энергетики + железо, кобальт, медь + витамины группы В

Профилактика и лечение заболеваний:

- гиповитаминозы и микроэлементозы;
- субклинический и клинический кетоз;
- гипофункция яичников;
- патологии спермиогенеза;
- снижение индекса осеменения;
- анемии различной этиологии;
- гипотрофия новорожденных телят.

Дозировка и способ применения:

коровам и быкам в дозе 10 мл на 450 кг живой массы с интервалом 48 часов (3-5 инъекций).

Телятам - гипотрофикам помогает сразу после однократного введения в дозе 1 мл в/м в первые сутки жизни

Форма выпуска: Флаконы по 5, 10, 100, 500 мл.

Организация-производитель: «Ceva Animal Health Pty Ltd», Австралия



Эксклюзивный представитель в странах Евразийского Экономического Союза: ГК «НЕВА-ВЕТ», тел./факс (812) 596-39-62. www.vetapteka.ru
Номер регистрационного удостоверения: 036-3-1.15-2560 №ПВИ-3-9.9/02967

HAEMOBALANS
injection

КАРОФЕРТИН

Carofertin

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ
НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ
ФУНКЦИИ ЖИВОТНЫХ



МЕШОК МОРКОВИ В ОДНОМ ФЛАКОНЕ!

β-КАРОТИН 10 МГ/МЛ

- нормализация полового цикла
- стимуляция оплодотворения
- снижение эмбриональной смертности
- сокращение периода субинволюции матки
- повышение иммунитета новорожденных животных

Применение: в/м, п/к



Производитель:

"Sanochemia Pharmazeutika AG", Австрия

Разработчик:

"Alvetra u. Werfft GmbH", Австрия

ЭКСКЛЮЗИВНЫЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЬ В СТРАНАХ ЕВРАЗИЙСКОГО ЭКОНОМИЧЕСКОГО СОЮЗА:

ГК НЕВА-ВЕТ ТЕЛ./ФАКС В СПБ (812) 596-37-75 VETAPTEKA.RU

Номер регистрационного удостоверения: ОАЭ-3-115-2583788-3-10/9/02964



гельмимакс

Таблетки для кошек и собак



**ДОСТУПНЫЕ ИННОВАЦИИ.
МАКСИМАЛЬНАЯ ЗАЩИТА.**



- Иновационная формула «моксидектин + празиквантел»:**
 - работает против 13 видов гельминтов;
 - профилактирует дирофиляриоз в течение 30 дней;
 - относится к малотоксичным веществам и хорошо переносится животными.
- Лёгкость применения.**
Маленький размер таблеток, возможность деления каждой таблетки на 4 части, аромат запеченной курочки.
- Выгодная цена.**
Доступен большинству владельцев домашних животных.

Api-San
Профессиональная ветеринария

 api-san.ru/helmimax

 vk.com/api_san

 ok.ru/group/api-san

МВВ

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