ISSN 2072-2419

№ 2

Международный вестник ветеринарии

INTERNATIONAL BULLETIN OF VETERINARY MEDICINE

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ- 2015

www.gavm.spb.ru

Международный вестник ветеринарии 2.2015

Редакционный совет
А.А. Стекольников – гл. ред., член-корр. РАСХН, д.в.н., проф., СПб
В.Д. Соколов – зам. гл. ред. д.в.н. проф., СПб
А.И. Ятусевич – зам. гл. ред. д.в.н. проф., Витебск
Редакционная коллегия
А.А. Алиев, д.в.н., проф., СПб.
Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.
Л.М. Белова, д.б.н., проф., СПб.
М.И. Гулюкин, акад. РАСХН, д.в.н., проф. Москва.
Н.В. Зеленевский, д.в.н., проф., СПб.
Л.Ю.Карпенко, д.б.н., проф., СПб.
С.П. Ковалев, д.в.н., проф., СПб.
А.А. Кудряшов, д.в.н., проф., СПб.
В.А. Кузьмин, д.в.н., проф., СПб.
М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.
К.В. Племяшов, д.в.н., проф., СПб.
Б.С. Семенов, д.в.н., проф., СПб.
А.М. Смирнов, акад. РАСХН, д.в.н., проф., Москва.
А.А. Сухинин, д.б.н., проф., СПб.
А.Н. Шиков, д.ф.н., проф., СПб.
Редакционно-технический отдел
В.Д. Соколов, д.в.н. проф., СПб.
Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.
М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.
А.В. Рыбакова , к.в.н., СПб.
Сдано в набор 01.07.2015
Подписано к печати 01.07.2015
Формат 70×100 1/16.
Бумага глянцевая № 1. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 5,2+1,63 цв. вкл.
Усл. Кр.-отт. 18,2. Тираж 1001 экз.

Editor –in– chief
A.A. Stekolnikov professor, DVM, Corresponding Member of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Managing Editor
V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg
A.I. Yatusevich - professor, DVM, Vitebsk
Editorial Board
A.A. Aliyev - professor, DVM, St. Petersburg
N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg
L.M. Belova - professor, DBS, St. Petersburg
M.I. Gulyukina - Academician of the Agricultural Russian Academy of Agricultural Sciences, DVM, professor, Moscow
N.V. Zelenevski - professor, DVM, St. Petersburg
L.Y. Karpenko - professor, DBS, St. Petersburg
S.P. Kovalev - professor, DVM, St. Petersburg

A.A. Kudryashov - professor, DVM, St. Petersburg
V.A. Kuzmin - professor, DVM, St. Petersburg
M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg .
K.V. Plemyshov - professor, DVM, St. Petersburg
B.S. Semenov - professor, DVM, St. Petersburg
A.M. Smirnov - Academician of the Agricultural Russian Academy of Agricultural Sciences, DVM, professor, Moscow
A.A. Sukhinin - professor, DVM, St. Petersburg
A.N. Shikov - professor, DFS, St. Petersburg
Technical Department
V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg
N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg
M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg
A.V. Rybakova - PhD, St. Petersburg
Sent to 03/14/2014
Signed for printing 14/03/2014
The format of 100 × 70 1/16 .
Glossy paper number 1. Offset printing.
Conv. Pec. liter. 5.2 1.63 fl. incl.
Conv. Cr. - ott . 18.2 . Circulation 1001 copies.

На 1 странице обложки расположено: Университет Висконсина в Мэдисоне (UWM) Школа ветеринарной медицины является селективным государственным университетом располагающимся в городе Мэдисон, штат Висконсин, США.

В школе располагается Национальный научно-исследовательский центр. В 2012 году расходы на исследования составили более чем $ 1,1 млрд..

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

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

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

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

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

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

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

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных объявлений.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Мнение авторов и редакции по отдельным вопросам может не совпадать.

Плата с аспирантов за публикацию рукописи не взимается.

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

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

RESEARCH AND PRODUCTION JOURNAL

State registration number media PI № FS 77-28268 on May 18, 2007. Subscription Index Rospechat 82393.

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

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

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

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

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

196084, St. Petersburg, ul . Chernihiv house 5 SPbGAVM, Editorial Board of "International Bulletin of Veterinary Medicine" (IBVM), phone +7-812- 3871158 .

СОДЕРЖАНИЕ

Инфекционные болезни

- Роль бактериальных болезней рыб в формировании эпизоотического состояния садковых хозяйств. ***Кузнецова Е.В.*** 7
- Определение оптимальных концентраций действующих веществ для препаратов серии Флайблок в производственных условиях. ***Токарев А.Н., Енгашев С.В., Токарева О.А.*** 10

Хирургия

- Моно-и комплексная терапия ран у кроликов тромбоцитарной аутоплазмой. ***Гусева В.А.*** 14

Фармакология, токсикология, фармация

- Профилактика гнойных послеоперационных осложнений с использованием шовного материала с антибактериальным покрытием, представленным наночастицами серебра. ***Коптев В.Ю., Леонова М.А., Онищенко И.С., Шкиль Н.А., Бычков А.Л.*** 20
- Эффективность Ципрофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят. ***Заикина Е.Н., Скворцов В.Н., Балбуцкая А.А.*** 24
- Токсикологическая оценка комплексного препарата для лечения и профилактики кокцидиозов животных. ***Арисов М.В., Абрамов В.Е., Поселов Д.С.*** 28
- Клинические испытания антигельминтика широкого спектра действия-Эпримек на лисицах. ***Кузнецов Ю.Е., Смирнов А.А.*** 33
- Изучение антибактериальной и антимикотической активности препарата Аргумистин. ***Кузьмин В.А., Лунегов А.М., Крутяков Ю.А., Белкина И.В., Савенков К.С.*** 36
- Изучение переносимости и субхронической токсичности препарата Иверсан на свиньях. ***Енгашева Е.С., Новиков Д.Д.*** 39

Зоогигиена, Санитария, Кормление

- Влияние пророщенного зерна на метаболические процессы у коров. ***Батраков А.Я., Донская Т.К, Пилаева Н.В., Васильев Р. М., Васильева С.В., Трушкин В.А.*** 42
- Метаболические эффекты у крыс при введении в рацион кормовой добавки с антибактериальными компонентами. ***Белик С.Н., Горлов И.Ф., Крючкова В.В., Ранделин А.В., Мосолов А.А.*** 47
- Содержание металлов в рыбах и среде их обитания в верховье р. Волхов. ***Стекольников А.А., Иванов Д.И., Аршаница Н.М.*** 50

Биохимия, анатомия, физиология

- Применение статистики в диссертациях по ветеринарии. ***Ковалёнок Ю.К., Курдеко А.П., Карпенко Л.Ю.*** 56
- Тромбоцитарная активность у телок на доращивании. ***Завалишина С.Ю.*** 60

Экспериментальная фармакология

- Иммуногистохимические маркеры С-клеток щитовидной железы животных . ***Мужикян А.А.*** 65
- Влияние сухого экстракта бадана на течение экспериментального метаболического синдрома, вызванного высококалорийной диетой. ***Ковалева М.А., Макарова М.Н.*** 72
- Модель острого воспаления: каррагениновый воздушный мешочек. ***Кательникова А.Е. , Крышень К.Л., Мужикян А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.*** 78
- Экспериментальные модели боли и ноцицепции. ***Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.*** 87
- Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с Европейской Директивой 2010/63. ***Рыбакова А.В., Макарова М.Н.*** 96

CONTENTS

Infection disease

- *The role of bacterial fish diseases in the formation of the epizootic status cage farms.* ***E. Kuznetsova.*** 7
- *The optimal concentration determination of the active substances for the Flayblok series preparations in a production environment.* ***A. Tokarev, S. Engashev, O. Tokareva.*** 10

Surgery

- *Mono and combined therapy of wounds in rabbits by platelets autological plasma.* ***V. Guseva.*** 16

Pharmacology, toxicology, pharmacy

- *Preventive properties of suture material with antibacterial coating based on silver nanoparticles.* ***V. Koptev, M. Leonova, I. Onishchenko, N. Shkil, A. Bychkov.*** 20
- *Ciprofloxacin efficacy in an experimental colibacteriosis of chickens.* ***E. Zaikina, V. Skvortzov, A. Balbutskaya.*** 24
- *Pharmaco-toxicological evaluation of the integrated product for the treatment and prevention of coccidioses animals.* ***M. Arisov, V. Abramov, D. Poselov.*** 28
- *The clinical trial of broad-spectrum anthelmintic – eprimek fox.* ***Y. Kuznetsov, A. Smirnov.*** 33
- *Study of antibacterial and antimycotic activity of the drug Argumistin.* ***V. Kuzmin, A. Lunegov, I. Belkina.*** 36

Zoohygiene, Sanitation, Feeding

- *Effect of sprouted grains on metabolic processes cows.* ***A. Batrakov, T. Donskaya, N. Pylayeva, R. Vasiliev, S. Vasilieva, V. Trushkin.*** 39
- *Metabolic effects in rats fed the rations with feed supplement, containing antibacterial components.* ***S. Belik, I. Gorlov, V. Kryuchkova, A. Randelin, A. Mosolov.*** 42
- *The content of metals in fishes and the environment of their dwelling in an upper course of the Volkhov River.* ***A. Stekolnikov, D. Ivanov, N. Arshanitsa.*** 47

Biochemistry, anatomy, physiology

- *Statistics in scientific works veterinary profile.* ***Y. Kavalionak, A. Kurdeko, L. Karpenko.*** 50
- *Platelet activity in heifers at growing.* ***S. Zavalishina.*** 56

Experimental pharmacology

- *Immunohystochemical markers of C-cells animal's thyroid gland.* ***A. Muzhikyan.*** 60
- *Impact on the dry extract Badal during the experimental metabolic syndrome caused by high-calorie diet.* ***M. Kovaleva, M. Makarova.*** 72
- *Model of acute inflammation: carrageenan air pouch.* ***A. Katelnikova, K. Kryshen, A. Muzhikyan, M. Makarova, V. Makarov.*** 78
- *The experimental models of pain and nociception.* ***E. Shekunova, V. Kashkin., M. Makarova, V. Makarov.*** 87
- *Methods of euthanasia of laboratory animals, in accordance with European Directive 2010/63. A. Rybakova, M. Makarova.* 96

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК 639.2/3.09:616.98:579-036.22

РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ РЫБ В ФОРМИРОВАНИИ ЭПИЗООТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ САДКОВЫХ ХОЗЯЙСТВ

Кузнецова Е.В. – к.б.н., доцент кафедры аквакультуры, болезней рыб и птиц
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

РЕФЕРАТ

Впервые было проведено комплексное исследование современного эпизоотического состояния садковых хозяйств Ленинградской области - наиболее перспективной и рентабельной формы аквакультуры на Северо-Западе РФ. Выявлены болезни и патологии рыб, способные нанести экономический ущерб и повлиять на результаты деятельности рыбоводных хозяйств. В последние годы бактериальные болезни рыб, при которых возбудитель выделяется в чистой культуре, практически не встречаются. Всё чаще мы сталкиваемся со смешанной инфекцией, обусловленной пёстрой ассоциацией условно- патогенных микроорганизмов. Следует подчеркнуть необходимость проведениятестов на чувствительность к лекарственным препаратам основных представителей ассоциаций бактерий и только после этого их использование. Также крайне необходим контроль иммунного статуса выращиваемых рыб. Обеспеченность благоприятных условий окружающей среды и контроль «напряжённости» иммунитета особей в аквакультуре могут предотвратить возникновение инфекций, большинство которых вызывается активацией естественной микрофлоры. Современную эпизоотическую обстановку, сложившуюся в садковых рыбоводных хозяйствах Ленинградской области, следует считать благополучной. Одним из путей снижения экономических потерь от болезней рыб является мониторинг эпизоотической ситуации.

Ключевые слова: болезнь, рыбоводные садковые хозяйства, инфекция, эпизоотическое состояние.

ВВЕДЕНИЕ

Садковое рыбоводство – наиболее быстро развивающееся направление аквакультуры. В зависимости от объектов выращивания садки устанавливают как в естественных (озёра, реки, моря), так и искусственных (сбросные каналы, водоёмы-охладители ТЭЦ и АЭС) водоёмах. Эффективность работы рыбоводных хозяйств в значительной мере зависит от их эпизоотического состояния. Большинство гидробионтов, живущих как в естественных условиях, так и выращиваемых в аквакультуре, контактируют с разнообразными потенциально патогенными микроорганизмами. В норме иммунная система животных препятствует бесконтрольному размножению ассоциированных с гидробионтами микроорганизмов. Подавление иммунной реактивности рыб, вызываемое многими внешними факторами, такими как резкие колебания температуры среды, гипоксия, перенаселение, присутствие загрязняющих веществ, способствуют развитию у них инфекций, многие из которых обусловлены активным размноже-

нием естественной микрофлоры.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Комплексное эпизоотологическое обследование двух садковых рыбоводных хозяйств Ленинградской области (ЗАО «СХП«Салма», ООО «Целинник-2002») включало в себя изучение особенностей рыбоводно-биологического процесса, технического оснащения, системы водоснабжения и проявлением возникающих болезней рыб. Проводили паразитологическое, патологоанатомическое и гематологическое исследования выращиваемых и диких рыб, а также отбирали пробы для бактериологического и гистологического исследований. Физико-химический анализ воды проводили в лаборатории рыбоводства ФГБНУ «ГосНИОРХ» [8,9], микробиологические исследования – в бактериологическом отделе ФГБУ «Ленинградская МВЛ». В хозяйствах, выращиваются рыбы следующие видов: карп, осетровые, форель, палия. Рыба содержится в делевых садках в р. Вуокса-Вирта в районе пос. Ромашки и оз. Любимовское и Михалёвское.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Вторичные бактериальные болезни рыб выявлены в обследуемых хозяйствах во все сезоны года. Возбудители постоянно присутствуют в водоёмах и вспышки болезней возникали при снижении иммунитета у рыб или ухудшении условий содержания, в первую очередь загрязнения воды. В случае возникновения болезней, без лечения рыб, снижения плотностей посадок и увеличения водообмена в рыбоводных ёмкостях гибель форели достигала 50 % и выше. Во многих хозяйствах болезни протекают хронически, не вызывая массовых отходов рыб.Вспышки бактериальных болезней в обследуемых хозяйствах, согласно бактериологического исследования, проведённого ФГБУ «Ленинградская МВЛ», были вызваны бактериями*Aeromonashydrophila*, *Flavobacteriumpsychrophilum* и *Chromobacteriumviolaceum*.

Вода озера Любимовское характеризуется как умеренно загрязнённая III класса качества. Показатели состава и качества воды озера, в основном, удовлетворяют рыбохозяйственным требованиям, т.к. летом 2010 г. отмечено превышение ПДК по нитритам, в январе 2011 г. – по нитратам, в марте и июне 2011 г. – по железу. Также установлено превышение норм дополнительного поступления взвесей и тенденция к накоплению органических веществ.Гидрохимический режим и качество воды р. Вуокса-Вирты подвержен значительным сезонным изменениям содержания минеральных и органических веществ и их соотношения. В период наибольшей водности река характеризовалась высоким уровнем органического загрязнения, показателей ХПК, аммонийного азота, нитритов и взвешенных веществ превышали установленные нормы рыбохозяйственных водоёмов. В подлёдный период в воде наблюдалось накопление ионов аммония до 1,5-2,1 ПДК и нитратов до 0,85-1,3 ПДК. Согласно экологической оценке вода р. Вуокса-Вирта характеризуется как умеренно загрязнённая III класса качества.

Современный интенсивно эксплуатируемый рыбоводный водоём представляет собой искусственную экосистему, направленную на получение максимального количества ихтиомассы. Ряд закономерностей её существования обуславливают возможность формирования опасных для здоровья рыб штаммов микроорганизмов в таком водоёме. «Исходным сырьём» для этого служат условно-патогенные сапрофиты, приобретшие в процессе эволюции способность утилизировать высокомолекулярные органические вещества. К ним можно отнести типично водные организмы – аэромонад и псевдомонад, а также обитателей кишечника рыб и комбикормов – кишечные палочки, энтеробактеры, моракселлы и т.д. Основой нарастания их

вирулентности служит пассирование бактериальных штаммов через организм ослабленных рыб. Возрастает ферментативная активность факультативных патогенов, их способность преодолевать защитные факторы организма рыб и формировать антибиотикорезистентные штаммы.

В экспериментах показано, что ассоциированные с покровами и амбулакральными ножками морских звёзд (*Asteriasrubens*) микроорганизмы (*Pseudomonas*sp., *Alteromonas*sp.) при попадании в целомическую полость животных способны длительное время персистировать в организме, вызывая резкое возрастание концентрации амебоцитов, агглютининов, лизинов, то есть происходит нарастание клеточного и гуморального иммунного ответа » [6].Изменение иммунного статуса мидии обыкновенной (*Mytilusedulis*) в условиях повышенной загрязненности морской воды также проводит к резкому увеличению клеточных элементов гемолимфы, повышению фагоцитоза и возрастанию концентрации агглютининов и лизинов в целомической жидкости [4]. Аналогичные изменения иммунного статуса происходят у рыб, разводимых в аквакультуре. Перевозка животных, повышенная температура, недостаточность естественных кормов вызывает ослабление иммунитета у радужной форели и условно-патогенные сапрофитные микроорганизмы кишечника (*Alcaligenes*sp., *Citrobacterfreundii*) приводят к заболеванию энтеритом [3]. В естественные условиях стресс, ухудшение среды обитания и повреждение наружных покровов угнетают иммунную реактивность организма. Транспортировка (перевозка) оказывает стрессирующее воздействие на рыб, вызывая повышение концентрации глюкокортикоидных гормонов [10], глюкозы [12], приводя к сдвигу гематологических параметров [11], водно-солевому дисбалансу [5], снижению иммунитета [1,2]. Кроме этого последствие транспортного стресса у рыб являются изменения липидного обмена [7], проявляющиеся в сдвиге окислительно-восстановительного баланса в тканях, усилением свободно радикальных и перекисных процессов, перераспределением липидных фракций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые было проведено комплексное исследование современного эпизоотического состояния садковых хозяйств Ленинградской области. В последние годы бактериальные болезни рыб, при которых возбудитель выделяется в чистой культуре, практически не встречаются. Всё чаще мы сталкиваемся со смешанной инфекцией, обусловленной пёстрой ассоциацией условно-патогенных микроорганизмов. Следует подчеркнуть необходимость проведения тестов на чувствительность к лекарственным препаратам основных представителей ассоциаций бактерий и только после этого их использование. Также крайне необходим контроль иммунного статуса выращиваемых рыб.Применение антибиотиков или вакцинация при возникновении эпизоотий, обусловленных ухудшением условий среды обитания и нарушением функционирования защитных систем гидробионтов, способствует временному подавлению инфекций, не устраняя их причину. Обеспеченность благоприятных условий окружающей среды и контроль «напряжённости» иммунитета особей в аквакультуре могут предотвратить возникновение инфекций, большинство которых вызывается активацией естественной микрофлоры.Одним из путей снижения экономических потерь от болезней рыб является мониторинг эпизоотической ситуации.

The role of bacterial fish diseases in the formation of the epizootic status cage farms. E. Kuznetsova.

ABSTRACT

A net cage rearing of fish is a modern direction of aquaculture. Aquaculture devel-

opment inevitably entails increased fish diseases problems. Complex (epizootical, parasitological, histological, bacteriological and hematological) inspection of fish was lead for the first time. The materials for this research were collected in lakes and rivers Leningrad Province. The fish farming with using of the industrial technology and artificial feed accompanied with spreading of the infection diseases. Accordingly of author's observations the epizootic situation of the fish cage farms in lakes and rivers Leningrad Province is good. The maintaining the good epizootic condition of the fish farms needs rational planning of sanitary and prophylactic measures.

Key words: disease, fish cage farms, infection, epizootic condition

ЛИТЕРАТУРА

1. Бауер О.Н, Мусселиус В.С., Стрелков Ю.А. Болезни прудовых рыб // М. -1984. -319с.
2. Ведемейер Г.А, Мейер Ф.П., Смит Л. Стресс и болезни рыб // М. -1981. -127с.
3. Кондратьева И.А., Киташова А.А., Наумова А.Ю. Действие лекарственных препаратов на молодь радужной форели // Вопросы рыболовства. -2002. -№1(9). – С.125-136.
4. Кондратьева И.А., Киташова А.А., Киташов А.В. Параметры иммунитета как критерий оценки здоровья гидробионтов // Тез. докл. Всеросс. конф. -М. -2003. -С. 56-59.
5. Мартемьянов В.И. Динамика содержания электролитов у пресноводных рыб при стрессе // Авт. дисс. к.б.н. -1983. -18с.
6. Рябов В.Б., Киташов А.В., Кондратьева И.А. Неблагоприятные условия среды обитания как фактор возникновения массовых инфекций у гидробионтов // Мат. Всер. научно-практ. конф. -Москва. -2005. – С. 104-106.
7. Силкина Н.И., Микряков Д.В., Микряков В.Р. Использование показателей липидного обмена при диагностике последствий транспортного стресса на рыб // Мат. Всероссийской научно-практ. конф. -Москва. -2005. –С. 106-110.
8. Шумилина А.К. Отчёт о НИР по теме «Оценить влияние рыбохозяйственной деятельности ООО «Целинник-2002» на гидрохимический режим р. Вуокса-Вирта» // Фонды ФГБНУ «ГосНИОРХ», -2011. -27с.
9. Шумилина А.К. Отчёт о НИР по теме «Оценить влияние рыбохозяйственной деятельности ЗАО «СХП «Салма» на гидрохимический режим озера Любимовское» // Фонды ФГБНУ «ГосНИОРХ». -2011.-24с.
10. Barton B.A, Peter R.E., Paulencu Ch.R. // Can. J. Fish. And Aquat. Sci. -1980. -№5. -P. 805-811.
11. Fletcher G.L. // Can. J. Zool. -1975. -№53. –P. 197-206.
12. Wardle C.S. // J. Mar. Biol. Ass. U.K. -1972. № 3. –P. 561-635.

УДК: 615.285.015.12

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ ПРЕПАРАТОВ СЕРИИ ФЛАЙБЛОК В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Токарев А.Н. – к.в.н., доцент[1], Енгашев С.В. – д.в.н., профессор[2], Токарева О.А. – аспирант[1],
[1]Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, [2]Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии

РЕФЕРАТ

Цель исследований: подобрать оптимальную концентрацию фипронила для препарата Флайблок поверхность и цифлутрина для препарата Флайблок для животных, после чего провести клинические испытания готовых форм препаратов. Флайблок поверхность – раствор фипронила, предназначенный для дезинсекции и дезакаризации помещений. Опыт по определению оптимальной концентрации фипронила проводили путем обработки скотоводческих помещений. При этом испытывали 0,05%, 0,075% и 0,1% растворы. Оптимальная концентрация составила 0,05%. Флайблок поверхность (0,05%) – эффективный инсектоакарицид при норме расхода 500 мл на 40-45 м² помещения. Флайблок для животных – репеллентное средство на основе цифлутрина, разработанное для обработки крупного скота. Опыт по определению оптимальной концентрации цифлутрина проводили путем топикальной обработки крупного рогатого скота разных групп 0,5%, 1% и 1,5% растворами. Оптимальная концентрация цифлутрина составила 1%. Флайблок для животных (1%) при нанесении топикально по средней линии тела от холки до основания хвоста на крупный рогатый скот в объеме 10 мл обладает выраженным репеллентным действием до 28 дней.

Ключевые слова: фипронил, цифлутрин, инсектоакарицид, репеллент, крупный рогатый скот.

ВВЕДЕНИЕ

На скотоводческих предприятиях Ленинградской области широко распространены насекомые разных видов: мухи, вши, волосовики и представители группы гнуса. Нападение и паразитирование насекомых на крупном рогатом скоте – причина беспокойства животных, следствием которой является снижение продуктивности [1,4]. С целью усовершенствования профилактических мероприятий для предотвращения нападения насекомых Научно-внедренческим центром «Агроветзащита» разработаны препараты Флайблок поверхность и Флайблок для животных [5]. Флайблок поверхность – раствор фипронила [6], предназначенный для дезинсекции и дезакаризации помещений. Флайблок для животных [3] – репеллентное средство на основе цифлутрина [7], разработанное для обработки крупного рогатого скота.

Цель наших исследований на первом этапе заключалась в определении оптимальных концентраций фипронила и цифлутрина, отвечающих рентабельности производства препаратов Флайблок поверхность и Флайблок для животных. На втором этапе мы должны были определить эффективность готовой формы препаратов в производственных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Постановка опытов на первом этапе проводилась с 16 июля по 6 августа 2011 года на базе сельскохозяйственного предприятия ФГУП «Суйда Россельхозакадемии» (Ленинградская область, Гатчинский район), 2 этап опытов проходил на том же предприятии, год спустя с 30 июля по 19 августа 2012 года.

До проведения исследований был определён спектр эктопаразитов скотоводческих помещений предприятия путём визуального осмотра помещений и животных, а также исследования подстилки, на которой содержится скот [2]. На предприятии встречались настоящие мухи (сем. *Muscidae*), синие и зелёные мухи (сем. *Calliphoridae*), слепни (сем. *Tabanidae*) в малом количестве, вши (отр. *Anoplura*), волосовики (вид *Bovicola bovis*) и чесоточные клещи (вид *Chorioptes bovis*).

Для определения оптимальной концентрации фипронила для препарата Флайблок поверхность производителем были разработаны флаконы емкостью 500

мл, наполненные растворами фипронила в трех концентрациях: 0,05% (вариант № 1), 0,075% (вариант № 2) и 0,1% (вариант № 3).

Данными растворами соответственно были обработаны 3 скотоводческих двора. Наносили растворы на места локализации эктопаразитов: окна, стены, двери, клетки, где содержатся телята, оборудование, предварительно очищенный пол и подстилку. Расход препарата, согласно техническому заданию, составлял 500 мл на 40-45 м². Контролем служил еще 1 двор, который не подвергался обработке.

На протяжении опыта проводили визуальный осмотр помещения и каждые 5 дней исследовали подстилку с целью определения эффективности и срока инсектоакарицидного действия препарата.

Производственные испытания готового препарата Флайблок поверхность (фипронил – 0,05%) проводились по той же схеме, по которой испытывали экспериментальные растворы.

Для определения рабочей концентрации цифлутрина для препарата Флайблок для животных производитель разработал пипетки-капельницы емкостью 10 мл, которые содержали раствор цифлутрина в трех концентрациях: 0,5% (вариант № 1), 1% (вариант № 2) и 1,5% (вариант № 3).

Для проведения опыта на предприятии было отобрано 200 голов крупного рогатого скота дойного стада в возрасте от 2 до 7 лет, из них 50 голов были обработаны 0,5% раствором цифлутрина, 50 голов – 1% раствором цифлутрина, 50 голов – 1,5% раствором цифлутрина, а остальные 50 – служили контролем и обработке не подвергались. Растворы наносили в дозе 10 мл на животное топикально по средней линии тела от холки до основания хвоста.

На протяжении всего опыта вели наблюдение за животными с целью определения срока репеллентного действия препарата, а также наличия побочных эффектов после его применения.

Производственные испытания готового препарата Флайблок для животных (цифлутрин – 1%, эфирное масло цитронеллы – 0,3%) проводились по той же схеме, по которой испытывали экспериментальные растворы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При определении оптимальной концентрации фипронила для препарата Флайблок поверхность были получены следующие результаты.

После применения растворов сначала наблюдалась массовая гибель насекомых в скотоводческих помещениях, которая являлась причиной снижения их численности или полного отсутствия на обработанных поверхностях. Затем количество насекомых постепенно возрастало и достигало прежней численности.

Результаты опыта представлены в таблице 1. Результаты исследования подстилки представлены в таблице 2, 3 и 4.

По окончании опыта было установлено, что чем больше концентрация раствора фипронила, тем большей инсектоакарицидной активностью обладает образец. Однако длительность инсектоакарицидного действия 0,05% раствора фипронила отличалась несущественно от длительности инсектоакарицидного действия 0,1% и 0,15% растворов, поэтому производителем было принято решение для препарата Флайблок поверхность выбрать оптимальной 0,05% концентрацию. Также препарат был доработан путём коррекции состава вспомогательных веществ.

Результаты производственных испытаний готовой формы препарата Флайблок поверхность (фипронил – 0,05%) представлены в таблицах 5,6.

При определении оптимальной концентрации цифлутрина для препарата Флайблок для животных были получены следующие результаты.

После обработки животных растворами цифлутрина сначала наблюдался полный репеллентный эффект, когда насеко-

Таблица 1

Инсектицидное действие экспериментальных растворов фипронила

Р-ры фипронила	Массовая гибель насекомых	Постепенное восстановление численности
0,05%	1-7-й день после обработки	7-16-й день после обработки
0,1%	1-9-й день после обработки	10-19-й день после обработки
0,15%	1-10-й день после обработки	11-21-й день после обработки
Контроль	-	-

Таблица 2

Процент погибших эктопаразитов - возбудителей инвазионных болезней при обработке подстилки 0,05% раствором фипронила

Возбудители болезней	Процент погибших особей			
	Через 5 дней	Через 10 дней	Через 15 дней	Через20 дней
Отр. Anoplura	85 %	77 %	69 %	59 %
Bovicola bovis	88 %	82 %	67 %	54 %
Chorioptes bovis	80 %	65 %	56 %	44 %

Таблица 3

Процент погибших эктопаразитов - возбудителей инвазионных болезней при обработке подстилки 0,1% раствором фипронила

Возбудители болезней	Процент погибших особей			
	Через 5 дней	Через 10 дней	Через 15 дней	Через 20 дней
Отр. Anoplura	95 %	89 %	84 %	69 %
Bovicola bovis	96 %	87 %	79 %	63 %
Chorioptes bovis	90 %	83 %	66 %	53 %

Таблица 4

Процент погибших эктопаразитов - возбудителей инвазионных болезней при обработке подстилки 0,15% раствором фипронила

Возбудители болез-ней	Процент погибших особей			
	Через 5 дней	Через 10 дней	Через 15 дней	Через 20 дней
Отр. Anoplura	98 %	89 %	85 %	71 %
Bovicola bovis	97 %	89 %	78 %	65 %
Chorioptes bovis	94 %	84 %	69 %	56 %

Таблица 5

Инсектицидное действие препарата Флайблок поверхность

Препарат	Массовая гибель насекомых	Постепенное восстановление численности
Флайблок поверхность (фипронил – 0,05%)	1-8-й день после обработки	9-18-й день после обработки
Контроль	-	-

Таблица 6

Процент погибших эктопаразитов – возбудителей инвазионных болезней при обработке подстилки препаратом Флайблок поверхность (0,05%)

Возбудители болез-ней	Процент погибших особей			
	Через 5 дней	Через 10 дней	Через 15 дней	Через 20 дней
Отр. Anoplura	93 %	87 %	81 %	67 %
Bovicola bovis	94 %	86 %	76 %	62 %
Chorioptes bovis	88 %	80 %	65 %	51 %

Таблица 7

Репеллентное действие экспериментальных растворов цифлутрина

Р-ры цифлутрина	Полный репеллентный эффект	Относительный репеллентный эффект
0,5%	6-9 дней после обработки	6-17 дней после обработки
1%	12-15 дней после обработки	12-25 дней после обработки
1,5%	12-17 дней после обработки	12-27 дней после обработки
Контроль	-	-

Таблица 8

Репеллентное действие препарата Флайблок для животных

Препарат	Полный репеллентный эффект	Относительный репеллентный эффект
Флайблок для животных (цифлутрин – 1%; эфирное масло цитронеллы – 0,3%)	12-16 дней после обработки	12-28 дней после обработки
Контроль	-	-

мые вообще не садились на коров, а затем сохранялся относительный репеллентный эффект, когда насекомые садились на кожу, но сразу улетали.

Результаты опыта представлены в таблице 7.

По окончании опыта также было установлено, что чем больше концентрация раствора цифлутрина, тем большей репеллентной активностью обладает образец. Однако длительность репеллентного действия 0,5% раствора цифлутрина существенно отличалась от длительности репеллентного действия 0,1% и 0,15% растворов, в тоже время репеллентная активность 0,1% раствора цифлутрина не имела выраженных различий в длительности действия от репеллентной активности 0,15% раствора.

Исходя из этого, для препарата Флайблок для животных была выбрана рабочая концентрация цифлутрина, равная 1%. Препарат также был доработан путём коррекции состава вспомогательными веществами. Также в Флайблок для животных с целью повышения эффективности было дополнительно введено активное вещество – эфирное масло цитронеллы (0,3%).

Результаты производственных испытаний готовой формы препарата Флайблок для животных (цифлутрин – 1%, эфирное масло цитронеллы – 0,3%) представлены в таблице 8.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследований можно сделать вывод, что оптимальными являются 0,05% концентрация фипронила для препарата Флайблок поверхность и 1% концентрация цифлутрина для препарата Флайблок для животных.

Флайблок поверхность является эффективным инсектоакарицидом для обработки скотоводческих помещений. Препарат активен в отношении настоящих мух (сем. *Muscidae*), синих и зелёных мух (сем. *Calliphoridae*), слепней (сем. *Tabanidae*), вшей (отр. *Anoplura*), волосовиков (*Bovicola bovis*) и чесоточных клещей (*Chorioptes bovis*). Длительность инсектоакарицидного действия препарата Флайблок поверхность составляет до 18 дней.

Препарат Флайблок для животных – эффективное репеллентное средство для защиты крупного рогатого скота от нападения следующих насекомых: настоящих мух (сем. *Muscidae*), синих и зелёных мух (сем. *Calliphoridae*), слепней (сем. *Tabanidae*), комаров (сем. *Culicidae*), и мошек (сем. *Simuliidae*). Репеллентное действие препарата Флайблок для животных длится до 28 дней.

The optimal concentration determina-

tion of the active substances for the Flayblok series preparations in a production environment.

A. Tokarev, S. Engashev, O. Tokareva.

ABSTRACT

Objective: to choose the optimum concentration of fipronil for drug Flayblok surface and cyfluthrin for drug Flayblok for animal, and then conduct clinical trials of finished formulations. Flayblok surface is fipronil solution designed for disinfestation and disacaridisation of premises. The experiment of the determination of optimal fipronil concentration was performed by treating the pastoral areas. Thus was tested 0.05%, 0.075% and 0.1% solutions. Optimum concentration was 0.05%. Flayblok surface (0.05%) is the effective insectoacaricide at a rate of 40-45 ml per 500 m² of premises. Flayblok for animals is the repellent agent based on cyfluthrin, developed for the treatment of cattle. The experiment of the determination of optimal cyfluthrin concentration was carried out by the topically treating of different groups cattle of 0.5%, 1% and 1.5% solutions. Cyfluthrin has the optimum concentration of 1%. Flayblok for animals (1%) when applied topically to the cattle in a volume of 10 ml has a strong repellent effect. The action duration reaches 28 days.

Key words: fipronil, cyfluthrin, insectoacaricide, repellent, cattle.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белова Л.М., Токарев А.Н. Эктопаразитозы крупного рогатого скота в хозяйствах ленинградской области // Известия Калининградского государственного технического университета. – 2008. – № 13. – С. 29-32.
2. Васильева И.С., Ганнушкина Л.А., Наумов Р.Л., Гутова В.П., Ершова А.С., Буракова А.С., Петрова-Никитина А.Д. и др. Энтомологические методы сбора и определения насекомых и клещей - вредителей продовольственных запасов и непродовольственного сырья. – Методические указания. МУК 4.2.1479-03. – 2011. – 32 с.
3. Енгашев С.В., Даугалиева Э.Х., Новак М.Д. Эффективность репеллентов на основе цифлутрина против слепней и зоофильных мух // Ветеринария. – 2012. – № 4. – С. 34-36.
4. Лоретц О.Г., Барашкин М.И. Состояние здоровья и молочная продуктивность коров в промышленных регионах // Ветеринарная патология. – 2012. – Т.40. – № 2. – С. 113-115.
5. Новак М.Д., Енгашев С.В., Даугалиева Э.Х. Эффективность препарата «Флайблок» против зоофильных мух // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2013. – № 1 (17). – С. 54-57.
6. Beeler A.B., Schlenk D.K., Rimoldi J.M. Synthesis of fipronil sulfide, an active metabolite, from the parent insecticide fipronil // Tetrahedron Letters. – 2001. – T. – 42. – № 32. – P. 5371-5372.
7. Yilmaz M. The effects of cyfluthrin on some biomarkers in the liver and kidney of Wistar rats / M. Yilmaz, E. Rencuzogullari, M. Canli // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. – 2015. – № 6. – 4747-4752.

ХИРУРГИЯ

УДК: 615.38:617-001.4:636.92

МОНО– И КОМПЛЕКСНАЯ ТЕРАПИЯ РАН У КРОЛИКОВ ТРОМБОЦИТАРНОЙ АУТОПЛАЗМОЙ

Гусева В.А. - аспирант кафедры акушерства и оперативной хирургии
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

РЕФЕРАТ

В статье содержатся сведения о влиянии тромбоцитарной аутоплазмы на заживление экспериментальных ран у кроликов. Раны наносили скальпелем на дорсальной стороне туловища. Кролики были разделены на 3 группы по 5 животных: первая – контроль (лечение: мазь «Левомеколь»), вторая – подопытная (лечение: мазь «Левомеколь» + тромбоцитарная аутоплазма), третья – подопытная (лечение: только тромбоцитарная аутоплазма). Тромбоцитарную аутоплазму получали путём центрифугирования в специальных пробирках «Плазмолифтинг тм» (Россия) с разделительным гелем. Тромбоциты с плазмой оставались над гелем, а другие форменные элементы крови под ним. Тромбоцитарную аутоплазму вводили сразу после приготовления под дно раны. По результатам исследования было выявлено, что лечение с применением тромбоцитарной аутоплазмой эффективно и в моно, и в комплексной терапии, однако последняя оказывает наиболее выраженное действие. При введении тромбоцитарной аутоплазмы в область места поражения происходит высвобождение биологически активных веществ – разнообразных факторов роста из α-гранул тромбоцитов и медиаторов из β-гранул, что оказывает противовоспалительный эффект и способствует активации регенеративных процессов в тканях. Кроме того, шёрстный покров, удалённый при подготовке поля операции у кроликов в подопытных группах восстанавливался быстрее и был обильнее по сравнению с контрольной группой. Применение тромбоцитарной аутоплазмы является эффективным методом лечения ран у животных, потому что он безопасен, не вызывает аллергических и аутоиммунных реакций, сокращает сроки применения антибиотиков.

Ключевые слова: тромбоцитарная аутоплазма, «Плазмолифтинг тм», тромбоциты, факторы роста, раны, раневой процесс, кролики.

ВВЕДЕНИЕ

Проведенные исследования на кроликах [2], лошадях [3] и коровах показали, что применение тромбоцитарной аутоплазмы является эффективным средством для лечения ран и язв в комплексном лечении животных. Стимуляция регенерации в тканях, после введения тромбоцитарной аутоплазмы, происходит за счёт выделения многочисленных факторов роста из α-гранул тромбоцитов [1].

Цели и задачи. Оценить эффективность применения тромбоцитарной аутоплазмы при лечении ран у кроликов. Сравнить влияние тромбоцитарной аутоплазмы на заживление ран у кроликов в моно- и комплексной терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опыте использовали кроликов, самцов в возрасте 5 месяцев. Кроликов кор-

мили комбикормом. Операционное поле готовили с соблюдением всех правил асептики и антисептики. Обезболивание осуществляли введением 2 % раствора лидокаина, подкожно, в объёме 1,5 мл.

В опыте участвовали 3 группы кроликов, в каждой группе по 5 животных. Раны кроликов контрольной группы ежедневно обрабатывали мазью «Левомеколь». На раны кроликов подопытной группы № 1 ежедневно наносили мазь «Левомеколь» и инъекционно вводили тромбоцитарную аутоплазму. Для лечения ран кроликов подопытной группы № 2 инъекционно вводили только тромбоцитарную аутоплазму.

Тромбоцитарную аутоплазму вводили сразу после приготовления под дно раны в одну точку, в объёме 3 мл, один раз в 7 суток (на 1-е, на 8-е, 15-е сутки), всего 3 инъекции. Заживление ран оценивали через сутки после введения тромбоцитарной аутоплазмы на 2-е, 9-е, 16-е сутки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Описание морфологии ран у кроликов в экспериментальных и контрольной группах. После повреждения кожного покрова раны у всех групп кроликов выглядели одинаково. Сразу после нанесения ран отмечали кровотечение, которое останавливали с помощью тампонирования. После остановки кровотечения в ране оставались кровяные сгустки, которые также удаляли с помощью тампона. Раневая поверхность была блестящая, влажная. Края раневой поверхности ровные с кровоподтёками. Болезненности не отмечалось ни при надавливании на раневую поверхность, ни при введении тромбоцитарной аутоплазмы. Через час после нанесения ран вводили тромбоцитарную аутоплазму. Общее состояние животных оставалось в целом удовлетворительным, но несколько угнетенное. С целью предотвращения разлизывания кроликами ран в первые сутки были сделаны бинтовые повязки. Аппетит животных всех групп оставался в норме, без изменений, ректальная температура была в норме.

Через сутки после введения тромбоцитарной аутоплазмы отмечали подсушивание ран. Раневая поверхность была ровная блестящая, слегка увлажнённая. У кроликов подопытной группы площадь раневой поверхности уменьшилась, но статистически не достоверно. Контур раневой поверхности изменился, раневая поверхность стала неправильной формы у 3 кроликов из 5. Цвет раневой поверхности равномерно светло-красный. Края раневой поверхности ровные без кровоподтёков. Болезненности при пальпации не отмечается. У кроликов подопытной группы № 2 раневая поверхность более увлажнённая по сравнению с ранами кроликов подопытной группы №1. Цвет распределён неравномерно от тёмно красно-

Таблица 1

Площадь раневой поверхности при лечении экспериментальных ран у кроликов (M± ε)

Этапы лечения	Контроль	Опыт №1 (комплексное лечение с применением ТАП)	Опыт №2 (монотерапия ТАП)
До лечения, см^2	5,0 ± 0,4	5,0 ± 0,4	5,1 ± 0,4
После 1-й инъекции ТАП, см^2	4,9 ± 0,3	4,5 ± 0,6	4,8 ± 0,3
После 2-й инъекции ТАП, см^2	3,9 ± 0,6	2,8 ± 0,5*	2,9 ± 0,3*
После 3-й инъекции ТАП, см^2	2,8 ± 0,3	0,7 ± 0,3*	1,1 ± 0,3*

Примечание: * - достоверные отличия от контроля ($p \leq 0,05$) M– среднее значение, M ± ε – доверительный интервал, ТАП – тромбоцитарная аутоплазма

го до чёрного к середине поверхности раны. Края раневой поверхности неровные, их цвет неравномерной интенсивности. У животных контрольной группы раневая поверхность слегка увлажнённая, цвет от бледно – розового до тёмно красного. Края раневой поверхности неровные, неравномерно окрашены – от светло - розового до красного. Болезненность при пальпации отсутствует. Общее состояние кроликов удовлетворительное, аппетит, активность и общая температура в норме.

Через 24 ч после второй инъекции у всех кроликов отмечалось появление шёрстного покрова. Однако у кроликов подопытных групп шёрстный покров был более обильный, по сравнению с контрольной группой. В подопытной группе № 1 у 2 кроликов из 5 струп имел разрыв в середине, под ним находилась грануляционная ткань. Струп ломкий, отслаивается по периферии. В подопытной группе № 2 струп плотный, сухой, равномерно прилегает по всей раневой поверхности, бордового цвета. Струп не возвышается над раневой поверхностью. Края струпа плотно прилегают к краям раневой поверхности. У кроликов контрольной группы струп коричневого цвета, плотно прилегает в центре раневой поверхности и отслаивается по периферии. В центре струп плотный, по периферии более ломкий. Края струпа возвышаются над раневой поверхностью. Раневая поверхность безболезненна при надавливании у всех групп кроликов. Общее состояние животных оставалось удовлетворительным, температура тела в норме.

Через 24 ч после третьей инъекции произошло заметное уменьшение ран по площади у кроликов подопытных групп по сравнению с контрольной. В контрольной группе № 1 наиболее отчётливо видно появление эпидермального валика. Струп плотно прилегает к раневой поверхности, местами к периферии отслаивается, красно – коричневого цвета. В подопытной группе № 2 струп плотно прилегает по всей поверхности, не возвышается над раневой поверхностью, отмечено появление эпидермального валика. Струп бордового цвета. В контрольной группе кроликов произошло незначительное уменьшение ран по площади, струп плотно прилегает в центре и отслаивается по периферии, возвышаясь над раневой поверхностью. В центре струп плотный, а к периферии ломкий. Шёрстный покров вокруг раневой поверхности скудный.

Шёрстный покров, удалённый при подготовке поля операции у кроликов в подопытных группах восстанавливался быстрее и был обильнее по сравнению с контрольной группой.

Согласно данным таблицы различия в площади ран до лечения и на 2-е сутки лечения статистически не значимы во всех группах. На 9-е и 16-е сутки лечения тромбоцитарной аутоплазмой установили, что диаметр ран был достоверно ($p \leq 0,05$) меньше у кроликов подопытных групп по сравнению с контрольной группой животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение тромбоцитарной аутоплазмы при лечении ран у кроликов не меняет морфологию раневого процесса, как это происходит у лошадей [3], при этом ускоряет регенерацию тканей как в моно- ,так и в комплексной терапии. После третьей инъекции тромбоцитарной аутоплазмы площадь ран у кроликов была достоверно меньше в подопытной группе № 1 на 2,18 см^2 (75 %) и у подопытной группы № 2 на 1,7см^2 (60 %) по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$).

Применение тромбоцитарной аутоплазмы для лечения ран кроликов эффективно в монотерапии, однако лучшие результаты мы наблюдали в комплексной терапии.

Использование тромбоцитарной ауто-

плазмы в комплексном лечении ран у животных способствует ускорению процессов заживления, так как биологически активные компоненты, высвобождающиеся при введении тромбоцитарной аутоплазмы в повреждённую ткань, стимулируют активность регенеративных процессов.

Mono and combined therapy of wounds in rabbits by platelets autological plasma. V. Guseva.

ABSTRACT

This article contains information about the influence of platelet autoplasma on the healing of experimental wounds in rabbits. Wounds were a scalpel on the dorsal side of the body. Rabbits were divided into 3 groups of 5 animals: the first - control (treatment: ointment "Levomekol"), the second - experimental (treatment: ointment "Levomekol" + platelet autoplasma), the third - an experimental (treatment: Only platelet autoplasma). Platelet autoplasma obtained by centrifugation in special tubes "Plazmolifting tm" (Russia) with the separation gel. Platelets plasma remained above the gel, and other blood cells beneath. Platelet autoplasma administered immediately after preparation at the bottom of the wound. According to the study found that treatment with platelet autoplasma effectively and in mono, and adjuvant therapy, but the latter has the most pronounced effect. When administered to autoplasma platelet destruction takes place release of biologically active substances - a variety of growth factors from platelet α-granules and mediators of β-granules, which has anti-inflammatory effect and contributes to the activation of regenerative processes in tissues. Furthermore, Coats, remote field operations in preparing the rabbits in the experimental group recovered rapidly and was more abundant in comparison to the control group. The use of platelet autoplasma is an effective treatment of wounds in animals, because it is safe, does not cause allergic and autoimmune reactions, reduces the time of the use of antibiotics.

Key words: autological platelets plasma, «Plasmolifting tm», platelets, growth factors, wounds, wound healing, rabbits.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахмеров Р.Р. Регенеративная медицина на основе аутологичной плазмы. – Москва. -2014. -17с.
2. Гусева В.А. Влияние тромбоцитарной аутоплазмы, приготовленной методом «Плазмолифтингтм» на заживление ран у кроликов // Вопросы нормативно – правового регулирования в ветеринарии. -СПб. -2013. -№3. –С. 45-46.
3. Семёнов Б.С. Лечение кожных экспериментальных ран у лошадей с применением тромбоцитарной аутоплазмы // Международный вестник ветеринарии. -СПб. -2014. -№3. -С. 19 – 23.
4. Гусева В.А. Применение тромбоцитарной аутоплазмы при лечении язв тарсального сустава у крупного рогатого скота // Сборник трудов четвёртой всероссийской конференции по ветеринарной хирургии. –М. -2014. –С. 75 – 78.

УДК 619.615.468.6

ПРОФИЛАКТИКА ГНОЙНЫХ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШОВНОГО МАТЕРИАЛА С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПОКРЫТИЕМ, ПРЕДСТАВЛЕННЫМ НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА

Коптев В.Ю.[1] - к.в.н., с.н.с., Леонова М.А.[1] - к.в.н., с.н.с., Онищенко И.С.[1] - к.в.н., с.н.с., Шкиль Н.А.[1] - д.в.н., профессор, зав. лаб., Бычков А.Л. [2] к.х.н., с.н.с., [1] Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, [2] Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения Российской академии наук.

РЕФЕРАТ

Основным этапом хирургического вмешательства является иммобилизация краёв раны. В случае попадания в полость раны условно-патогенных микроорганизмов развивается гнойное воспаление. Для предотвращения подобных послеоперационных осложнений было разработано новое антибактериальное покрытие для шовного материала, включающее наночастицы серебра. Целью исследования было изучение профилактического действия хирургического шовного материала с антибактериальным покрытием, представленным наночастицами серебра, на развитие послеоперационных гнойных осложнений в опыте in vivo. Объектом исследования являлся новый шовный материал с антибактериальным покрытием, представленным наночастицами серебра, стабилизированными на субмикронных частицах диоксида титана. Для проведения эксперимента были сформированы три группы собак (n=5), которым была проведена стерилизация. Соединение операционных ран осуществляли с использованием: в 1-ой опытной группе – шелка с нанесенным на его поверхность покрытием, представленным наночастицами серебра; во 2-ой опытной группе – коммерческого шовный материал «Поликон»; в контрольной группе – стерильного хирургического шелка. К 5-му дню эксперимента установлено наличие гнойного воспаления на месте операционной раны у 20% и 80% собак 2-ой опытной и контрольной групп, соответственно. К 10-му дню при удовлетворительном клиническом состоянии воспаление операционного шва сохранялось во 2-ой опытной группе у 20% и в контроле у 40% животных. У собак 1-ой опытной группы (исследуемый шовный материал с наночастицами серебра) развития гнойной инфекции не отмечалось ни на 5-ый, ни на 10-ый день эксперимента. Таким образом, шовный материал с новым антибактериальным покрытием, включающим наночастицы серебра, препятствует развитию послеоперационных осложнений в виде гнойного воспаления и снижает риск его возникновения на 40-60%.

Ключевые слова: шовный материал, наночастицы серебра, операционная рана, послеоперационные гнойные осложнения.

ВВЕДЕНИЕ

Оперативное лечение состоит из нескольких этапов: подготовка к операции, обездвиживание, наркоз, дезинфекция поверхности, само оперативное вмешательство (разрез, необходимые манипуляции) и сшивание разреза. Качество и свойства шовного материала являются

важнейшим звеном в этой цепочке лечебных мероприятий [1, 7, 8].

Иммобилизация краев операционной раны с помощью шовного материала – важный этап оперативного вмешательства. Однако часто шовный материал может служить «воротами» для проникновения в полость раны патогенных микроорганизмов и как следствие возникновение развития послеоперационных осложнений в виде гнойного воспаления, которое составляет около 20-30% всех осложнений, связанных с оперативным вмешательством [2, 7, 9]. Течение хирургической инфекции в настоящее время обладает рядом существенных особенностей и обусловлено:

- видовым изменением пиогенной флоры в процессе лечения;
- увеличением числа антибиотикорезистентных микроорганизмов;
- увеличением доли неклостридиальной инфекции;
- генерализацией процесса, развитием сепсиса;
- значительным снижением иммунитета [1, 3].

Известно, что одной из причин возникновения гнойных осложнений в послеоперационном периоде является неадекватность ответа защитной системы на бактериальную инвазию [1-3]. Этому способствует массированная антибактериальная терапия, осуществляемая без учета чувствительности флоры к антибиотикам [6, 7, 10, 11].

Учеными ИЭВСиДВ и ИХТТМ СО РАН было разработано новое антибактериальное покрытие для шовного материала на основе наночастиц серебра [5, 11]. Проведенные ранее опыты *in vitro* показали высокий антибактериальный эффект данного покрытия в отношении основных возбудителей гнойных послеоперационных осложнений, а именно, микроорганизмов родов *Pseudomonas*, *Streptococcus, Staphylococcus* [4, 6].

Целью исследования было изучение профилактического действия хирургического шовного материала с антибактериальным покрытием, представленным наночастицами серебра, на развитие послеоперационных гнойных осложнений в опыте in vivo.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе был использован шовный материал с новым антибактериальным покрытием, представленным наночастицами серебра, стабилизированными на субмикронных частицах диоксида титана [5].

Для проведения опыта были сформированы три группы собак (n=5), которым была проведена стерилизация. Для закрытия операционных ран на кожных покровах использовали следующие материалы: собакам 1-ой опытной группы в качестве шовного материала использовали шелк с нанесенным на его поверхность покрытием, представленным наночастицами серебра; животным 2-ой опытной группы – коммерческий шовный материал «Поликон»; собакам контрольной группы – шелк хирургический стерильный.

За всеми прооперированными животными вели ежедневные наблюдения. Фиксировали общее клиническое состояние собак, наличие послеоперационных осложнений в виде воспаления и развития гнойной хирургической инфекции. Швы снимали на 10-ый день опыта.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты изменения клинического состояния животных и характера швов на 5-ый и 10-ый день опыта представлены в табл. 1. На 5-ый день опыта в 1-ой и 2-ой опытных группах все животные чувствовали себя удовлетворительно. В контрольной группе у 20% животных отмечалось угнетение, отказ от корма. Воспаление операционного шва у животных 1-ой опытной группы отмечалось в 40% случаев; во 2-ой – в 60% (рис. 1); в контроле данный патологический процесс отмеча-

Таблица 1

Характеристика клинического состояния животных и послеоперационного шва

Группа	Клиническое состояние	Воспаление операционного шва (%)	Развитие гнойной инфекции (%)
5-ый день опыта			
1-ая опытная группа (Ag–TiO_2)	удовлетворительное	40	–
2-ая опытная группа (Поликон)	удовлетворительное	60	20
контрольная группа	20% угнетение	100	80
10-ый день опыта			
1-ая опытная группа (Ag–TiO_2)	удовлетворительное	–	–
2-ая опытная группа (Поликон)	удовлетворительное	20	–
контрольная группа	удовлетворительное	40	40

Рис. 1. Воспаление операционного шва у животных контрольной группы на 5-ый день опыта

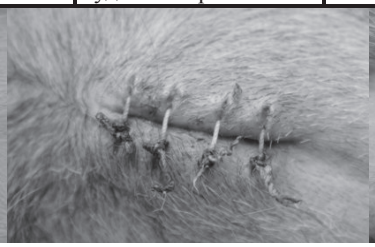


Рис. 2. Развитие гнойной инфекции шва у животных 2-ой опытной группы на 5-ый день опыта

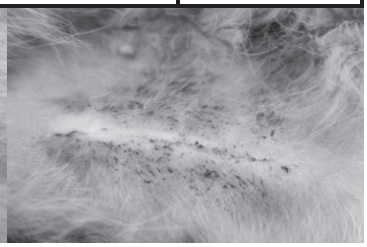


Рис. 3. Состояние шва у животных 1-ой опытной группы на 10-ый день опыта

ли у 100% животных. Развитие гнойного воспаления на месте операционной раны (наличие гнойного экссудата в месте вхождения шовного материала в кожу) наблюдали во 2-ой опытной группе у 20%, в контрольной – у 80% животных. У собак 1-ой опытной группы развития гнойного воспаления не отмечали (рис. 2).

На 10-ый день эксперимента у всех животных отмечалось удовлетворительное клиническое состояние. Воспаление операционного шва регистрировалось во 2-ой опытной группе у 20% собак, в контроле – у 40%. У них же регистрировали остаточное гнойное воспаление. У собак 1-ой опытной группы признаки гнойного воспаления отсутствовали (рис. 3).

Таким образом, шовный материал с новым антибактериальным покрытием на основе наночастиц серебра препятствует развитию послеоперационных осложнений в виде гнойной инфекции и снижает риск его возникновения на 40-60%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанный шовный материал с антибактериальным покрытием на основе наночастиц серебра обладает широким спектром противомикробного действия, значительно снижает процесс воспаления операционного шва и препятствует развитию послеоперационных осложнений в виде гнойной инфекции.

Preventive properties of suture material with antibacterial coating based on silver nanoparticles.

V. Koptev, M. Leonova, I. Onishchenko, N. Shkil, A. Bychkov.

ABSTRACT

The main stage of the surgery is the immobilization of the wound edges. In case of contact with the wound cavity opportunistic pathogens develops purulent inflammation. To avoid such post-operative complications have been developed for new antimicrobial coating for surgical sutures comprising silver nanoparticles. The purpose of research – to

investigate the prophylactic effect of surgical sutures with antimicrobial coating comprising silver nanoparticles for the development of post-operative septic complications in the experiment in vivo. The object of the study was the suture material with the new antibacterial coating, which is represented by silver nanoparticles stabilized in the submicron particles of titanium dioxide. The experiment was conducted on three groups of dogs (n=5) who underwent sterilization; compound surgical wounds were performed using different types of suture material: in the first experimental group used silk covered with silver nanoparticles; in the second experimental group – commercial suture "Polikon"; in the control group – a sterile surgical silk. By the 5-th day of the experiment revealed purulent inflammation at the site surgical wound in 20% of dogs' second experimental group and 80% of dogs in the control group. By the 10-th day at a satisfactory clinical condition incision inflammation persisted in 20% of dogs in the second experimental group and 40% of dogs in the control group. Dogs first experimental group were noted of purulent inflammation as the 5-th and on the 10-th days of the experiment. Thus, the surgical suture material with the new anti-bacterial coating, which includes silver nanoparticles prevents the development of post-operative complications such as purulent infection and reduce the risk of its occurrence is 40-60%.

Key words: suture material, nanoparticles of silver, surgical wounds, postoperative purulent complications.

ЛИТЕРАТУРА

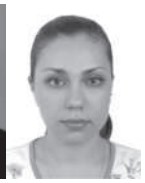
1. Акентьева Т.Н., Кудрявцева Ю.А. Аспекты выбора и модификации хирургического шовного материала // Медицина в Кузбассе. – 2014. – № 2. – С. 3-7.
2. Антонен Е.Ю. Хирургические болезни у собак стафилококковой этиологии // Международный вестник ветеринарии. – 2008. – № 4. – С. 26-30
3. Гарасько Е.В., Шиляев Р.Р., Чуловская С.А., Парфенюк В.И. Применение наноразмерных частиц серебра в медицине // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2008. – Т. 13. – № 3-4. – С. 30-34.
4. Коптев В.Ю., Титова М.А., Балыбина Н.Ю. и др. Оценка уровня накопления серебра в тканях и органах цыплят-бройлеров при пероральном и аэрозольном применении коллоидного серебра // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2014. – № 3. – С. 92-100.
5. Титова М.А., Коптев В.Ю. Пат. 2517121 Российская Федерация, МПК A61L 17/14, A61L 31/00 Способ повышения качества хирургической нити.
6. Титова М.А., Шкиль Н.А., Коптев В.Ю., Бычков А.Л. Оценка антибактериальной и терапевтической эффективности препарата, включающего наночастицы серебра при мастите крупного рогатого скота // Веет. медицина. – 2011. – №3-4. – С. 103 –104.
7. Фисенков Н.Н., Войтенко В.Д. Способ снижения нагноения ран // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – № 4. – С. 32-37.
8. Augustine R., Rajarathinam K. Synthesis and charac. of silver nanoparticles and its immobilization on alginate coated sutures for the prevention of surgical wound infections and the in vitro release studies // In. J. of Nano Dim.. -2012. -Vol.2. -№3. -P. 205-212.
9. Maneewattanapinyo P., Banlunara W. An evaluation of acute toxicity of colloidal silver nanoparticles // J. of Vet.Med.Sc. -2011. -Vol.73. -№11. -P. 1417-1423.
10. Shiwei Zhang, Xuelai Liu, Hualong Wang, Jiao Peng, Kenneth K.Y. Wong Silver nanoparticle-coated suture effectively reduces inflammation and improves mechanical strength at intestinal anastomosis in mice // J. of pediatric sur. -2014. -Vol.49. -№4. -P. 606-613.
11. Dubasa S.T., Wacharanadb S., Potiyarajc P. Tunning of the antimicrobial activity of surgical sutures coated with silver nanoparticles // Col. and Sur. A: Physicoch. and Eng. Aspects.-2011. -Vol380. -№1-3. -P. 25-28.

ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК 619:616.9:636.4

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КОЛИБАКТЕРИОЗЕ ЦЫПЛЯТ

Заикина Е.Н. – младший научный сотрудник , Скворцов В.Н. – д.в.н., директор филиала
Балбуцкая А.А. – научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко



РЕФЕРАТ

Проведено два опыта по лечению экспериментального колибактериоза цыплят ципрофлоксацином. В первом опыте находилось 18 групп цыплят суточного возраста по 50 птиц в каждой. Ципрофлоксацин в концентрациях 50; 100; 200 и 300 мг/л воды начинали выпаивать непосредственно после заражения в первый, второй и третий день жизни цыплят. Во втором опыте находилось 8 групп цыплят по 50 голов в каждой. Ципрофлоксацин начали выпаивать за сутки до заражения. Препарат применяли в течение 5 дней перорально с питьевой водой в свободном доступе в концентрациях 6,25; 12,5; 25; 50; 100 и 200 мг/л воды. Экспериментальную инфекцию воспроизвели путем внутрибрюшинного заражения цыплят суточной культурой *Escherichia coli* в концентрации 150 млн. КОЕ/0,5 мл. Анализ, полученных результатов в первом опыте, свидетельствует о том, что независимо от дозы препарата, при одновременном воспроизведении экспериментального колибактериоза и применении ципрофлоксацина положительных результатов получить не удалось. Во всех группах пало больше половины взятых в опыт цыплят. Данные, полученные во втором опыте, свидетельствуют о том, что наибольшая эффективность от применения ципрофлоксацина получена в группах цыплят, которым препарат выпаивали в течение 5 суток в концентрациях 200 и 100 мг/л воды. В этих группах эффективность лечения составила соответственно 94 и 84 %. С уменьшением концентрации препарата в питьевой воде понижалась и эффективность лечения. Так, при назначении ципрофлоксацина в концентрации 50 мг/л воды выжило всего лишь 62% цыплят. Назначение ципрофлоксацина в концентрациях 6,25; 12,5 и 25 мг/л воды положительных результатов не дало. На основании проведенных исследований, было установлено, что пероральное применение ципрофлоксацина за сутки до заражения цыплят в концентрациях 100 и 200 мг/л воды оказывает выраженное терапевтическое действие.

Ключевые слова: фторхинолоны, ципрофлоксацин, колибактериоз, лечение, цыплята, антимикробная активность.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в промышленном птицеводстве большую проблему представляют болезни бактериальной этиологии, поэтому создание эффективных лекарственных средств для их терапии и

профилактики является актуальным.

В современной ветеринарной практике для лечения бактериальных болезней птиц с большим успехом применяют антимикробные препараты из группы фторхинолонов.

Фторхинолоны обладают широким спектром антимикробной активности [1,2,5,6].

Одной из особенностей этого класса антибактериальных веществ является их способность оказывать быстрое бактерицидное действие, проявляющееся на уровне минимальных подавляющих концентраций (МПК) или превышающих их в 2-4 раза, выраженность которого может сильно отличаться между различными производными [7].

Высокая активность фторхинолонов в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий подтверждена и при лечении инфекций у экспериментальных и сельскохозяйственных животных [3,4].

Ципрофлоксацин – один из наиболее эффективных фторхинолонов, широкого антимикробного спектра, с преимущественной активностью в отношении различных представителей аэробных бактерий. Механизм антимикробного действия заключается в ингибировании фермента ДНК-гиразы, ответственного за нормальный процесс биосинтеза ДНК бактериальной клетки [7].

Целью данной работы явилось изучение эффективности антимикробного препарата на основе ципрофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проводились в двух сериях опытов на цыплятах кросса Хайсекс Браун.

В первом опыте находилось 900 петушков суточного возраста, из которых было сформировано 18 групп птиц по 50 голов в каждой. Ципрофлоксацин начинали выпаивать одновременно с заражением в первый, второй и третий день жизни цыплят. Препарат применяли в течение 5 дней перорально с питьевой водой в концентрациях: первой, седьмой и тринадцатой группам 50 мг/л, второй, восьмой и четырнадцатой группам – 100 мг/л, третьей, девятой и пятнадцатой группам – 200 мг/л, четвертой, десятой и шестнадцатой группам – 300 мг/л. В пятой, одиннадцатой и семнадцатой группах были контрольные цыплята (лечению не подвергались). В шестой, двенадцатой и восемнадцатой группах находились интактные цыплята.

Лечение начинали сразу же после заражения. Цыплят первой, второй, третьей и четвертой групп заражали и начинали лечить в первый день жизни; цыплят седьмой, восьмой, девятой и десятой групп – на второй день жизни; цыплят тринадцатой, четырнадцатой, пятнадцатой и шестнадцатой групп – на третий день жизни.

Во втором опыте находилось 400 петушков суточного возраста, из которых было сформировано 8 групп птиц по 50 голов в каждой. Ципрофлоксацин начали выпаивать за сутки до заражения. Препарат применяли в течение 5 дней перорально с питьевой водой в концентрациях: первой группе 200 мг/л, второй – 100 мг/л, третьей – 50 мг/л, четвертой – 25 мг/л, пятой – 12,5 мг/л и шестой – 6,25 мг/л. В седьмой группе находились контрольные цыплята (лечению не подвергались). Восьмая группа цыплят была интактной.

Экспериментальную инфекцию воспроизводили путем внутрибрюшинного заражения цыплят суточной культурой *Escherichia coli* в концентрации 150 млн. КОЕ/0,5 мл (1 McFarland).

За клиническим состоянием опытных цыплят наблюдали в течение 10 суток после окончания лечения.

Оценку эффективности препарата проводили с учетом выживаемости опытных

Таблица 1

Эффективность лечения экспериментального колибактериоза цыплят ципрофлоксацином

Кол-во цыплят в группе	Концентрация препарата, мг/л воды	Курс лечения, дни	№ гр.	Заражение в первый день жизни				№ гр.	Заражение во второй день жизни				№ гр.	Заражение в третий день жизни			
				Выжило		Пало			Выжило		Пало			Выжило		Пало	
				гол.	%	гол.	%		гол.	%	гол.	%		гол.	%	гол.	%
50	50	5	1	20	40	30	60	7	21	42	29	58	13	15	30	35	70
50	100	5	2	11	22	39	78	8	21	42	29	58	14	16	32	34	68
50	200	5	3	22	44	28	56	9	25	50	25	50	15	19	28	31	62
50	300	5	4	41	82	9	18	10	24	48	26	52	16	22	44	28	56
50	Контрольные	-	5	-	-	50	100	11	-	-	50	100	17	-	-	50	100
50	Интактные	-	6	50	100	-	-	12	50	100	-	-	18	50	100	-	-

и контрольных цыплят, продолжительности жизни леченых птиц по сравнению с контрольными.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ, полученных результатов в первом опыте (табл.1) свидетельствует о том, что независимо от дозы препарата, при одновременном воспроизведении экспериментального колибактериоза и применении ципрофлоксацина положительных результатов достичь не удалось. Во всех группах погибало больше половины взятых в опыт цыплят. Исключение составила четвертая группа, где ципрофлоксацин выпаивали в концентрации 300 мг/л питьевой воды (выжил 41 цыпленок). Также не было получено позитивных результатов от лечения, которое начинали сразу же после заражения в разные дни жизни цыплят. В контрольных группах пали все цыплята, в интактных группах падежа не было.

Данные, полученные во втором опыте (табл. 2), свидетельствуют о том, что наибольшая эффективность от применения ципрофлоксацина получена в первой и второй группах цыплят, которым с лечебно-профилактической целью в течение 5 суток препарат выпаивали в концентрациях 200 и 100 мг/л воды. В этих группах эффективность лечения составила соответственно 94 и 84 %.

С уменьшением концентрации препарата в питьевой воде снижалась и эффективность лечения. Так, при назначении ципрофлоксацина в концентрации 50 мг/л воды выжило всего лишь 62% цыплят.

Применение ципрофлоксацина в концентрациях 6,25; 12,5 и 25 мг/л воды положительных результатов не дало. В четвёртой, пятой и шестой группах падёж цыплят составил 69 – 90%.

В контрольной группе пали все цыплята. Заболевших и павших птиц в интактной группе не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследова-

Таблица 2

Лечебно-профилактическая эффективность ципрофлоксацина при экспериментальном колибактериозе цыплят

№ гр.	Концентрация препарата в питьевой воде (мг/л)	Кол-во цыплят в группе	Выжило		Пало		Суммарная продолжительность жизни	
			голов	%	голов	%	Абс.	%
1	200	50	47	94	3	6	484/500	96,8
2	100	50	42	84	8	16	435/500	87,0
3	50	50	31	62	19	38	409/500	81,8
4	25	50	11	22	39	78	258/500	51,6
5	12,5	50	19	38	31	69	279/500	55,8
6	6,25	50	5	10	45	90	131/500	26,2
7	Контрольная	50	-	-	50	100	114/500	22,8
8	Интактная	50	50	100	-	-	500/500	100

ний, было установлено, что пероральное назначение ципрофлоксацина с питьевой водой в свободном доступе за сутки до заражения в концентрациях 100 и 200 мг/л воды в течение 5 дней оказывает выраженное терапевтическое действие при лечении экспериментального колибактериоза цыплят. В этих группах была и лучшая суммарная продолжительность жизни цыплят, которая составила соответственно 87 и 96,8%, тогда как положительных результатов от лечения, которое начинали сразу же после заражения в разные дни жизни цыплят, достичь не удалось.

Ciprofloxacin efficacy in an experimental colibacteriosis of chickens.

E. Zaikina, V. Skvortzov, A. Balbutskaya.

ABSTRACT

The treatment of experimental colibacteriosis of chickens was carried out in two experiments. In the first experiment were 18 groups of 1 day old chickens. 50 birds were in every group. Ciprofloxacin was administrated orally 3 days running in doses 50; 100; 200 and 300 mg/l of water after chickens were infected. The second experiment consisted of 8 groups of 1 day old chickens. 50 birds were also in every group. Ciprofloxacin was administrated orally 5 days running in doses 6,25; 12,5; 25; 100 and 200 mg/l of water. Antibiotic was administrated at the first time a 24 hours before chickens were infected. The experimental infection was reproduced by the intraperitoneal introduction of the overnight culture of *Escherichia coli* in dose $15x10^7$ microbial cells per 0,5 ml. Analyzing the results of the first experiment, we can conclude that we didn't receive positive results when the *E. coli* infection was reproduced and treated simultaneously. More than half of total number of chickens died in all groups. The analysis findings of the second experiment indicated that the maximal ciprofloxacin efficacy was in groups where antibiotic was administrated orally in doses 100 and 200 mg/l of water during 5 days. In these groups the ciprofloxacin efficacy constituted 94% and 84%, respectively. The smaller concentrations of ciprofloxacin in water reduced a treatment efficacy. Thus, only 62% chickens survived after administration of antibiotic in dose 50 mg/l of water. We didn't observe positive results when ciprofloxacin was administrated in doses 6,25; 12,5 and 25 mg/l of water. In conclusion, it was determined that the oral administration of ciprofloxacin in doses 100 and 200 mg/l of water caused an apparent therapeutic action.

Key words: fluoruquinolines, ciprofloxacin,

colibacteriosis, treatment, chickens, antimicrobial activity.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балбуцкая А.А., Сафонова Н.А., Скворцов В.Н., Войтенко А.В. Чувствительность штаммов Staphylococcus intermedius, выделенных от собак к антимикробным препаратам // Ветеринарная патология. – 2009. № 2. – С. 51-53.
2. Сафонова Н.А., Балбуцкая А.А., Скворцов В.Н., Юрин Д.В., Маханев В.В. Чувствительность и резистентность E. coli, выделенных от животных, к антимикробным препаратам // Ветеринарная патология. - 2010. - № 2 (33). – С. 45-47.
3. Скворцов В.Н., Юрин Д.В., Заикина Е.Н. Антимикробная активность, терапевтическая и профилактическая эффективность ципрофлоксацина при экспериментальном колибактериозе лабораторных животных // Ветеринарная патология. – 2013. - №2. – С. 65-68.
4. Скворцов В.Н., Юрин Д.В., Заикина Е.Н. Антимикробная активность и лечебная эффективность ципрофлоксацина при колибактериозе свиней // Вестник Курской ГСХА. – 2012. - №6. - С. 72-74.
5. Скворцов В.Н., Юрин Д.В., Сафонова Н.А., Балбуцкая А.А. Антимикробная активность ципрофлоксацина в отношении микроорганизмов, выделенных от различных видов животных // Международный вестник ветеринарии. - 2012. - №2. – С. 40-43.
6. Скворцов В.Н., Юрин Д.В., Заикина Е.Н. Антимикробная активность ципрофлоксацина // Бюллетень научных работ БелГСХА. – Вып. 32. – 2012. – С. 43-50.
7. Яковлев В.П., Падейская Е.Н, Яковлев С.В. Ципрофлоксацин в клинической практике. – 2-е изд., испр. и доп.– Москва:Вузовская книга. -2009. – 320с.

УДК 619:615.284

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ КОКЦИДИОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Арисов М.В., Абрамов В.Е. – д.вет.наук, проф., Поселов Д.С.
Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии им. К.И. Скрябина

РЕФЕРАТ

Цель нашей работы - проведение дополнительных исследований по изысканию, скринингу и широкому внедрению новых химических препаратов, сравнительно дешевых, доступных и обладающих, помимо этого, широким спектром противококцидийного действия.

Изучены параметры острой токсичности препарата “Кокцидон суспензия 5%” при введении внутрь: $ЛД_{50}$ для мышей с учетом стандартной ошибки составила 23750±938,7 мг/кг, для крыс - 28541,7±1666,1 мг/кг, что дает основание отнести данный препарат к 4 классу токсичности – малоопасные по ГОСТ 12.1.007-76. Суммарная доза препарата, при которой наблюдали начало эффекта, во много раз превысило значение однократной $ЛД_{50}$. В связи с чем, коэффициент кумуляции значительно больше 1, что указывает об отсутствии кумулятивных свойств исследуемого препарата.

Оценено влияние препарата на организм белых крыс при многократном введении. Анализ полученных данных показал, что исследуемые дозы 1325 и 2650 мг/кг не проявили значительного токсического действия на показатели массы тела, массовые коэффициенты внутренних органов, макро- и микроскопическое состояние тканей органов,

морфологические и биохимические показатели крови крыс в первый и пятый дни эксперимента, по сравнению с контролем. Однако, при введении максимальной дозы - 2650 мг/кг, имелись некоторые незначительные отклонения (увеличение эритроцитов, лейкоцитов; уменьшение уровня глюкозы, увеличение билирубина и амилазы), в связи с чем, указанную дозу можно считать пороговой.

Ключевые слова: препарат, кокцидон, токсичность, кумулятивность, крысы, мыши, показатели.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из важнейших мероприятий в комплексе мер, обеспечивающих предупреждение и ликвидацию заболеваний животных кокцидиозами, в настоящее время по-прежнему является фармакотерапия и профилактика, способствующие не только освобождению животных от паразитов, но и предотвращению рассеивания инвазионного начала в окружающей среде и предупреждению угрозы нового заражения. Для лечения эймериоза предложено значительное количество препаратов - кокцидиостатиков. Сегодня антиэймериозные средства – это антибиотики, алкалоиды, выделенные из растений, производные различных химических групп и т. д., используемые для угнетения жизнедеятельности или уничтожения эндогенных стадий эймерий. Однако необходимо иметь в виду, что многие кокцидиостатики вызывают привыкание к себе эймерий и через некоторое время они становятся неэффективными [2, 4]. Исходя из выше изложенного, возникает необходимость в проведении дополнительных исследований по изысканию, скринингу и широкому внедрению новых химических препаратов, сравнительно дешевых, доступных и обладающих, помимо этого, широким спектром противококцидийного действия. Бесспорно, что реализация указанного научного направления является весьма актуальной задачей для ветеринарной науки и практики.

На базе ВИГИС составлена рецептура и приготовлена лекарственная форма для химиотерапии и профилактики кокцидиозов сельскохозяйственных животных на основе толтразурил, сульфодиметоксин и триметоприм, с рабочим названием “Кокцидон суспензия 5%”. При разработке и изучении ветеринарного препарата необходимо в первую очередь исследовать реакции, возникающие в организме животных под влиянием изучаемого лекарственного средства. Целесообразность передачи нового препарата в практику, а также возможные области его применения могут быть полностью выяснены только в результате количественной и качественной оценки разных сторон его фармако-токсикологических эффектов. На первом этапе экспериментального изучения нами проведены основные фармако-токсикологические исследования нового комплексного препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Расчет параметров острой токсичности препарата при пероральном введении провели в соответствии с методическими рекомендациями по изучению общетоксического действия фармакологических веществ, используя метод Кербера в модификации В.Б. Прозоровского [1]. В опытах при введении в желудок использовали белых мышей (7 групп по 6 голов массой 20-22 гр.) и белых крыс (6 групп по 6 голов массой 190 – 200 гр.). Препарат вводили в чистом виде с помощью иглы с булавовидным утолщением в желудок натощак.

Кумулятивность препарата определяли по методу Лима с соавт. [6]. Опыт провели на белых мышах живой массой 20 - 23 гр. Оценку результатов исследования проводили по отношению средних эффективных доз $ЛД_{50}$ (в остром эксперименте) и $ЛД_{50}$ при многократном ведении по формуле: $К_{kum} = ЛД_{50}(многокр)/ЛД_{50}$

(остр), откуда следует: если коэффициент кумуляции меньше 1, то испытуемый препарат обладает кумулятивными свойствами; если больше 1 – то отмечается повышенная устойчивость к препарату (слабо выраженная кумуляция).

Изучение хронической токсичности проводили в соответствии с методическими рекомендациями Фармакологического государственного комитета [5]. В связи с тем, что препарат в практических условиях предлагается применять однократно, то продолжительность введения его лабораторным животным при изучении хронической токсичности составляет 3-5 дней. В опытах использовали 30 крыс-самцов исходной массой тела 180-200 г. Животным первой и второй групп препарат вводили ежедневно в течение пяти дней с помощью внутрижелудочного зонда в дозах: 1/10 и 1/20 от LD_{50} (2650 и 1325 мг/кг). Животные третьей группы служили контролем, им вводили дистиллированную воду. Ежедневно у крыс регистрировали массу тела. В конце опыта через 1 сутки после последнего введения препарата животных убивали декапитацией и отбирали пробы крови (с и без антикоагулянта) для определения гематологических и биохимических показателей. Определяли массу основных органов и рассчитывали массовые коэффициенты. Функциональное состояние ЦНС оценивали по визуальным наблюдениям за двигательной активностью и реакциями на внешние раздражители. Проводили макро- и микроскопическое исследование органов (печени, легких, почек, сердца, селезенки, желудка), пробы которых отбирали у всех крыс каждой группы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Острая токсичность. В первые сутки, после введения препаратов, гибель животных отмечали при больших дозах препаратов (мыши: 23000 – 25500 мг/кг массы тела; крысы: 28000 – 30000 мг/кг массы тела), в то время малые дозы не вызывали гибели животных. В последующие двое суток гибель отмечали от доз: мыши 19500 - 21500 мг/кг; крысы 20000 – 25000 мг/кг. Максимальная переносимая доза, при которой не отмечали гибели животных, была 16500 мг/кг для обоих животных. При введении препарата в дозе 18000 мг/кг отмечено начало гибели животных. Абсолютно смертельная доза для белых мышей составила 25500 мг/кг, для крыс – 30000 мг/кг массы тела.

Согласно расчетам, $ЛД_{50}$ препарата при введении внутрь для мышей с учетом стандартной ошибки составила 22500±642,7 мг/кг, для крыс - 26458±958,1 мг/кг, что дает основание отнести данный препарат к 4 классу токсичности – малоопасные по ГОСТ 12.1.007-76 [3].

Кумулятивные свойства. Первоначальная доза препарата составляет 0,1 от ранее установленной однократной $ЛД_{50}$ - 22500 мг/кг или 0,45 мл/гол. Для удобства введения препарата внутрь мышам и последующих расчетов, незначительно округлили значение первоначальной дозы до 0,05 мл/гол (25000 мг/кг). При введении препарата и в последующее время не отмечено каких-либо отклонений в поведении мышей и общем состоянии. Начиная с 24 дня введения препарата, у пяти животных отмечалось учащенное дыхание, у одной мышки угнетение. При вскрытии павших животных отмечали кровоизлияния со стороны желудочно-кишечного тракта, дистрофические изменения печени и почек, мочевой пузырь переполнен. 100 %-ной гибели мышей в данном эксперименте не достигнуто. В связи с этим расчет суммарной $ЛД_{50}$ не представляется возможным и необходимым, так как суммарная доза препарата, при которой наблюдали начало эффекта, во много раз превысило значение однократной $ЛД_{50}$. Поэтому коэффициент кумуляции значительно больше 1, и это говорит об отсутствии кумулятивных

Таблица 1

Динамика прироста массы тела у крыс при введении препарата в течение 5-ти дней

Дни	Дозы, мг/кг		
	2650	1325	контроль
1	189,4±1,9	186,5±1,1	187,6±1,6
5	196,8±2,0	194,6±1,3	196,8±1,7
% к исходной массе	103,9	104,3	104,9

свойств исследуемого препарата.

Хроническая токсичность. *Влияние на общее состояние и поведение, динамику прироста массы тела крыс.* При введении препарата, а также в течение всего опытного периода не отмечено каких либо отклонений от нормы в общем состоянии и поведении крыс. Отмечалось лишь некоторая заторможенность в первые минуты после введения препарата, но данное поведение отмечалось и в контрольной группе при введении дистиллированной воды. Введение препарата как в верхней дозе 2650 мг/кг (1/10 от LD_{50}) так и в дозе 1325 мг/кг (1/20 от LD_{50}) не отразилось статистически значимым образом на текущих значениях массы тела в первый и пятый дни эксперимента, а также по сравнению с контролем (табл.1.).

Массовые коэффициенты. Относительная масса органов является простым, но очень наглядным показателем токсического действия препаратов при их длительном введении. Полученные результаты изучения массовых коэффициентов внутренних органов показали, что применение препарата не приводит к достоверным изменениям.

Макро- и микроскопическое исследование тканей. При макроскопическом исследовании печени, легких, почек, сердца, селезенки и желудка после введения препарата крысам в двух дозах, а также контрольных животных не отмечено никаких различий. При микроскопическом исследовании внутренних органов патологических изменений не выявлено.

Гематологические показатели крови. Для объективной оценки токсических свойств препарата необходимо проводить анализ показателей периферической крови крыс. Состояние крови является очень важным показателем токсикологических исследований.

Длительное введение препарата в целом не отразилось отрицательным образом на морфологические показатели крови крыс. Имело место увеличение эритроцитов на 10% и лейкоцитов на 23% в группе, где применяли препарат в дозе 2650 мг/кг, по сравнению с контролем. Данное увеличение мы связываем с нарушением функции печени и поджелудочной железы, на что указывают данные биохимических исследований.

Но необходимо отметить, что у опытных и контрольных животных отсутствовали изменения лейкоцитарной формулы (таблица 3.).

Биохимические показатели крови. Исследования биохимических показателей сыворотки крови после введения исследуемого препарата в дозе 2650 мг/кг в течение 5-ти дней показали, что происходит уменьшение уровня глюкоза на 18,3% по сравнению с контролем, кроме этого незначительное повышение общего билирубина на 8,6%. Данные изменения свидетельствуют о нарушении функции печени. Но учитывая тот факт, что уровень АЛТ и АСТ в указанной группе несколько ниже (на 12,2% и 12,6% соответственно) показателей контроля, можно сказать, что нарушения функции печени незначительные.

Также следует отметить небольшое увеличение уровня амилазы при введении препарата в дозе 2650 мг/кг на 7,3% по сравнению с контролем, что указывает на некоторое воздействие на функцию

поджелудочной железы.

В группе, где вводили препарат в дозе 1325 мг/кг, имело место увеличение щелочной фосфатазы на 72% по сравнению с контролем. Данное увеличение свидетельствует о заболеваниях печени и желчных протоков. Но следует отметить, что в группе, где применяли исследуемый препарат в дозе 2650 мг/кг, уровень щелочной фосфатазы был ниже уровня контрольных животных. В связи с этим, увеличение уровня щелочной фосфатазы не связано с введением исследуемого препарата.

Остальные биохимические показатели не претерпели значимых изменений и находились на уровне показателей контрольной группы и в пределах физиологической нормы для данного вида животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучены параметры острой токсичности препарата “Кокцидон суспензия 5%” при введении внутрь: $ЛД_{50}$ для мышей с учетом стандартной ошибки составила 23750±938,7 мг/кг, для крыс - 28541,7±1666,1 мг/кг, что дает основание отнести данный препарат к 4 классу токсичности – малоопасные по ГОСТ 12.1.007-76. Суммарная доза препарата, при которой наблюдали начало эффекта, во много раз превысило значение однократной $ЛД_{50}$. В связи с чем, коэффициент кумуляции значительно больше 1, что указывает об отсутствии кумулятивных свойств исследуемого препарата.

Оценено влияние препарата на организм белых крыс при многократном введении. Анализ полученных данных показал, что исследуемые дозы 1325 и 2650 мг/кг не проявили значительных токсических свойств на текущие значения массы тела, на массовые коэффициенты внутренних органов, на макро- и микроскопические состояние тканей органов, на морфологические и биохимические показатели крови крыс в первый и пятый дни эксперимента, а также по сравнению с контролем. Однако, при введении максимальной дозы - 2650 мг/кг, имелись некоторые незначительные отклонения (увеличение эритроцитов, лейкоцитов; уменьшение уровня глюкозы, увеличение билирубина и амилазы), в связи с чем, указанную дозу можно считать пороговой.

Pharmaco-toxicological evaluation of the integrated product for the treatment and prevention of coccidioses animals. M. Arisov, V. Abramov, D. Poselov.

ABSTRACT

The parameters of acute toxicity of the preparation "koktsidon suspension of 5%" are studied at introduction inside: ld50 for mice taking into account a standard mistake made 23750±938,7 mg/kg, for rats - 28541,7±1666,1 mg/kg that gives the grounds to carry this preparation to the 4th class of toxicity – low-dangerous in accordance with gost 12.1.007-76. The total dose of the preparation at which observed the effect beginning, many times over exceeded value of single ld50. In this connection, cumulation coefficient is much more 1 that specifies about lack of cumulative properties of a studied preparation.

The effect of the drug on the body of the white rats with is repeated. Analysis of the obtained data showed that the studied doses 1325 and 2650 mg/kg showed no significant toxic properties on the current values of body mass, mass coefficient of internal bodies, on the macro - and microscopic state organ tissues, on morphological and biochemical blood of rats in the first and fifth days of the experiment, but also in comparison with the control. However, at the maximum dose used - 2650 mg/kg, there was some minor deviations (increase of erythrocytes, leukocytes; reduction of the level of glucose, increased bilirubin and amylase), therefore, this dose can be considered a threshold.

Key words: drug koktsidon, toxicity, cumulative, rats, mice, indicators.

УДК:619:615.284.036:636.934.25

КЛИНИЧЕСКОЕ ИСПЫТАНИЕ АНТИГЕЛЬМИНТИКА ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ – ЭПРИМЕК НА ЛИСИЦАХ

Кузнецов Ю.Е.[1] – канд. вет. наук, ассистент кафедры паразитологи, Смирнов А.А.[2] - канд. биол. наук, генеральный директор , [1]Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, [2]ООО «АПИ-САН»

РЕФЕРАТ

В статье изложены результаты исследования по клиническому изучению эффективности нового антигельминтика на лисицах. Снижение продуктивных качеств пушных зверей вследствие паразитарных болезней продолжает ставить перед исследователями задачи совершенствования мер борьбы с инвазиями. Паразиты со временем приобретают способность к адаптации к тем или иным препаратам, поэтому возникает необходимость изыскания новых, эффективных средств терапии и профилактики паразитозов.В ходе испытания лекарственного препарата эпримек нами были отобраны пробы от 120 лисиц разного возраста. У 25,8% животных обнаружены яйца *Toxocaracanis,* 4,1% лисиц были заражены *Toxascarisleonina,* и у 3,3% были выявлены яйца*Trichocephalusvulpis.* Из 40 больных животных у 15-ти наблюдалась микстинвазия, одновременное паразитирование *T. canis*и *T. leonina.*Больным животнымвводили новый антигельминтикэпримекв дозе 0,2 мл на 10 кг массы тела животного однократно.В результате исследований установили, что препарат эпримек имеет высокую антигельминтную эффективность, против различных видов нематод. Эффективность данного препарата против токсокароза, токсаскариоза и трихоцефалидоза лисиц в указанной дозе, составила 90,0-95,0%.Эпримек может быть рекомендован в качестве препарата широкого спектра действия для лечения нематодозов, в промышленном звероводстве в дозе 0,2 мл на 10 кг массы тела животного, однократно.

Ключевые слова: пушные звери, лисицы, кишечные паразиты,токсаскаридоз, токсокароз, трихоцефалез, антигельминтик, макролитический лактон.

ВВЕДЕНИЕ

Исследования последних лет, выполненные нашими и зарубежными учеными, свидетельствуют о широком распространении паразитарных болезней среди различных видов пушных зверей [1,2,4].

Они наносят ощутимый экономический ущерб, так как они являются одной из основных причин, ухудшающих качество пушнины, замедляющих рост молодняка и увеличивающих его отход [5].

Снижение продуктивных качеств пушных зверей вследствие паразитарных болезней продолжает ставить перед исследователями задачи совершенствования мер борьбы с инвазиями. Паразиты со временем приобретают способность к адаптации к тем или иным препаратам, поэтому возникает необходимость изыскания новых, эффективных средств терапии и профилактики паразитозов. В настоящее время главным звеном в борьбе с гельминтозами животных остается дегельминтизация, способствующая не только освобождению организма животных от паразитов, но и препятствующая рассеиванию ими во внешней среде яиц и личинок. Другим, не менее важным зве-

ном в цепи противогельминтозных мероприятий, является профилактика, направленная на предупреждение заражения животных яйцами или личинками гельминтов [6].

В последние годы используются чаще всего комбинированные антгельминтики, в состав которых входит несколько активно действующих веществ из разных групп соединений [3].

Компанией ООО НПО «Апи-сан» разработан антигельминтик, имеющий в основе одно действующее вещество - эпринокмектин, но обладающий широким спектром действия. Эпринокмектин относится к макролитичеким лактонам. Механизм его действия заключается в усилении пресинаптического выделения и связывания с постсинаптическими рецепторами гаммааминомаслянной кислоты (ГАМК), управляющей у позвоночных животных периферической мускулатурой, что приводит к повышению проницаемости мембраны для ионов хлора и, в итоге, к параличу и гибели гельминтов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были выполнены в период с октября 2013 по май 2014 года. Лабораторные исследования по диагностике кишечных паразитозов, проводились на кафедре паразитологии им. В.Л. Якимова, в лаборатории протозоологии Санкт-Петербургскjq государственной академии ветеринарной медицины, по общепринятым флотационным методам. Изучение распространение кишечных паразитозов и у лисиц и клинические испытания антигельминтика, проводили в ООО «Зверохозяйство Лужское», находящихся в Лужском районе, Ленинградской области.

Лисиц разделили на две группы по 20 животных в каждой. В первой группе обработку животных проводили препаратом эпримек, который вводили из расчета 0,2 мл препарата на 10 кг массы животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг веса животного), однократно. В течение трех дней устанавливается наблюдение за животными ветеринарным врачом, для обнаружения и при необходимости локализации побочных эффектов от приема препарата. Контрольная группа при этом содержится в обычных условиях и препарат не получает. Повторные пробы фекалий отбираются на 7, 14 и 21 день после дачи препарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе испытания лекарственного препарата эпримек нами были отобраны пробы от 120 лисиц из них (109 самок, 11 самцов), разного возраста. У 31 животных в фекалиях были обнаружены яйца Toxocara canis, 5-ти лисиц были заражены Toxascarisleonina, и у 4-х были выявлены яйца Trichocephalusvulpis. Из 40 больных животных у 15-ти наблюдалась микстинвазия, одновременное паразитирование T. canis и T. leonina. Диагнозы были поставлены на основании эпизоотологических данных, клинических наблюдений, патологоанатомического и лабораторных исследований.

Нами были получены следующие данные, в первой группе эффективность препарата эпримек в дозе 0,2мл/10кг однократно, составила 90,0% по отношению к T. canis и T. leonina, в одной повторной пробе мы обнаружили единичные яйца Tr. vulpis. Из побочных явлений отмечено следующее, спустя 10-15 минут после проведенной инъекции, у двух лисиц наблюдалась рвота и повышенная саливация. У животных первой группы, при копроовоскопии на 7-й, 14-й и 21-й день опыта яйца гельминтов обнаруживались лишь в двух пробах. В контрольной группе у всех животных выявили яйца гельминтов. После завершения первой части испытаний, контрольная группа подверглась также обработке препаратом эпримек, в той же дозе, однократно. Эффективность препарата составила 95% на 3-й день, после обработки животных лишь у

одной лисицы были обнаружены яйца T. canis и Tr. vulpis, у всех остальных животных из этой группы, на 3-й, 14-й и 21-й день яиц гельминтов не обнаружено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований установили, что препарат эпримек имеет высокую антигельминтную эффективность, против различных видов нематод. Эффективность данного препарата против токсокароза, токсаскариоза и трихоцефалидоза лисиц в дозе 0,2 мл на 10 кг (200мкг/1кг по ДВ) внутримышечно, однократно, составила 90,0-95,0%.

Эпримек может быть рекомендован в качестве препарата широкого спектра действия для лечения нематодозов, в промышленном звероводстве в дозе 0,2 мл/10 кг., однократно.

The clinical trial of broad-spectrum anthelmintic – eprimek fox.

Y. Kuznetsov, A. Smirnov.

ABSTRACT

The article presents the results of a clinical studies research based on effectiveness of a new anthelmintic tried on foxes. Reducing the productive qualities of fur-bearing animals due to parasitic diseases, continues to stimulate researchers for finding new ways of improving measures to combat infestations. Parasites eventually acquire the ability to adapt to the different drugs, so there is a need to find new and effective means of treatment and prevention of parasitic diseases. During the test drug Eprimek we have colocted probes from 120 foxes of different ages. In 25.8% of the animals were found Toxocaracanis eggs, 4,1% were infected with Toxascarisleonina, and in 3.3% eggs of Trichocephalusvulpis were identified. 15 of 40 infected animals had simultaneous parasites *T. canis* and *T. leonina*. Sick animals was given a new drug Eprimek in dose of 0.2 ml per 10 kg of body weight, only once. The studies found that Eprimek has a high anthelmintic efficacy against different types of nematodes. The effectiveness of this drug against toxocariasis, toksaskariosis and trihotsefalidosis amounted to 90,0 - 95,0%. Eprimekcan be recommended as a broad-spectrum drug for the treatment of nematosis for industrial animal farming in a dose of 0.2 ml per 10 kg of animal body weight, once.

Keywords: fur animals, foxes, intestinal parasites, toksaskaridosis, toxocariasis, trichuriasis, anthelmintic, makrolitic lactone.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимчик В.А. Кишечные паразитозы пушных зверей (этиология, эпизоотология, патогенез, диагностика, терапия и профилактика) // Автореф. дис. ... докт. вет. наук. – Минск. -2008. –41с.
2. Евенко А.В. Эффективность фебтала при токсаскариозе и токсокарозе песцов // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: Тез докл. Всерос. науч. конф. общества гельминтологов имени К.И. Скрябина. М. - 2001. -С. 84.
3. Кузнецов Ю.Е. Сравнительная эффективность альбена и левамизола 75 на песцах разных возрастных групп в хозяйстве Ленинградской области // Мат. III съез. фарм. и токс. РФ. Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации. -СПб. -2011. –С. 275-277.
4. Подушкина М.А. Изучение антигельминтной активности препаратов при нематодозах голубых песцов // Методы повышения продуктивности и резистентности организма животных в Республике Башкортостан: мат. рег. науч.-практ. конф. посв. 70-летию БГАУ. - Уфа. -2000. -С. 203-205
5. Сафиуллин Р.Т. Альбен - высокоэффективный препарат при токсаскаридозе и токсокарозе пушных зверей // Ветеринария. -2001. -№3. -С. 29-31.
6. Скрябин К.И. Основы нематодологии. - М. -1957. - Т.6. -52с.

УДК: 619:615.28

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ И АНТИМИКОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА АРГУМИСТИН

Кузьмин В.А.[1] – д.вет.н., профессор кафедры эпизоотологии им.В.П. Урбана,
Лунегов А.М.[1] – к.вет.н., доцент кафедры фармакологии и токсикологии,
Крутяков Ю.А.[2] – ,
Белкина И.В.[1] - к.вет.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии,
Савенков К.С.[1] – к.с-х.н, доцент кафедры эпизоотологии им.В.П. Урбана,
[1]Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины,
[2]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

РЕФЕРАТ

Нерациональное применение антибиотиков приводит к распространению устойчивых штаммов бактерий и в связи с этим ограничение терапевтических возможностей, загрязнение продуктов животноводства остаточными количествами лекарственных препаратов и ухудшение в результате этого их качества, учащение аллергических реакций. В связи с этим постоянно создаются новые универсальные антимикробные препараты, способные подавлять антибиотикоустойчивые формы микробов. В этом отношении, как показывают опыты многих учёных, серебро обладает несравненным преимуществом перед всеми антимикробными средствами. На кафедре фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины был изучен антисептический ветеринарный препарат Аргумистин (состоящий из серебра коллоидного и мирамистина) в отношении антибактериальной и антимикотической активности. В задачи данного этапа исследований входило определение минимальной подавляющей концентрации активных компонентов Аргумистина в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибов. Результаты опытов показали, что все исследуемые штаммы бактерий весьма чувствительны к действию Аргумистина. Установлено, что минимально подавляющая концентрация антисептического ветеринарного препарата Аргумистин в отношении грамотрицательных микроорганизмов лежала в диапазоне 1-10 мкг/мл, в отношении грамположительных микроорганизмов в диапазоне 5-20 мкг/мл, в отношении мицелиального гриба *A. niger* и дрожжеподобного гриба *C. albicans* 10-25 мкг/мл. Наибольшей чувствительностью среди грамотрицательных бактерий к препарату Аргумистин обладает *E.coli,* среди грамположительных микроорганизмов обладает *S.aureus*. Аргумистин обладает умеренной (фунгистатической) активностью в отношении мицелиальных грибов и дрожжей.

Ключевые слова: ветеринарное лекарственное средство Аргумистин, антисептический препарат, коллоидное серебро, мирамистин, антибактериальная активность, антимикотическая активность.

ВВЕДЕНИЕ

Нежелательным явлениям нерационального применения антибиотиков относят распространение устойчивых штаммов бактерий и в связи с этим ограничение терапевтических возможностей, за-

грязнение продуктов животноводства остаточными количествами лекарственных препаратов и ухудшение в результате этого их качества, учащение аллергических реакций [1].

В связи с этим возлагаются огромные надежды на создание новых универсальных антисептических препаратов, способных подавлять антибиотикоустойчивые формы микробов. В этом отношении, как показывают опыты многих учёных [2,4], серебро обладает несравненным преимуществом перед всеми антимикробными средствами.

Краткий анализ ветеринарной литературы за 100 лет позволил установить, что лекарственные средства на основе серебра с большим эффектом использовались при лечении широкого спектра заболеваний бактериальной, вирусной и паразитарной этиологии, как наружного, внутреннего и внутривенного применения.

Одной из разновидностей серебра является ионное или электролитное. Было установлено, что ионное серебро повышает эффективность многих антибиотиков и тем самым способствует предупреждению выработки устойчивости к этим препаратам [5,6]. Эти же авторы первыми использовали ионное серебро в ветеринарной химиотерапии. Все это говорит о перспективности применения ионного серебра в ветеринарии [7].

Серебро является высокоэффективным бактерицидным средством. В последние годы все чаще наночастицы серебра включают в состав многих лекарственных средств и лекарственных форм, повышая их антибактериальную активность, а также создают новые лекарственные средства на основе серебра (Фураргент, Биатен АГ, Сульфадиазин серебра и др.) [3].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась в Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины в период с 01 по 30 апреля 2014 г.

Объектом исследования служил антисептический ветеринарный препарат Аргумистин – водная дисперсия частиц коллоидного серебра (10 мг/л и 50 мг/л), стабилизированного хлоридом бензилдиметил [3-(миристоиламино)-пропил] аммония моногидратом (100 мг/л).

Цель исследования – изучение антибактериальной и антимикотической активности препарата Аргумистин в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и грибов.

В задачи данного этапа исследований входило определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) активных компонентов (серебро коллоидное, мирамистин) в составе препарата в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибов.

Вся посуда и вспомогательное оборудование, используемые в испытаниях, стерилизовалась в автоклаве при 120ºС в течение 3 часов.

Для измерения антибактериальной активности препарата Аргумистин использовали стандартный метод серийных разведений. Критерием антибактериальной активности служила величина (МПК) – концентрация активного компонента, при которой наблюдалось подавление роста микроорганизмов.

Рост бактерий изучали в жидкой питательной среде Гаузе №2, а рост грибов изучали в жидкой среде Сабуро.

Для изучения антибактериальной активности образцов были выбраны следующие штаммы: грамотрицательные бактерии - *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter cloacae;* грамположительные бактерии - *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus;*бациллы - *Bacillus subtilis;* грибы - *Aspergillus niger, Candida albicans;* дрожжи - *Saccharomyces cerevisiae.*

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для определения МПК Аргумистин

смешивали с питательной средой. МПК измеряли через 48 ч после инкубации в термостате при 37ºС, а при культивировании в случае грибов – 72 часа при 28ºС - 35ºС.

Учет результатов проводился визуально используя стандарт мутности. Последняя прозрачная пробирка ряда соответствовала МПК. Из всех прозрачных пробирок делали высевы на твердые агаризованные питательные среды для определения жизнеспособности клеток. При обнаружении живых клеток концентрацию вещества считали бактериостатической, при отсутствии – бактерицидной.

Результаты исследования показали, что все штаммы бактерий весьма чувствительны к действию Аргумистина. Установлено, что МПК (по серебру коллоидному) препарата Аргумистин в отношении грамотрицательных микроорганизмов лежала в диапазоне 1-10 мкг/мл, в отношении грамположительных микроорганизмов в диапазоне 5-20 мкг/мл, в отношении мицелиального гриба *A. niger* и дрожжеподобного гриба *C. albicans* 10-25 мкг/мл.

Наибольшей чувствительностью среди грамотрицательных бактерий к препарату Аргумистин обладает *E.coli* (МПК препарата 1 мкг/мл по серебру коллоидному); наибольшей чувствительностью к препарату Аргумистин среди грамположительных микроорганизмов обладает *S.aureus* (МПК препарата около 5 мкг/мл по серебру коллоидному). Аргумистин обладает умеренной активностью в отношении мицелиальных грибов *A.niger* и *C.albicans* (МПК препаратов10-25 мкг/мл по серебру коллоидному), проявляя в их отношении лишь фунгистатическое действие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных опытов определения антибактериальной и антимикотической активности можно сделать вывод, что препарат Аргумистин (с содержанием серебра 10 и 50 мкг/мл серебра коллоидного и 100 мкг/мл мирамистина) обладает ярко выраженным антисептическим действием в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, умеренной (фунгистатической) активностью в отношении мицелиальных грибов и дрожжей.

Study of antibacterial and antimycotic activity of the drug Argumistin.

V. Kuzmin, A. Lunegov, I. Belkina.

ABSTRACT

Irrational use of antibiotics leads to the spread of resistant strains of bacteria and therefore the limitation of therapeutic options, the contamination of animal products with residual amounts of drugs and the deterioration in the result of their quality, increased allergic reactions. In this regard, new universal antimicrobial drugs able to inhibit antibiotic-resistant forms of bacteria. In this respect, as shown by the experiences of many scientists, silver has the incomparable advantage over all antimicrobial agents. At the Department of pharmacology and toxicology, St. Petersburg state Academy of veterinary medicine was studied veterinary antiseptic drug Argumistin (consisting of colloidal silver and miramistin) in respect of antibacterial and antimycotic activity. The objectives of this phase of the research was to identify the minimum overwhelming concentration of active components Argumistin against gram-positive and gram-negative bacteria, and fungi. The results of the experiments showed that all the studied strains of bacteria is very sensitive to the action of Argumistin. It is established that the minimum inhibitory concentration antiseptic veterinary drug Argumistin against gram-negative microorganisms was lying in the range of 1-10 mcg/ml against gram-positive microorganisms in the range of 5-20 mcg/ml, against filamentous fungus A. niger and yeast-like fungus C. albicans 10-25 mcg/ml Highest sensitivity among gram-negative bacteria to the drug Argumistin has E. coli, among gram-positive bacteria S. aureus has.

Argumistin has a moderate (fungistatic) activity against filamentous fungi and yeast.

Key words: veterinary medicine Argumistin, antiseptic drug, colloidal silver, miramistin, antibacterial activity, antifungal activity

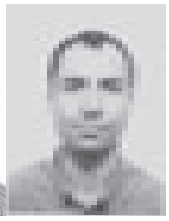
ЛИТЕРАТУРА

1. Кальницкая О.И. Использование антибиотиков в ветеринарии и животноводстве // Тезисы докладов Всерос. конф. лек. средства для животных и корма. Современное состояние и перспективы. – М. -2005. –С. 51-53.
2. Кульский Л.А. Серебряная вода. изд. 9-е перераб и доп. – Киев. -1987. – 135 с.
3. Лунегов А.М. Мат. III междун. конг. вет. фармакологов и токсикологов. -СПб. -2014. –С. 165-166.
4. Потапченко Н.Г. Кинетика подавления роста Escherichia coli серебром // Микробиология. -1985. -№3. –С.47.
5. Соколов В.Д. Применение аэрозолей ионного серебра при пуллорозе-тифе и колибактериозе цыплят // Ветеринария. -1973. - №8. – С.72.
6. Соколов В.Д. Антимикробные средства в птицеводстве. -М. –1984. – 147с.
7. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Лунегов А.М. Перспективы использования ионного серебра в птицеводстве // Мат. семинара-презентации «Перспективы и приемущества применения ветеринарных препаратов на основе молочной кислоты». – СПб. -2008. - С. 26-39.

УДК 619.615.9.

ИЗУЧЕНИЕ ПЕРЕНОСИМОСТИ И СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА ИВЕРСАН НА СВИНЬЯХ

Енгашева Е.С. - к.в.н., Новиков Д.Д. - к.в.н.,
ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита», Москва



РЕФЕРАТ

Фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита» разработан новый противопаразитарный препарат Иверсан. При изучении доклиники по переносимости Иверсана установлено, что препарат как в терапевтической (400 мкг/кг), так и в трехкратно увеличенной дозе (1200 мкг/кг) введенной в течение 5 дней не вызывает изменений в гематологических и биохимических показателях крови свиней. В опыте по изучению субхронической токсичности (препарат задавали в течение 30 дней) наблюдали позитивное действие препарата на функциональную активность почек (по мочевине и креатинину), печени (по АЛТ и АСТ) и снижению уровня амилазы. Морфологические показатели крови и мочи в течение всего периода исследований были в пределах нормы и существенно не отличались от показателей животных контрольных групп.

Ключевые слова: Иверсан, свиньи, переносимость, субхроническая токсичность, гематологические и биохимические показатели.

ВВЕДЕНИЕ

ООО «НВЦ Агроветзащита» разработал антигельминтный препарат в форме раствора для перорального применения содержащий в качестве действующего вещества 4 % ивермектин.

Ивермектин широко применяется для лечения различных паразитарных заболеваний, причем в очень малых концентрациях по сравнению с другими паразитоцидами. Ивермектин обладает широким спектром противопаразитарного дейст-

вия, применяется орально, наружно и подкожно в виде инъекций [1-3, 7-10].

Препарат обнаруживают в сыворотке крови, по крайней мере, через 28 часов после однократного перорального применения. Преимущественно ивермектин накапливается в печени и жировой ткани, где и метаболизируется. Независимо от способа введения, препарат выделяется в основном с желчью и фекалиями, также (до 7%) выделяется с молоком [8].

При изучении токсичности ивермектина на овцах, препарат вводили валушкам подкожно в дозах 200, 500, 1000 и 5000 мкг/кг. Установлено, что ивермектин, введенный в дозе, в 25 раз превышающий терапевтическую, не вызывает токсикоза. При двукратной подкожной инъекции с интервалом 14 суток в дозе 200 мкг/кг у овец не происходило изменений со стороны форменных элементов крови, белкового и азотистого обменов в организме.

Препарат не оказывал отрицательного действия на содержание аскорбиновой кислоты, активность глутатиона, ферментов переаминирования и лейцинаминопептидазы в крови. Ивермектин введенный в терапевтической дозе (0,2 мг/кг) овцам, не обладает эмбриотропным и цитогенетическим действием.

Однако ряд феноменов при оральном введении препарата не полностью изучены

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Субхроническую токсичность и переносимость препарата изучали на 20 свиньях весом 60-70 кг. Свиней разделили на 4 группы: первая (5 голов) – получала препарат в течение пяти дней в терапевтической дозе (400 мкг/кг), вторая (5 голов) – получала препарат в трехкратно увеличенной дозе (1200 мкг/кг) в течение 5 дней, третья (5 голов) – получала препарат в дозе 400 мкг/кг 30 дней, четвертая (5 голов) – служила контролем.

Кровь для исследований брали из ушной вены. Для определения гематологических показателей использовали цельную кровь (с гепарином), для биохимических – готовили сыворотку крови. Весь материал статистически обработан по методу Стьюдента-Фишера [4,5,6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Колебания в количестве эритроцитов и лейкоцитов в 1 мкл крови, содержании гемоглобина и в лейкоцитарной формуле свиней 1, 2 и 3-й групп в течение всего периода исследований были в пределах нормы и существенно не отличались от показателей животных контрольной груп-

Таблица 1

Влияние Иверсана на биохимические показатели свиней

Показатель	Дни терапии			
	До лечения	Через 5 дней	Через 10 дней	Через 30 дней
Общий белок, г/л	49,6±0,6	53,0±0,3	45,3±2,1	50,6±0,3
Альбумин, г/л	16,3±0,2	18±0,4	17,8±0,3	20,3±0,6
Мочевина, ммоль/л	2,1±0,1	2,8±0,1	2,4±0,6	2,8±0,2
Креатинин, мкмоль/л	115±1,8	139±1,3	120±1,5	133±0,2
АСТ, Е/л	69,3±0,6	33,3±0,1	65,3±1,4	30±0,3
АЛТ, Е/л	85,3±0,8	81,3±1,5	79,3±1,3	74,3±0,4
Амилаза, Е/л	2685±1,6	5104±1,8	3069±2,6	4977±1,8
Глюкоза, ммоль/л	2,4±0,2	5±2,3	2,3±0,2	3,2±0,1
Хлориды, ммоль/л	102,2±1,6	99,5±1,2	104,2±2,7	101±1,6
Кальций, ммоль/л	2,4±0,1	2,6±0,2	2,4±0,3	2,6±0,2
Ig A, мг/дл	35,4±0,4	46,7±0,6	34,9±2,3	48,5±0,4
Ig M, мг/дл	33,2±0,2	88,9±1,4	30,5±1,3	93,1±0,8
Ig G, мг/дл	62,4±0,5	122,6±1,8	40,0±0,3	139,0±0,5

Таблица 2

Гематологические показатели свиней после введения препарата

№гр.	Доза препарата (мг/кг)	Результаты исследований											
		До обработки			Через 5 суток			Через 10 суток			Через 30 суток		
		Гемо-гл. г/л	Эритр. 10^{12}/л	Лей-коц.10^{9}/л	Ге-могл.г/л	Эритр. 10^{12}/л	Лей-коц.10^{9}/л	Ге-могл.г/л	Эритр. 10^{12}/л	Лей-коц.10^{9}/л	Ге-могл.г/л	Эритр. 10^{12}/л	Лей-коц.10^{9}/л
1	400	12,2±1,4	8,4±0,8	7,8±0,6	12,4±1,2	8,2±0,6	8,0±0,4	12,2±1,4	8,2±0,4	8,2±0,2	12,8±0,9	7,8±0,9	8,0±0,3
2	1200	11,8±1,8	8,0±0,3	8,0±0,4	12,0±1,8	8,0±0,4	8,2±0,6	12,4±1,6	8,6±0,5	8,0±0,2	12,3±0,7	8,0±0,3	8,1±0,5
3	контроль	12,4±1,2	8,2±0,9	8,4±0,7	12,2±1,6	8,4±0,6	8,0±0,4	12,6±1,8	8,0±0,6	8,2±0,4	12,4±1,2	8,2±0,9	8,4±0,2

пы.

Удельный вес мочи и показатель pH мочи животных, получавших препарат, не изменялись после введения препарата в дозах 400 и 1200 мкг/кг. Все показатели были в пределах физиологической нормы и не отличались от показателей мочи животных контрольной группы.

Все исследуемые показатели общего состояния, крови и мочи у животных контрольной и подопытной групп в течение всего опыта были на одном уровне и существенно не менялись (таблицы 1 – 2).

Биохимическими исследованиями установлено выраженное позитивное влияние препарата на функциональную активность почек (снижение уровня мочевины и креатинина), поджелудочной железы (снижение уровня амилазы).

Применение Иверсана положительно влияло на функциональную активность печени. Величина АСТ снизилась соответственно на 51,9 и 54,0%, снижение АЛТ было менее выраженным – 4,7 и 6,3%.

При исследовании мочи удельный вес у подопытных и контрольных животных находился в пределах 1,0±0,6 до 1,0±0,4, а показатель pH составлял от 7,2±0,8 до 7,8±0,9.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что препарат в терапевтической (400 мкг/кг), а также в 3 раза увеличенной дозе (1200 мкг/кг) не оказывает отрицательного влияния на клиническое состояние свиней, гематологические и биохимические показатели.

The study of the tolerability and subchronic toxicity Iversan in pigs.

E. Engasheva, D. Novikov.

ABSTRACT

Agrovetzaschita Ltd. Has been developed the new antiparasitic drug Iversan. Therapeutic drug (400 mg/kg) and a threefold increase in dose (1200 ug/kg) was administered over 5 days during pre-clinical study. It did not was the cause of changes in the he-

matological and biochemical indices of blood of pigs. The positive effect of the drug on the functional activity of the kidneys (urea and creatinine), liver (for ALT and AST) and lower levels of amylase (drug asked for 30 days) was observed in sub-chronic study. Morphological blood and urine were normal and did not differ significantly from that of control groups during the study period. Keywords: Iversan, pigs, tolerance, sub-chronic toxicity, hematological and biochemical parameters.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков Ф.А. Ивомек – опыт применения в России. -М. -1999. -39 с.
2. Волков Ф.А., Апалькин В.А., Волков К.Ф. Макроциклические лактоны в ветеринарии (аверсект, дектомакс, дуотин, ивомек, цидектин, эквалан и другие препараты). -Новосибирск. -1995. –100с.
3. Методические рекомендации по доклиническому изучению репродуктивной токсичности фармакологических средств. -М. -1986.
4. Клочков Д.Ф., Архипов И.А. Испытание ивермека при онхоцеркозе лошадей // Мат. 3-й меж. межв. науч.-пр. конф. аспирантов и соискат. «Предпосылки и эксперимент в науке». -СПб. -2005. –С. 30 – 31.
5. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических свойств. -М. -2000. –22с.
6. Предтеченский В.Е. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям. -М. -1960. -315с.
7. Bordin E.L. Efficacy of ivermectin in the Treatment of Equine Habronemiasis in Brazil // Equine practice. -1987. –Vol.4. -№ 9. –P. 18–19.
8. Craig N. Burkhart. Ivermectin: An Assessment of its Pharmacology, Microbiology and Safety // Vet. Human Tox. -2000. –Vol.42. -№ 1. –P. 30 – 35.
9. Easby S.M. Ivermectin in the dog // Veterinary Record. -1984. –Vol.115. –45p.
10. Lyons E.T., Drudge J.H., Tolliver S.C. Verification of ineffectual activity of ivermectin against adult Oncocercaspp in the ligamentumnuchae of horses // Am. J. Vet. Res. –1988. -Vol.49. -№7. -P. 983 – 985.

Зоогигиена, санитария, кормление

УДК: 636.2.087:612.015.3

ВЛИЯНИЕ ПРОРОЩЕННОГО ЗЕРНА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ У КОРОВ

Батраков А.Я. - д. в. н., профессор; Донская Т. К. - к. б. н., доцент; Пилаева Н. В. - к.б.н., доцент; Васильев Р. М. - к. в. н., доцент; Васильева С.В. - к. в. н., доцент; Трушкин В.А.-к. в. н., ассистент. Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты применения пророщенного ячменя в рационе новотельных коров. При ежедневном скармливании пророщенного зерна коровам сразу после отёла в количестве 0,5 кг в сутки в течение трёх месяцев было выявлено улучшение основных обменных процессов. Мониторинг белкового, углеводного, жирового, минерального обменов показал позитивные изменения у животных подопытной группы. У коров, получавших пророщенное зерно, увеличивалось со-

держание глюкозы, альбуминов в сыворотке крови и снижался уровень билирубина. Выявленные изменения биохимического профиля крови позволили сделать выводы о благоприятном влиянии пророщенного ячменя на синтетическую функцию печени, а также на пигментный обмен. Молочная продуктивность коров возросла на 5,9%.. Показана целесообразность применения такого зерна при условии простоты и дешевизны его приготовления.

Ключевые слова: коровы, лактация, метаболизм, биохимические показатели, пророщенный ячмень.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушение обмена веществ у высокопродуктивных коров широко распространено во многих хозяйствах и наносит экономический ущерб, в результате чего снижаются сохранность животных, воспроизводительная функция и продолжительность хозяйственного использования коров. Основными причинами преждевременного выбытия животных являются болезни органов репродуктивной системы (35,1%), обмена веществ (24,0%) и конечностей (15,8%) [1, 11]. Таким образом, здоровье коров в течение первых двух месяцев после отела следует рассматривать как один из основных факторов, определяющий уровень заболеваемости и сохранности маточного поголовья. Высокопродуктивные коровы в ранний период лактации часто не способны поддерживать положительный энергетический баланс, что приводит к возникновению метаболических расстройств: кетозы, гипокальцимия, гиповитаминозы, ацидозы, гипофункции яичников и другие [9].В начале лактации у коровы продукция молока высокая и энергия кормов рациона бывает недостаточной для энергетического баланса организма. В этой ситуации интенсивно используются жирные кислоты жировых депо организма для синтеза триглицеридов молока [5, 8].

Для оптимизации рационов новотельных коров предлагаются различные способы подготовки зерновых компонентов, в том числе проращивание, плющение, экструдирование, что позволяет достичь увеличения питательности и усвояемости кормов [2, 6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью наших исследований являлось изучение влияния пророщенного ячменя на обменные процессы новотельных коров. Данные исследования проводились в молочном хозяйстве в Кировском районе Ленинградской области в период с декабря 2012 по апрель 2013 на коровах айрширской породы живой массой от 480 до 510 кг, в возрасте 4-5 лет. Молочная продуктивность за предыдущую лактацию составила 6260 – 6480 кг. Содержание коров в данном хозяйстве привязное, стойлово-пастбищное.

Проросшее зерно ячменя в количестве 0,5 кг на одну голову давали коровам ежедневно сразу после отела на протяжении трех месяцев. Животные были разделены на две группы по 6 коров в каждой. Коровам подопытной группы скармливали проросшее зерно и при этом уменьшали на 0,5 кг ввод концентратов. Животные контрольной группы получали полную норму концентратов без пророщенного зерна. Остальные ингредиенты рациона были одинаковыми для обеих групп. Через 30 и 60 дней после начала скармливания пророщенного зерна у коров подопытной и контрольной групп была взята кровь и проведен ряд биохимических исследований.

Исследования сыворотки крови коров проводились в клинико-биохимической лаборатории ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ». Для анализа использовались готовые наборы реагентов в соответствии со стандартизированными методиками.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований представлены в таблице 1.

При оценке содержания общего белка и его фракций в сыворотке крови исследуемых коров обращает на себя внимание изменения альбуминов и глобулинов в течение опыта. Так, уровень альбуминовых белков через месяц после отёла у коров обеих групп находится на относительно низком уровне, что связано как с высокой синтетической нагрузкой печени в данный период, так и с приоритетным синтезом молочных белков, для которых сывороточный альбумин является поставщиком аминокислот [4, 10]. Через два месяца после начала опыта отмечается увеличение белков этой фракции в подопытной и контрольной группах (на 26,2% (P<0,005) и 13,5%, соответственно). При исследовании концентрации глобулинов определяется превышение показателя контрольной группына первом этапе – в 1,4 раза (P<0,05), а на втором – в 1,2 раза. Концентрация мочевины в нашем опытеимеет различную динамику в исследуемых группах.В подопытной группе её содержание растёт от 5,63±0,55 до 7,83±1,16 ммоль/л, а в группе контроля остаётся сравнительно на одном и том же уровне, но в обоих случаях превышает значения опытной группы (в 1,68 и 1,24 раза), а также установленные нормативные пределы. Повышение этого показателя в группе контроля свидетельствует как об избытке кормового белка, так и о повышении катаболизма, что может быть следствием повышенного распада тканевых белков. Это косвенно подтверждается динамикой активности трансаминаз – ферментов АЛТ и АСТ. Так, если катаболические процессы идут интенсивнее у коров контрольной группы, то и активность ферментов переаминирования у них ниже, чем в подопытной группе. Действительно, процессы трансаминирования не приводят к образованию аммиака, в этих реакциях азот сохраняется в составе аминокислот, меняется лишь их качественный состав. Результаты исследования показывают, что состояние энергетического обмена более благоприятно у коров подопытной группы. При рассмотрении данных, приведённых в таблице, можно заметить, что уже через месяц после начала эксперимента в подопытной группе намечается тенденция к росту показателя, а через два месяца выявляется достоверное увеличение (P<0,05) концентрации глюкозы в подопытной группе по сравнению с контрольной (2,92±0,24 и 2,18±0,21ммоль/л соответственно). Также выявляется рост уровня глюкозы в этой группе течение эксперимента – от 2,4±0,4 до 2,62±0,29 ммоль/л.

В отношении концентрации холестерина можно отметить, что его динамикаимеет выраженные межгрупповые различия. Так, если в подопытной группе происходит увеличение содержания холестерина с 3,67±0,22 до 6,8±0,57 ммоль/л, то в группе контроля показатель меняется в меньшей степени и составляет 4,39±0,82 и 5,8±0,4 ммоль/л. Обращают на себя внимание межгрупповые различия в содержании билирубина на протяжении эксперимента. Так, на первом этапе, показатель контрольной группы превышал значение подопытной группы вдвое, на втором этапе – в 1,88 раза (P<0,05).

В наших исследованиях выявлено снижение билирубина в сыворотке крови в подопытной группе по сравнению с контрольной. Уже через месяц после начала скармливания пророщенного ячменя концентрация билирубина снижалась в два раза. Эта тенденция сохранилась и спустя два месяца после отёла. Увеличение активности щелочной фосфатазы у коров контрольной группы спустя два месяца после начала эксперимента на 27,5% по сравнению с подопытной группой может указывать как на нарушение минерального обмена, так и на избыточную секрецию

Таблица 1

Биохимические показатели сыворотки крови коров под влиянием пророщенного зерна (M±m)

Показатели	Через 30 дней после начала опыта		Через 60 дней после начала опыта	
	Подопытная группа	Контрольная группа	Подопытная группа	Контрольная группа
Общийбелок, г/л	69,9±1,7	88,7±5,2	82,6±1,8	89,6±2,6
Альбумин, г/л	22,8±1,1	23,4±1,7	30,9±3,2	27,1±0,5
Глобулины, г/л	47,2±0,7	65,3±4,2	51,7±4,3	62,5±2,5
Мочевина, ммоль/л	5,6±0,6	9,4±1,4	7,8±1,2	9,7±1,6
Креатинин, мкмоль/л	76,1±4,4	71,5±4,0	74,3±8,1	66,1±2,8
Билирубин, мкмоль/л	2,7±0,8	5,5±1,2	2,4±0,6	4,6±1,5
АЛТ, МЕ/л	33,4±10,2	23,8±4,7	32,8±4,4	31,4±3,6
АСТ, МЕ/л	118,7±12,7	102,2±10,6	110,3±3,5	86,9±8,3
Щелочнаяфосфатаза, МЕ/л	74,8±15,1	76,6±22,3	80,1±9,8	110,5±30,6
Амилаза, МЕ/л	35,4±5,0	38,2±4,7	52,4±2,1	45,6±3,8
Глюкоза, ммоль/л	2,4±0,4	2,0±0,4	2,9±0,2	2,2±0,2
Холестерин, ммоль/л	3,7±0,2	4,4±0,8	6,8±0,6	5,8±0,4
Кальций, ммоль/л	3,0±0,0	2,8±0,1	2,8±0,1	2,8±0,1
Фосфор, ммоль/л	1,5±0,2	1,9±0,1	2,1±0,1	2,3±0,2
Ca/P	2,2±0,3	1,5±0,1	1,3±0,1	1,2±0,1

фермента эпителиальными клетками желчевыводящих путей и желчного пузыря. Как видно из таблицы, в период исследования содержание кальция в сыворотке крови коров обеих групп вполне высокое. Как известно, кальций и фосфор являются антагонистами по отношению к транспортным каналам, обеспечивающим кишечную абсорбцию элементов [7]. Поэтому избыток кальция вызвал снижение поступления фосфатов из кишечника.

При изучении динамики амилазы обращает на себя внимание различная степень активности фермента. Так, в подопытной группе показатель увеличивается в 1,48 раза (P<0,001), а в подопытной – только в 1,19 раза (P>0,05). Как известно, прорастающие семена богаты олигосахаридами, являющимися продуктами частичного гидролиза запасного крахмала [3]. Не исключено, что в кишечнике абсорбировался в кровь и растительный фермент α-амилаза, осуществляющий этот гидролиз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая вышеизложенное, можно сделать вывод о благоприятном влиянии пророщенного ячменя на метаболический статус новотельных коров. У коров, получавших пророщенное зерно, быстрее восстанавливалась протеинограмма крови за счёт улучшения белоксинтетической функции печени, менее интенсивно выражены признаки катаболизма, характерного для данного физиологического периода. Наблюдалась оптимизация энергетического метаболизма, а также углеводного, жирового и минерального обмена.

При оценке молочной продуктивности исследуемых животных за три месяца лактации нами были получены следующие данные: среднесуточный удой коров подопытной группы составил 28,8 л, а в контрольной группе – 27,1 л, что на 5,9% больше. Таким образом, применение пророщенного ячменя позволяет получить дополнительные удои и улучшить метаболизм коровбез существенных материальных затрат. Проращивание зерна выполнимо в условиях любого хозяйства, для этого требуется только помещение с бетонным или кафельным полом, в кото-

ром возможно поддержание температурного режима в пределах 18° – 22° С. Зерно предварительно замачивается в бочке в течение суток, затем насыпается на пол слоем около 10 см и периодически переворачивается. Время проращивания составляет 3 суток, ячмень из одной партии можно скармливать в течение одного дня. Зерно готово к скармливанию, когда появляется росток длиной 0,5-1 мм. Следует отметить, что помещение для проращивания целесообразно разделить на несколько зон. Для обеспечения 100 коров пророщенным ячменём в одну партию следует закладывать порядка 50 кг зерна, каждую следующую партию закладывают ежедневно.

Effect of sprouted grains on metabolic processes cows.

A. Batrakov, T. Donskaya, N. Pylayeva, R. Vasiliev, S. Vasilieva, V. Trushkin.

ABSTRACT

The article presents the results of germinated barley in the diet of heifers. The daily feeding sprouted grains of cows immediately after calving at 0.5 kg per day for three months, it was revealed improvement in the basic metabolic processes. Monitoring of protein, carbohydrate, fat, mineral exchanges showed positive changes in experimental animals. There are increased the level of glucose, serum albumin and bilirubin levels decreased. The changes revealed the biochemical profile of blood led to the conclusions about the beneficial effect of germinated barley in the synthetic function of the liver, as well as the exchange of pigment. The milk yield of cows increased by 5.9%. The expediency of using such grain provided simplicity and low cost of preparation.

Key words: cows, lactation, metabolism, biochemical parameters, germinated barley

ЛИТЕРАТУРА

1. Алехин Ю. Н. Значение энергетического питания в обеспечении репродуктивной функции коров // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: Мат. Межд. науч.–практ. конф. -Воронеж. -2009. -С. 28-32
2. Баранников А.И., Кавардаков В.Я. Кормление крупного рогатого скота. -Ростов-на-Дону. -2008. -461с.
3. Красильникова Л.А. Биохимия растений. -Ростов-на-Дону. –2004. -224с.
4. Васильева С.В., Конопатов Ю.В. Клиническая биохимия крупного рогатого скота. – СПб. -2009. –179с.
5. Душкин Е.В. О связи между функцией молочной железы и жировой дистрофии печени у высокопродуктивных коров // Сельскохозяйственная биология. – М. – 2010. - №2. – С. 18 – 24.
6. Иевлев М.Ю.. Эффективность использования пророщенного и экструдированного зерна пшеницы, ячменя и кукурузы в кормосмесях для дойных коров // автореф. дис. ... канд. сельскохозяйственных наук. - Белгород. -2012. -19с.
7. Кудрин А.В. Иммунофармакология микроэлементов. –М. -2000. –537с.
8. Макарцев Н.Г., Топорова Л.В., Архипов А.В. Технологические основы производства и переработки продукции животноводства. – М. -2003. -808с.
9. Федин А.В. Коррекция биохимического статуса у коров с удлинённым сервис-периодом // автореф. канд. дисс. -СПб. -2012. -19с.
10. Холод В.М. Клиническая биохимия. – Витебск. -2005. – Ч.1. –187с.
11. Шабунин С.В. Системное решение проблемы сохранения воспроизводительной способности и продуктивного долголетия молочного скота // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: мат. межд.. науч.-практич. конф. - Воронеж. -2012. –С. 7–16.

УДК: 619:591.111.1

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ У КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ В РАЦИОН КОРМОВОЙ ДОБАВКИ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ

Белик С.Н.[1] – к.м.н., доцент кафедры общей гигиены, Горлов И.Ф. [2] – академик РАН, д.с.-х.н., профессор. заведующий кафедрой технологии пищевых производств; Крючкова В.В.[3] – д.т.н., доцент, проф. кафедры товароведения и товарной экспертизы; Ранделин А.В.[4] – д.с.-х.н., проф., Мосолов А.А.[4] – д.б.н., [1]Ростовский государственный медицинский университет; [2]Волгоградский государственный технический университет; [3]Донской государственный аграрный университет; [4]Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции

РЕФЕРАТ

Изучены изменения основных биохимических показателей крови у крысят-отъёмышей при введении им в рацион БВМД с низкими дозами антибактериальных препаратов. Установлено, что БВМД вызывает ряд отрицательных метаболических эффектов, подтверждающихся изменениями показателей белкового и жирового обменов. Так, в группе животных, получавших в качестве источника белка БВМД, наблюдалось снижение уровня мочевины на 37,13%, креатинина – на 3,2% по сравнению с контрольной группой. В сыворотке крови крыс этой группы содержание общих липидов оказалось на 32,5%, уровень общего холестерина – на 16,86% выше, чем в контроле. Таким образом, установлено, что использование в рационах крысят БВМД обусловило токсическую нагрузку на печень и привело к напряжению белкового обмена.

Ключевые слова: кормовые добавки, БВМД, антибактериальные препараты, биологический эффект, биохимические показатели крови, белковый обмен, липидный обмен, эндотоксикоз, безопасность, продукция животноводства.

ВВЕДЕНИЕ

Обеспечение качества и безопасности продуктов питания является приоритетной задачей государственной политики в области здорового питания, так как является одним из важнейших факторов, определяющим здоровье нации [3,4,7]. Современные технологии выращи-вания животных включают обязательное применение антибиотиков, гормонов, транквилизаторов и т.д. [8,9]. При этом их остаточные количества даже на конечных этапах технологических процессов могут оказывать эффекты метаболического воздействия [5,6]. Таким образом, актуальным становится изучение кормовых добавок и БВМД на лабораторных животных с возможным последующим выявлением аналогичных изменений у людей.

Целью наших исследований стало изучение метаболического влияния БВМД на основные биохимические показатели белкового и жирового обменов у крысят-отъёмышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовались метаболические эффекты БВМД фирмы «ПРОВИМИ» для свиней. Эксперимент проводился на 36 нелинейных белых крысах с средней

массой 52-54 г. Методом аналогов было сформировано 3 группы животных по 12 голов в каждой. В течение месяца все группы получали основной рацион, отличающийся только белковым компонентом: 1-я опытная группа – БВМД; 2-я опытная – сухое молоко; контрольная – белок куриного яйца.

По окончании эксперимента в сыворотке крови спектрофотометрически определялись концентрации общего белка (ОБ), мочевины, креатинина, общих липидов (ОЛ), триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ОХ) с использованием стандартных наборов химических реактивов. Активность аланиновой и аспарагиновой трансаминазы (АЛТ, АСТ) в сыворотке и в 10% гомогенизате печеночной ткани определяли колориметрически. Белковые фракции – методом электрофореза.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программ «Statsoft Statistica 6.0» с использованием общепринятых методов параметрической статистики. Для оценки межгрупповых различий применяли t-критерий Стьюдента. Данные различия считались достоверными при вероятности ошибки P<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение белкового спектра сыворотки крови подопытных животных показало: у крысят I группы уровень ОБ был достоверно выше в сравнении с контролем на 17,64%, что, вероятно, объясняется более низкой конверсией белка в этой группе животных. У животных II группы отмечено увеличение данного показателя на 10,82% (P<0,05).

Активность АлАТ у крыс I опытной группы была на 21,7% выше, чем в контроле(P<0,05). Это может расцениваться как показатель токсического повреждения печени, выявленного нами ранее [2], что подтверждается повышением активности АсАТ в сыворотке крови этих животных на 19,82% (P<0,05) по сравнению с контрольной группой. Несмотря на то, что активность АлАТ печени в I и II опытных группах колебалась в одинаковых пределах, значение этого показателя было статистически достоверно ниже, чем в контроле – на 21,79% и 21,37% соответственно. В тоже время активность АсАТ печени у крыс, как в I, так и во II опытных группах была достоверно выше – на 24,17% и 14,19% соответственно.

Уровень сывороточной мочевины, как основного конечного продукта обмена белков, может адекватно характеризовать пищевую ценность и безопасность рационов. В I группе животных наблюдалось снижение уровня мочевины на 37,13% (P<0,05) по сравнению с контроль-ной. При этом нами установлено снижение уровня креатинина (показателя интенсивности белкового обмена в мышечной ткани) в сыворотке крови у животных I группы на 3,2% по сравнению с контролем (P>0,05). Во II опытной группе значения данных показателей соответствовали контролю.

Анализ липидного спектра сыворотки крови I опытной группы выявил значительное увеличение содержания ОЛ – на 32,5% (P<0,05), ОХ – на 16,86% (P<0,05),.ТГ – на 96,03% (P<0,05). Во II группе наблюдалось снижение содержания ОХ на 7,23% (P<0,05) и повышение ТГ – на 25,17% (P<0,05), содержание ОЛ не имело отличий от контрольных значений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов проведенных биохимических исследований можно предположить, что использование в рационах крысят БВМД обусловило токсическую нагрузку на печень и привело к снижению белкового обмена. Выявленные нами различия в липидном спектре сыворотки крови могут служить показателем эндотоксикоза, установленного нами ранее [1] и являться прямым

подтверждением морфофункциональных нарушений в печени, вызванных биологически активными компонентами этой добавки [2]. Таким образом, можно заключючить что БВМД вызывает ряд отрицательных метаболических эффектов, что служит основанием для тщательного исследования продуктов животноводства, полученных с использованием подобных добавок, с целью предупреждения их негативного влияния на здоровье людей.

Metabolic effects in rats fed the rations with feed supplement, containing antibacterial components

S. Belik, I. Gorlov, V. Kryuchkova, A. Randelin, A. Mosolov.

ABSTRACT

The features of the changes in main blood biochemical parameters in rats weaned with the forage protein-vitamin-mineral supplements (PVMS) with low doses of antimicrobials to be intervened to their diet have been studied. It was established that the PVMS is an inadequate component of feeding the rats, as it causes a number of adverse metabolic effects confirmed by the change of the protein and fat metabolism indicators. In the group of animals treated with the PVMS as a protein source, a statistically significant reduction of urea by 37.13%, creatinine - by 3.2% as compared with the control group was observed. In the blood serum of rats consumed the PVMS as a source of protein in their diet, the total lipid proved to be higher by 32.5% than in the control group, the total cholesterol – by 16.86%. Thus, we have established that the PVMS in the diets of rats caused toxic load on the liver and lead to the protein metabolism dysfunction.

Key words: feed supplements, PVMS, antibacterial agents, biological effects, blood biochemistry, protein metabolism, lipid metabolism, endotoxemia, safety, animal products.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белик С.Н., Свечников В.С., Машдиева М.С. Использование маркеров эндогенной интоксикации на различных этапах производства животноводческой продукции // Состояние биосферы и здоровье людей. Сб. статей VIII Межд. науч.-пр. кон. -Пенза. – 2008. –С. 133–134.
2. Белик С.Н. Выявление органов-мишеней при введении в рацион лабораторных животных субтерапевтических доз антибактериальных препаратов // Актуальные вопросы морфологии. Мат. XI науч. Межвуз. кон. студ., мол. уч. и спец. с меж. уч. -Ростов-на-Дону. -2014. -С. 13–15.
3. Горлов И.Ф. Новое в производстве пищевых продуктов повышенной биологической ценности // Хранение и переработка сельхозсырья. –2005. –№3. –С. 57-59.
4. Горлов И.Ф. Разработка и широкая реализация современных технологий производства, переработки и создания отечественной конкурентоспособной продукции животноводства: монографии. -Волгоград. -2009. –121с.
5. Горлов И.Ф. Продовольственная безопасность в обеспечении качества продуктов питания: состояние и пути стабилизации // Вестник ОрелГАУ. -2009. -№2. -С. 48–54.
6. Горлов И.Ф. Новые подходы к разработке и реализации конкурентоспособных технологий производства и переработки продукции животноводства: монография. – Персиановский. -2012. -131с.
7. Горлов И.Ф. Влияние нового низкохолестеринового мясорастительного продукта на коррекцию моделированных нарушений липидного обмена у крыс // Вопросы питания. -2015. -Том 84. -№1. -С. 80-88
8. Копейкина Л.В. Исследование качества и безопасности свинины // Известия Дальневосточного федерального университета. Экономика и управление. -2005. -№2. -С. 54-60.
9. Макаренко Н. Угроза ксенобиотиков // Наука и инновации. -2010. -№ 8(90).

УДК 615.9.614.777

СОДЕРЖАНИЕ МЕТАЛЛОВ В РЫБАХ И СРЕДЕ ИХ ОБИТАНИЯ В ВЕРХОВЬЕ Р. ВОЛХОВ

Стекольников А.А.- аспирант ФГБНУ «ГосНИОРХ»
Иванов Д.И. – к.б.н., старший научный сотрудник ФГБНУ «ГосНИОРХ»
Аршаница Н.М.- к.б.н., ведущий научный сотрудник ФГБНУ «ГосНИОРХ»

РЕФЕРАТ

В статье приведены результаты сезонных химико-аналитических исследований мышечной ткани рыб, воды и донных отложений на содержание наиболее значимых в токсикологическом отношении металлов на двух акваториях верховья р.Волхов – в истоке и ниже г.В.Новгорода. В мышечной ткани рыб на обеих акваториях содержание всех металлов ниже ДОК, но на акватории ниже города оно незначительно возрастает, не достигая ДОК. В зимний период содержание металлов в воде снижается достигая максимума весной, что связано с поступлением загрязненного поверхностного стока с паводковыми водами и превышение рыбохозяйственных ПДК отмечено по алюминию, меди, марганцу, свинцу, ртути и цинку. В донных отложениях наиболее высокий уровень содержания металлов отмечен в зимний период года, снижаясь весной и повышаясь летом и осенью. Превышение ориентировочных уровней содержания отмечено по алюминию, меди, марганцу и цинку. Биотестирование проб воды и донных отложений показало, что токсичность проб в хроническом эксперименте возрастает в весенний и зимний сезоны года и снижается летом и осенью. Содержание металлов в рыбах и среде их обитания в верховье р.Волхов лимитируется их содержанием в озере Ильмень.

Ключевые слова: р.Волхов, сезоны года, металлы, рыба, вода, донные отложения, биотестирование, ПДК, ДОК, концентрация, токсичность.

ВВЕДЕНИЕ

Река Волхов вытекает из оз. Ильмень и впадает в Ладожское озеро. Ее протяженность 224 км. В течение года она выносит около 17км^3 воды, оказывая существенное влияние на гидрологический и эколого-токсикологический режимы Волховской губы Ладожского озера – одну из ценнейших в рыбохозяйственном отношении акваторий этого водоема. В нижнем течении река зарегулирована плотиной Волховской ГЭС, образуя русловое водохранилище протяженностью 43км, являясь наиболее загрязненной акваторией реки [1].

Загрязнение р.Волхов начинается с верховья реки в истоке которой расположен промышленный центр – г.В.Новгород. Так, предприятия города и области сбрасывают в водоемы (особенно в р.Волхов и Мсту) более 100 млн.м^3/год «недостаточно очищенных» сточных вод, а 2,9 млн.м^3 вообще без очистки. Предприятия В.Новгорода ежегодно выбрасывают в атмосферу более 12 тыс. тонн загрязняющих веществ разного класса опасности и типа действия, в составе которых десятки наименований загрязняющих веществ, включая металлы. Аэрогенный путь поступления загрязняющих веществ в озеро приобретает существенное значение особенно в весенний период.

В озеро Ильмень впадает несколько значительных рек таких как Мста, Ловать, Пола и Шелонь, которые совместно с другими более мелкими реками форми-

руют водный режим в озере. Особенностью этого водоема является его мелководность с коэффициентом условного водообмена 4,3 – озеро 4 раза в год меняет воду и его эколого-токсикологический режим зависит от такового речных стоков и поступления загрязняющих веществ аэрогенным путем. По данным ранее проведенных исследований в озере зафиксированы превышения общих гидрохимических показателей (БПК и ХПК), а так же превышения рыбохозяйственных ПДК по меди, марганцу и железу [2]. Эти металлы в основном природного происхождения.

Гидрологической особенностью озера является наличие мелководного бара, расположенного в истоке р.Волхов в результате образования Волховского руслового водохранилища. Как показали исследования Т.А.Асановой донные отложения на акватории бара существенно загрязнены металлами и другими токсикантами, что отрицательно сказалось на состоянии обитающих там двустворчатых моллюсков Unionidae. [3]. Аналогичная картина описана и у моллюсков из загрязненных участков морских акваторий, где у них часто встречались повреждения, характерные для токсикоза [12,13].

Исследования последних лет показали, что в среднем и нижнем течении река интенсивно загрязняется промышленными и хозбытовыми стоками, аэрогенным путем, что особенно сказывается на биоте водоема и прежде всего на рыбах, как наиболее долгоживущих и чувствительных организмах, способных накапливать патологическую информацию [4]. В результате выноса загрязняющих веществ рекой в Волховскую губу, эта акватория и в настоящее время остается одной из наиболее загрязненных в озере [5,6]. Только благодаря гидрологическим особенностям и прежде всего наличию течений Волховская губа сохраняет рыбохозяйственный статус, так как выносимые рекой загрязняющие вещества быстро распространяются по озеру, а в зимний период под влиянием антициклональной циркуляции в озере, а также стока Невы, создаются условия для транзитного поступления загрязненных вод реки Волхов к истоку р.Невы, что сказывается на эколого-токсикологическом и санитарно-гигиеническом состоянии реки, имеющей важное рыбохозяйственное значение, и как источник питьевой воды населения города [7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сезонные исследования в верховье р.Волхов были проведены в период 2013-2014гг на двух акваториях – в истоке реки выше г.В.Новгорода и ниже города. Исследовалось содержание металлов в мышечной ткани рыб и среде их обитания – воде и донных отложениях. Исследовалось содержание таких металлов, как алюминий, мышьяк, кадмий, кобальт, хром, медь, марганец, молибден, никель, свинец, селен, цинк и ртуть. Четыре из них – кадмий, свинец, мышьяк и ртуть контролируются в настоящее время в рыбах на территории Российской Федерации, хотя и другие металлы являются причиной заболевания у человека. Химико-аналитические исследования проб воды, донных отложений и рыб проводились в испытательной лаборатории продуктов питания и объектов окружающей среды «АНАЛЭКТ» (аттестат аккредитации №РОСС RU.0001, МН.38) института токсикологии Минздрава РФ методом атомно-абсорбционной спектроскопии по утвержденным методикам. За нормативы содержания металлов в воде были приняты рыбохозяйственные ПДК, в рыбах СанПиН 2.3.2.1078.01 и СаНПиН 2.3.2.560-96, а в донных отложениях ориентировочные безопасные уровни (8). Биотестирование проб воды и эллютриатов донных отложений проводилось в остром и хроническом экспериментах с учетом выживаемости и плодовитости тест-организмов (9).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Сезонное изучение содержания металлов в мышечной ткани различных видов рыб показало, что все они обнаружены но в различных количествах в зависимости от акватории, сезона их вылова и вида. В отдельных случаях их содержание было несколько выше у хищника (судака), в других у леща, ведущего придонный образ жизни. Было выявлено, что содержание металлов во все сезоны года оказалось несколько выше у рыб отловленных на акватории ниже города. Было также установлено, что независимо от сезона года, акватории отлова и вида рыб, ни в одном случае ни по одному из них не было отмечено превышение ДОК (допустимого остаточного количества). В таблице 1 показано содержание нормируемых в Российской Федерации металлов в рыбах в осенний период, когда их содержание достигало максимума.

Что касается вопроса сезонных различий содержания металлов в рыбах, то наибольшее их количество наблюдалось в осенний период, а наименьшее приходится на зиму, хотя отмечены отдельные исключения.

Постепенное нарастание содержания металлов с зимы до осени объясняется прежде всего температурозависмой активизацией метаболических процессов в организме рыб, и потреблением пищи, что направлено на быстрый рост и нагул массы [10].

Общеизвестно, что наибольшее количество металлов накапливается не в мышечной ткани рыб, а в жабрах, печени, почках и пр., что отмечено как отечественными исследователями, так и зарубежными [14].

Результаты сезонного уровня содержания металлов в рыбах несколько противоречат полученным нами результатам их содержания в среде их обитания – воде и донных отложениях. Как будет показано ниже, их максимальное содержание в воде приходится на весенний период, а в донных отложениях на зиму. Очевидно такое расхождение объясняется физиологическими особенностями рыб как холоднокровных организмов, а также особенностями их реакции на воздействие загрязняющих веществ, что зависит от ряда факторов. Проведенные на этих акваториях сезонные патологоанатомические исследования рыб показали поражение рыб токсикозом, протекающим хронически с легкими и средними повреждениями и это было связано прежде всего с концентрациями металлов и других загрязняющих веществ в воде и донных отложениях, а не в мышечной ткани рыб. Наиболее массовое поражение рыб токсикозом с выраженностью патологического процесса наблюдалось весной и зимой, когда выявлялось наиболее высокое содержание металлов в воде и донных отложениях. Токсичность среды обитания рыб именно в эти сезоны года подтвердили результаты биотестирования проб воды и элютриатов донных отложений. В летне-осенний период отмечено некоторое увеличение содержания в рыбах меди и снижение цинка. Результаты иссле-

Таблица 1

Содержание нормируемых металлов в мышечной ткани рыб в верховье р.Волхов в осенний период

Акватория отлова рыб	Виды рыб	Металлы мг/кг			
		Мышьяк	Кадмий	Свинец	Ртуть
Исток р.Волхов	Лещ	0,36	0,007	0,024	0,026
	Судак	0,41	0,006	0,026	0,018
	Плотва	0,29	0,002	0,014	0,019
Р.Волхов ниже г.В.Новгорода	Лещ	0,39	0,012	0,096	2,029
	Судак	0,35	0,011	0,052	0,034
	Плотва	0,26	0,008	0,046	0,019
ДОК, СанПин: 2.32.1078.01 2.32.560-96		1,0	0,2	1,0	0,3-0,6

дования содержания металлов в среде обитания рыб – воде и донных отложениях показали наличие всех металлов, нов различных концентрациях в зависимости от акватории отбора проб, сезона года и характера донных отложений. Наиболее высокий уровень их содержания в воде отмечен в весенний период года, а в донных отложениях зимой. Анализ полученных материалов показывает их несколько повышенное содержание в воде, так и в донных отложениях, на акватории ниже города, принимающей промышленные и хозбытовые стоки. В весенний период превышение рыбохозяйственных ПДК отмечено по алюминию до 0,26 мг/л (ПДК – 0,04), по меди до 0,012 мг/л (ПДК – 0,001), по марганцу до 0,061 мг/л (ПДК – 0,01), по свинцу до 0,0076 мг/л (ПДК – 0,006), по цинку до 0,019 мг/л (ПДК – 0,01) и по ртути до 0,000021 (ПДК 0,00001), а в донных отложениях в зимний период превышения отмечены по алюминию до 13350 мг/кг (норматив – 8000.0), по марганцу до 1250 мг/кг (норматив – 670,0), по молибдену до 0,135 (норматив 1,1), и по цинку до 108 мг/кг (норматив – 90,0).. В зимний период содержание металлов в донных отложениях возрастает, а в воде снижается. Если весной превышения ПДК были отмечены по шести металлам, а в донных отложениях по двум, то зимой повышенное содержание металлов в воде снижается до четырех, а в донных отложениях возрастает до пяти. Весеннее повышение содержания металлов в воде связано с поступлением загрязненного поверхностного стока с паводковыми водами, аэрогенным путем и талыми водами карбонатных пород на территории водосбора, обогащенных сулифицидными минералами металлов и сезонным изменением гидрологических уровней в водоеме. Касаясь вопроса содержания металлов в сезонном аспекте, то в воде их содержание снижается летом и осенью достигая минимума зимой, а в донных отложениях снижается весной и постепенно увеличивается летом и осенью достигая максимума зимой. Низкий уровень содержания металлов в воде зимой связан с прекращением их поступления аэрогенным путем ввиду ледостава, а также происходит выведение металлов из водной среды в результате отмирания и осаждения на дно представителей водной фауны и флоры.

В летний период содержание в воде некоторых металлов несколько выше, чем осенью. Выские летние температуры активизируют продукционные и деструкционные процессы в водоеме. Обилие биогенных элементов в оз.Ильмень и р.Волхов приводит в эвтрофированию в сочетании с низким уровнем воды в период летний. Процесс эвтрофирования сопровождается снижением растворенного в воде кислорода и изменением окислительно-восстановительных условий в водоеме, вследствие чего происходит высвобождение металлов из донных отложений в водную среду. Анализируя уровень содержания металлов в воде и донных отложениях следует отметить невысокий уровень их содержания и незначительные превышения норматива некоторых из них, учитывая и то, что ряд металлов, особенно железо, марганец и медь имеют в основном природное происхождение.

Для общей оценки токсичности проб воды и донных отложений было проведено их биотестирование в остром и хроническом экспериментах. Острой токсичности выявлено не было.

В сезонных хронических экспериментах токсичность была выявлена в весенних и зимних пробах, а летом и осенью она выявлялась только в пробах донных отложений по плодовитости тест-организмов. Необходимо отметить, что биотестирование выявляет суммарную токсичность не только металлов, но и других загрязняющих веществ. Результаты биотестирования согласуются с мате-

риалами биоиндикации на рыбах и моллюсках [11.3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных сезонных химико-аналитических исследований по изучению содержания металлов в мышечной ткани рыб и среде их обитания на двух акваториях верховья р.Волхов (выше и ниже г.В.Новгорода) показали, что все исследованные металлы обнаружены в рыбах, воде и донных отложениях в различных количествах в зависимости от акватории и сезона года. Показано, что мышечная ткань рыб независимо от вида, акватории их отлова и сезона года не содержит металлы выше ДОК. Некоторое нарастание содержания металлов в рыбах и среде их обитания было отмечено на акватории ниже города, что является следствием воздействия промышленных и бытовых сточных вод города. Повышение содержания металлов в рыбах происходило с весны до осени, несколько снижаясь в зимний период. Незначительные превышения металлов в воде (выше ПДК) отмечено по алюминию, меди, марганцу, ртути, свинцу и цинку. Наиболее высокий уровень их содержания отмечен весной, постепенно снижаясь и достигая минимума зимой. В донных отложениях их содержание достигает максимума в зимний период. Превышение ориентировочных уровней содержания металлов в донных отложениях отмечено по алюминию, марганцу, меди и цинку. Отмеченные уровни содержания металлов в воде и донных отложениях невысокие, учитывая что некоторые металлы имеют природное происхождение.

Биотестирование проб воды и элютриатов донных отложений выявило их токсичность в хроническом эксперименте в весенний и зимний сезоны года. Биоиндикация на рыбах и моллюсках как и биотестирование отразили хроническое воздействие на водные организмы не только суммарное воздействие металлов, но и других загрязняющих веществ. Содержание металлов в рыбах и среде их обитания в верховье р.Волхов связано с их содержанием в озере Ильмень. Полученные результаты биологических и химико-аналитических исследований показывают невысокий уровень загрязнения металлами озера Ильмень и верховья р.Волхов, который постепенно усиливается, вниз по течению, особенно ниже г.Кириши, достигая максимума на акватории верхнего бьефа Волховского руслового водохранилища.

The content of metals in fishes and the environment of their dwelling in an upper course of the Volkhov River.

A. Stekolnikov, D. Ivanov, N. Arshanitsa.

ABSTRACT

Indifferent seasons 2013-2014 the investigation son determination of thirteen metal sin fish and their habitat in the Upper Volkhov have been conducted in two water areas – above the city of Veliky Novgorod in headwaters and below the city.

It has been shown that there are all the investigated metals in muscular tissue of fish, in water and bottom sediments. The metal contentin muscular tissue of fish irrespective of fish species, fishing area and year season is significantly lower than Permissible Residual Quantity. Their content in fish and their habitats lightly increase sin water area below the city due to influence of waste water. The inessentialin crease of Maximum Permissible Concentration of aluminium, cuprum, manganese, quick silver, zink and lead is observed in water. In bottom sediments the content of aluminium, manganese, cuprum and zink is slightly increased in winter. The metal content in fish and their habitat in water areas of the Upper Volkhov is limited by their content in Lake Ilmen, where the level of metal pollution is rather low considering even the fact, that several metals are mostly natural. The biotests of water samples and water extracts from bot-

tom sediments have shown their toxicity in spring and winter that decreases in summer and autumn. It istelling that biological water quality control methods in thein vestigated water areas (biotesting and bioindication on fish and mollusks) have shown chronic toxi city reflecting the combined action of metals and other contaminants.

Keywords: Volkhov River, seasons of year, metals, fish, water, ground deposits, biotesting, maximum concentration limit, DOCK, concentration, toxicity.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федорова Г.В., Аршаница Н.М. Действие антропогенных факторов на разные звенья экосистемы бассейна Ладожского озера // Сб. научн. тр. ГосНИОРХ. -Л. - 1988. – Вып. 258. –С.3-11.
2. Кузьмина И.А., Кузнецова О.В. Анализ результатов гидро- и геохимического мониторинга озера Ильмень // Вестник Новгородского Государственного университета. -2014. –№76. –С. 69-73.
3. Асанова Т.А., Аршаница Н.М. Результаты гистопатологического и химического обследования пищеварительной железы моллюсков сем. Unionidae из оз.Ильмень и р.Волхов, возможность их использования в биологической оценке качества вод // Вопросы нормативно- правового регулирования в ветеринарии. – 2015. - №1. –С. 178-182.
4. Стекольников А.А. Особенности сезонного эколого-токсикологического состояния реки Волхов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.– 2014. -№3. –С. 236-241.
5. Румянцев В.А., Драбкова В.Г. Формирование качества воды Ладожского озера в современных условиях, как основа его природных ресурсов // Сб. научн. тр. – СПб. -2007. –Вып. 337. –С.472-482.
6. Гребцов М.Р. Эколого-токсикологическое состояние Волховской губы Ладожского озера // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. –2014. -№3. –С.229-235.
7. Кондратьев С.А. и др. Формирование качества воды в системе Ладожское озеро – река Нева – Невская губа восточной части Финского залива. Финский залив в системе Северо-Запада России. -СПб. - 2012. -5с.
8. Бреховских В.Ф., Казмирук Т.Н., Казмирук В.Д. Донные отложения Ивановского водохранилища (Состояние, состав, свойства). -Москва. -2006. –276с.
9. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР.1.39.2007.03222. – М.: Акваросс. - 2007. –51с.
10. Сторожук А.Я., Никоненко Е.М. Сезонная динамика содержания некоторых микроэлементов у сайры // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. – 1978. -№12. –С.84-88.
11. Стекольников А.А., Аршаница Н.М. Особенности поражения рыб токсикозом в верховье р.Волхов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. -СПб. -2015. –№1. –С.119-120.
12. Alouso A., Suarez P., Alvarez C., Dan Juan F., Molist P. Structual study of a possible neoplasia detected in Mytilusqalloprovincialis collected from the Ria of Vigo (NW Spain) // Dis.Aguat.Org. -2001. -Vol. 47. –С. 73-79.
13. Bradley R., Morris J. Heavy metals in fish from a series of metalcontaminated lakes near Sudbury, Ontario // Water, Air and Soil Pollution. -1986. -№27. -P. 341-354.
14. Carolyns, Friedman, Heather M, Brown, Timothy W. Eving and ect. Pilot study of the Olympia oyster Ostreaconchaphila in the San Francisco Bay estuary: description and distribution of disease // Dis. Aguat. Org. – 2005. -Vol.65. –С. 1-8.

БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК619: 31

ПРИМЕНЕНИЕ СТАТИСТИКИ В ДИССЕРТАЦИЯХ ПО ВЕТЕРИНАРИИ

Ковалёнок Ю.К.[1] - д.вет.н., профессор, Курдеко А.П.[1] - д.вет.н., профессор,
Карпенко Л.Ю.[2] - д.вет.н., профессор,
[1] – Витебская государственная академия ветеринарной медицины,
[2] – Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

РЕФЕРАТ

Анализировалась адекватность применения статистических методов в 330 авторефератах диссертаций на соискание ученой степени кандидата (доктора) ветеринарных наук, выполненных и защищенных в период с 1948 по 2014 годы. В 118 диссертациях (35,8 %) статистическая обработка результатов исследований не проводилась, а в 64,2% работ использованы только: «M», «m», «P». Поиск корреляционных связей проводился только в 8,5 % диссертаций, и в единичных работах (по 2,8 %) выполнен регрессионный и дисперсионный анализ данных.Такой арсенал статистической методологии скуден и не отвечает общепринятым международным стандартам.

Ключевые слова: статистика, авторефераты диссертаций, t-критерий.

ВВЕДЕНИЕ

Эксперименты в различных науках – физике, химии, биологии, медицине и других, в том числе ветеринарии, – обладают тем общим свойством, что на их результат влияют не только регулируемые экспериментатором факторы, но еще и большое число случайных событий. Для биологических экспериментов это особенно актуально, поскольку для получения корректных выводов исследования необходимо учитывать неопределенность многих физиологических характеристик и реакций организма на что-то испытываемое.Задача учёного –увидеть за случайными колебаниями действие причинного закона. Применяемые при этом приёмы могут быть общими для различных наук. В силу неопределенности и вероятности протекания физиологических и патологических процессов в организме наиболее приемлемым средством анализа полученных результатов является статистика. Именно статистика всё больше выступает в роли инструмента накопления информации в форме нового знания, которое является конечным продуктом любой науки.

Известное выражение английского философа, историка и политического деятеля Френсиса Бекона гласит о том, что знание есть сила [6].Ошибочное же знание есть не что иное, как дезинформация, ведущая общество к заблуждению. Конечным звеном цепочки «исследование – публикация – практика» является потребитель предлагаемого продукта. Потребитель и обладает правом потребовать компенсацию за введение его в заблуждение.

Хотелось бы обратить внимание читателя на значимые различия понятий «информация» и «знание». Современный исследователь находится в условиях оби-

лия информации. Так, глобализация информационного пространства дает возможность получать интересующие сведения из разноплановых электронных ресурсов, а исследовательское оборудование – информацию о десятках, а иногда и сотнях показателей изучаемого образца. Информация, как таковая, даёт ответы лишь на такие вопросы, как: «Что?», «Кто?», «Когда?», «Где?». Знания же являются переработанной информацией, они отражают связи между явлениями отвечают на вопросы: «Как?», «Почему?», «Что будет, если…?». Таким образом, знание есть продукт концентрации информации.

В свете изложенного, выяснение уровня использования статистики как инструмента получения знаний в области экспериментальной ветеринарии, представляется значимым, что и определило цель настоящей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования нами использованы авторефераты диссертаций на соискание ученой степени кандидата или доктора ветеринарных наук, депонированные в библиотеке УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Диссертации выполнены и представлены в советы по защите, созданные при учреждениях республик бывшего Советского Союза, стран Содружества Независимых Государств, в период с 1948 по 2014годы. Методом случайной выборки из 6543 авторефератов было отобрано по 50, выполненных в следующие годы: 1948 – 1957, 1958 – 1967, 1968 – 1977, 1978 – 1987, 1988 – 1997, 1998 – 2007. В период с 2008 по 2014 годы анализу подвергнуто 30 авторефератов диссертаций. Таким образом, их общее число составило 330, из которых 307 – на соискание ученой степени кандидата и 23– доктора ветеринарных наук. Необходимо отметить, что изученные авторефераты относились к различным научным специальностям отрасли ветеринарных наук. --При оценке авторефератов диссертаций учтены исторические аспекты использования статистических методов, количество, частота применения и корректность их описания.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования показали, что в 118 из 330 авторефератах диссертаций, выполненных в основном с 1948 по 1960 годы, статистический анализ полученных результатов как таковой отсутствует (таблица). Использовано также процентное выражение распространения проблемы, смертности, смертельности животных и так далее.

Первые работы, в которых присутствует статистическая обработка цифрового материала, выполнены в 1961 – 1962 годах [2].

В 35,8 % работ исследователи оперируют такими категориями, как вариабельность показателя от n_1 до n_2и его изменениями под влиянием неких факторов до n_3.

Следует отметить, что в авторефератах диссертаций тех лет только в единичных случаях указывается на использование простейших статистических методов для характеристики дел в исследуемой области и нигде нет описания этих методов. Начиная с 1968 – 1969 годов информация о статистической обработке данных присутствует в 75 – 89% авторефератов, а с 1978 года – в 100% работ. При этом статистическим арсеналом исследователей тех лет является исключительно триада: «M», «m», «P».

Интенсивное развитие научно-технического прогресса в 80-е – 90-е годы прошлого века потребовало активного внедрения в отечественную науку новых методов, инструментов, оборудования, компьютерной техники, технологий статистического анализа данных. Казалось бы, по мере усложнения экспериментальных моделей и биометрических инстру-

Таблица 1

Частота использования статистических методов и критериев в авторефератах диссертаций

Показатель	M± m	“P< …”	t-критерий Стьюдента	Корреляционный анализ	Регрессионный анализ	Дисперсионный анализ (Anova)	Прочие методы (7)	Отсутствие статобработки
Абсолютная частота	212	173	157	18	6	6	13	118
Процент от общего числа авторефератов	64,2	52,4	47,6	5,5	1,8	1,8	3,9	35,8
Процент от статобработанных авторефератов	100	81,6	74,1	8,5	2,8	2,8	6,1	X

ментов должна совершенствоваться и доказательная база выводов по результатам исследований. Однако в ветеринарной науке этого не произошло.

В 212 авторефератах использованы только 13 статистических методов и критериев, тогда как в биологической и медицинской науках их постоянно используется более 100. В основном применен расчет M±m (100,0 %), P (81,6 %), t-критерий Стьюдента (74,1 %). При этом существует весьма значительный разрыв, на несколько порядков, между частотой использования вышеназванных трех и остальных, более информативных, статистических методов. Это касается, прежде всего, методов, позволяющих выявить корреляционные связи в исследуемых системах, что существенно уменьшает возможности получения истинного понимания зависимостей. Обращает на себя внимание и тот факт, что отечественными ветеринарными исследователями вообще не используются многомерные статистические анализы, в то время как в мировой медицинской науке общеприняты более 10 таких методик [5]. В авторефератах диссертаций выбор того или иного статистического метода никак не обосновывается.

В 74,1 % работ, содержащих биометрический анализ данных, в качестве критерия оценки значимости различий того или иного показателя использован критерий Стьюдента. Теме всеобщей «стъюдентизации» посвящен целый ряд авторитетных публикаций [1, 3, 5,7 и многие другие]. Хотим подчеркнуть, что использование данного критерия допустимо только при определенных условиях, которые в биологических экспериментах выполняются только в 4 – 5 % случаев [3].

Из рассмотренных 157 работ, в которых был применен критерий Стьюдента, ни в одной нет упоминаний о выполнении вышеупомянутых условий. Более того, личный опыт авторов, регулярное общение с учеными, представляющими результаты своих опытов на конференциях, во время защит диссертаций показывает, что подавляющее большинство исследователей, применяющих t-критерий, понятия не имеют о чем собственно идет речь, о каких условиях использования критерия его спрашивают.

Не корректное использование t-критерия Стьюдента в подавляющем большинстве научных работ ветеринарного профиля вот уже в течение более 50-ти лет указывает на отсутствие у диссертантов необходимых знаний относительно ограничений, присущих данному критерию. Этим авторам также неизвестны

какие-либо альтернативы данному критерию и они не в состоянии ими самостоятельно воспользоваться. Это приводит к ошибочной констатации значимости тех или иных различий, построению на этой основе неверных выводов и рекомендаций [3 – 5].

Почему сложилась такая ситуация с применением статистических методов в ветеринарных науках? На наш взгляд истоков у данной проблемы несколько. Главный из них, это историческое понимание, а скорое всего – непонимание, возможности использования тех или иных методов в науке. После печально известной августовской сессии ВАСХНИЛ 1948 года наряду с генетикой в опалу попала и статистика. Ученые, работающие в те годы в области биологии, медицины, ветеринарии опасались использовать статистические методы, поскольку за это следовало наказание. Могли обвинить в преклонении перед западной наукой и космополитизме, объявить партийное взыскание вплоть до исключения из Коммунистической партии, отказывать в присуждении ученых степеней.

Главной исторической личностью разгрома использования математических методов в биологии является Т.Д. Лысенко, который с 1938 по 1956, а затем в 1961 – 1962 года возглавлял ВАСХНИЛ и определял курс советской науки, определенный и одобренный Коммунистической партией Советского Союза. Этот курс по большинству направлений существенно различался с таковым в науке и хозяйственной практике других стран, развивавшихся не по социалистическому пути. В задачи данной публикации не входит детальный исторический анализ изгнания статистики из методологии отечественной биологии и медицины, такая работа весьма детально проделана многими учеными, в том числе В.П. Леоновым в фундаментальной статье «Долгое прощание с лысенковщиной» [4]. Остановимся лишь на констатации результата: отечественная биологическая наука в целом, медицина и ветеринария в частности, были ввергнуты в 40-е – 60-е годы прошлого века в методологический кризис в результате ограничения, вплоть до запрещения к использованию, статистических методов.

Резонно отметить, что обсуждаемый исторический этап – это годы творческого роста и развития ученых, которые закладывали существующий на то время методологический базис в нынешних корифеев науки – научных руководителей, членов советов по защите диссертаций, экспертов ВАК и т.п. Минимизация статистических методов до уровня «M±m, P» считалась достаточной нормой для кандидатских и даже докторских диссертаций, что передавалось и передается из поколения в поколение ученых до настоящего времени. Это, а также фактическое отсутствие уже в течение многих десятилетий в ветеринарных вузах подготовки врачей в области прикладной статистики, привело к тому, что спустя почти 70-ти (!) лет положение дел в ветеринарных науках не претерпело существенных изменений. Из года в год возрастает количество разработок, технологий, ветеринарных препаратов и т.д., проходящих под грифом «научно-обоснованных», а фактически такими они не являются из-за низкой их точности. А ведь именно точность результатов исследований являются главными составляющими научного знания.

Без обязательного и разнопланового применения статистических методов при анализе результатов ветеринарных исследований обойтись в современной науке просто невозможно. Это позволит не увеличивать объем экспериментальных данных, а извлекать в разы больше информации из тщательно спланированных и математически выверенных опытов, что оправдано также и с экономической точки зрения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные свидетельствуют о том, что арсенал статистической методологии научных исследований в области ветеринарной медицины крайне скуден и не отвечает стандартам, принятым в большинстве развитых стран мира. Для преодоления этого методологического кризиса целесообразно обсудить проблему с привлечением ведущих ученых ветеринарного профиля стран СНГ или ЕАЭС на одном из научных мероприятий. Результатом такого собрания может стать комплекс мер по унификации применения и развития, вплоть до стандартизации статистических методов в ветеринарных исследованиях.

Statistics in scientific works veterinary profile

Y. Kavalionak, A. Kurdeko, L. Karpenko.

ABSTRACT

Adequacy of the statistic methods application in 330 dissertations' abstracts in veterinary science which were carried out and defended from 1948 to 2014 has been analyzed. In 118 dissertations (35,8%) statistical management of the research results hasn't been done and in 64,2% dissertations only «M», «m», «P» have been used. The correlation relations search has been carried out only for 8,5% dissertations and in few cases (2,8%) regression and dispersions data analysis has been done. This arsenal of the statistic methodology is poor and not in compliance with the International standards.

Key words: statistics, dissertation abstracts, t-criterion.

ЛИТЕРАТУРА

1. Власов В.В. Эпидемиология: учеб. пос. для вузов. –Москва. -2004. –464с.
2. Лабзина А.Т. Венозное давление у крупного рогатого скота и его значение в клинике внутренних заболеваний : автореф. дис. … докт. вет. наук. – Ульяновск. -1961. –23с.
3. Леонов В.П. Доказательная или сомнительная? Медицинская наука Кузбасса: статистические аспекты. Статистическая вампукизация, она же всеобщая стьюдентизация [Электронный ресурс]
4. Леонов В.П. Долгое прощание с лысенковщиной [Электронный ресурс].
5. Леонов В.П. Применение статистики в статьях и диссертациях по медицине и биологии. Часть IV. Наукометрия статистической парадигмы экспериментальной медицины // Международный ж.-л. медицинской практики. – 2002. –№3. –С. 6-11.
6. Русская историческая библиотека. Философия Фрэнсиса Бекона [Электронный ресурс].
7. Фадеев В.В. Доказательная медицина и отечественная медицинская наука. [Электронный ресурс].

УДК: [616-005.1-08:331.1]:615.22

ТРОМБОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ У ТЕЛОК НА ДОРАЩИВАНИИ

Завалишина С.Ю. – к.б.н., доцент кафедры адаптивной физической культуры и медико-биологических наук, Курского института социального образования (филиал) Российского государственного социального университета.

РЕФЕРАТ

У телок в течение доращивания отмечена тенденция к ослаблению интенсивности перекисного окисления липидов к повышению активности антиоксидантной защиты тромбоцитов, усилению актино-миозинового механизма при высоком количественном содержании в них аденозинфосфатов и выра-

женной их секреции в процессе активации и агрегации. Это сочеталось у наблюдаемых телок с тенденцией к повышению функциональной активности тромбоцитов, регистрируемой in vitro и in vivo. Вероятно, легкое повышение активности тромбоцитов у телок на доращивании связана с созреванием рецепторных и пострецепторных механизмов кровяных пластинок, определяющих функциональную готовность тромбоцитов в ответ на неизбежное нарастание средовых влияний на организм животного.

Ключевые слова: телки, доращивание, тромбоциты, агрегация, секреция.

ВВЕДЕНИЕ

Процесс онтогенеза продуктивных животных неизбежно сопровождается закономерной морфофункциональной динамикой всех систем их организма, в т.ч. крови [3,4]. В настоящее время достигнуто понимание большого значения системы гемостаза в нормальном формировании адаптивных возможностей организма [5,11]. При этом, важную роль в создании оптимальных условий для микроциркуляции, необходимой для роста, развития и максимально возможного проявления в фенотипе продуктивных свойств животных, играют кровяные пластинки за счет их особенности к агрегации, оказывающей влияние на текучесть крови и, тем самым, на ее приток к тканям [6].

Осеменению как правило у телок предшествует период доращивания, в течение которого происходит окончательное созревание всех их органов и систем и завершается рост животного [3]. При этом, не смотря на значимость временного промежутка в развитии животного остается весьма недостаточно исследованной у них агрегационная способность тромбоцитов. Учитывая это, была намечена цель данного исследования – выяснить особенности активности тромбоцитов у здоровых телок на доращивании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдение взяты 42 телки, находящиеся на доращивании, состояние которых учитывалось в возрасте около 12 мес., около 13 мес., около 14 мес. и около 15 мес. жизни. У всех животных тромбоциты отмывали и ресуспендировали с последующей оценкой в них уровня малонового диальдегида (МДА) и ацилгидроперекисей (АГП) [1]. Оценивались функциональные возможности внутритромбоцитарных ферментов антиокисления – каталазы и супероксиддисмутазы (СОД)[12]. В тромбоцитах выявляли содержание аденозинтрифосфата (АТФ) и аденозиндифосфата (АДФ) с оценкой величины их секреции под влиянием коллагена [2]. Белковый состав цитоскелета кровяных пластинок (актин и миозин) устанавливали в условиях активации и агрегации тромбоцитов с АДФ и тромбином [2]. Агрегация тромбоцитов (АТ) регистрировалась визуальным микромето-дом [8] с: АДФ ($0,5\times10^{-4}$ М), коллагеном (разведение 1:2 основной суспензии), тромбином (0,125 ед/мл), ристомицином (0,8 мг/мл), H_2O_2 ($7,3\times 10^{-3}$ М), адреналином ($5'10^{-6}$ М) и их сочетаниями (АДФ и адреналин; АДФ и коллаген; адреналин и коллаген; АДФ и тромбин; АДФ, коллаген и адреналин; АДФ, тромбин и адреналин; АДФ, коллаген, тромбин и адреналин). Внутрисосудистую актив-ность тромбоцитов (ВАТ) устанавливали с фазовоконтрастным методом [8]. Статистический обсчет результатов велся t-критерием Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Все телки в течение исследования были здоровы.

Содержание АГП в кровяных пластинках телок в возрасте около 12 мес. составило 2,7±0,20 $D_{233}/10^9$тр., испытывая в течение наблюдения легкую тенденцию к снижению, составив в 15 мес. жизни

2,6±0,2 $D_{233}/10^9$тр. Количество МДА в их тромбоцитах в 12 мес. жизни было 0,8±0,1 нмоль/10^9тр., также испытывая легкую тенденцию к уменьшению в течение наблюдения (в 15 мес. жизни 0,7±0,0 нмоль/10^9тр).

Активности каталазы и СОД тромбоцитов у наблюдаемых животных постепенно возрастали за время наблюдения с 10120,2±9,9 МЕ/10^9тр. до 10380,0±8,1 МЕ/10^9тр. и с 1910,2±3,1 МЕ/10^9тр. до 2052,4±2,7 МЕ/10^9тр., соответственно.

В течение срока наблюдения содержание АТФ и АДФ в тромбоцитах здоровых телок испытывало легкую тенденцию к нарастанию с 5,8±0,2 мкмоль/10^9 тр. до 5,9±0,2 мкмоль/10^9 тр. и с 3,6±0,1 мкмоль/10^9 тр. до 3,7±0,1 мкмоль/10^9 тр., соответственно). Выраженность секреции АТФ и АДФ под действием коллагена у них из тромбоцитов оставалось без динамики.

Количество актина в интактных тромбоцитах у здоровых 12 мес. телок соответствовало 37,1±0,2% к общему белку в тромбоците, составляя к 15 мес. жизни 37,9±0,1% к общему белку в тромбоците. Выраженность дополнительного образования актина у телок при активации кровяных пластинок сильным или слабым индуктором и при их агрегации также испытывал легкую тенденцию к повышению.

Сходная динамика активности в тромбоцитах наблюдаемых телок выявлена и для миозинового механизма. Отмечено, что в неактивированных кровяных пластинках телок около 12 мес. жизни количество миозина достигает 17,3±0,1% к общему содержанию белка в тромбоците, испытывая тенденцию к росту в последующем и составляя в 15 мес. жизни 18,4±0,1% к общему содержанию белка в тромбоците. На фоне активации и агрегации тромбоцитов сильным или слабым индукторами у здоровых телок в течение всего доращивания отмечена легкая тенденция к увеличению выраженности дополнительной самосборки миозина.

У наблюдаемых телок, начиная с 12 месячного возраста, отмечена небольшая тенденция к сокращению времени развития АТ со всеми примененными индукторами и их сочетаниями.

АТ в ответ на коллаген развивалась в начале наблюдения за 23,7±0,2 с, немного ускоряясь к его концу. Тенденция к сокращению времени развития АТ у наблюдаемых животных отмечено также под влиянием АДФ и ристомицина. Немного более замедленно АТ возникала с H_2O_2, тромбином и адреналином, время развития которых также имело тенденцию к сокращению за доращивание. Найденная тенденция к ускорению АТ у телок на доращивании при оценке АТ с одним индуктором согласовалось с установленным фактом ускорения АТ при ее определении в условиях применения двух или трех агонистов одновременно.

Найденная при оценке in vitro возрастная динамика активности тромбоцитов подтверждалась результатами исследования ВАТ. Так, число дискоцитов в крови у телок в 12 мес. жизни составляло 71,0±0,2%, постепенно испытывая легкую тенденцию к снижению до конца наблюдения (в 15 мес. 70,1±0,3%). Суммарное содержание активных форм тромбоцитов постепенно повышалось за время наблюдения всего на 13,0%. В крови телок за время наблюдения число свободноперемещающихся малых и больших агрегатов тромбоцитов постепенно увеличивалось с 5,8±0,1 и 0,2±0,1 на 100 свободно лежащих тромбоцитов в начале наблюдения до 6,5±0,2 и 0,3±0,0 на 100 свободно лежащих тромбоцитов в его конце, соответственно. Количество включенных в агрегаты тромбоцитов у телок в течение наблюдения возросло на 8,8%.

Процесс оптимального функционирования организма возможен при адекватном притоке питательных веществ и кислорода к тканям, что во многом связано с оптимальностью реологических свойств клеток крови, неизбежно меняющихся в течение онтогенеза [10]. Важную роль в адекватной реологии крови у животных играет активность тромбоцитов, также испытывающая онтогенетическую динамику [3,9].

В настоящей работе выявлено, что для здоровых телок на доращивании постепенно усиливается антиоксидантная защищенность тромбоцитов, эффективно контролирующая в них ПОЛ. Низкая активность свободнорадикальных процессов во время доращивания у телок во многом обеспечивает выявленную у них оптимальное функционирование механизмов активации кровяных пластинок с 12 по 15 мес. жизни, в т.ч. оптимальность процесса самосборки актино-миозинового комплекса и количественного содержания в тромбоцитах и секреции из них АДФ и АТФ.

Ускорение в течение срока наблюдения АТ с сильными индукторами агрегации – коллагеном и тромбином указывало на активизацию в них фосфолипазы С, обеспечивающей фосфоинозитольный путь стимуляции тромбоцитов через повышение количества диацилглицерола и протеинкиназы С с интенсификацией самосборки актина и миозина в кровяных пластинках. Сокращение времени АТ со слабыми индукторами агрегации – АДФ и адреналином указывало на повышение доступности рецепторов к ним и/или увеличение их числа на поверхности тромбоцитов при активизации экспрессии фибриногеновых рецепторов (GPIIв-IIIa) и повышении функциональных возможностей фосфолипазы A_2, обеспечивающей выщепление арахидоновой кислоты из мембран кровяных плас-тинок для синтеза тромбоксана A_2. Выявленное легкое ускорение АТ в ответ на одновременное применение двух или трех индукторов указывало у телок на доращивании на возрастную тенденцию к усилению их взаимоусиливающих влияний на тромбоциты, моделируя реальные условия in vivo [7]. Найденная наклонность к увеличению ВАТ в течение доращивания у телок указывало также на усиление экспрессии на их мембранах фибриногеновых рецепторов (GPIIв–IIIa), подтверждая повышение сенситивности их поверхностных рецепторов к облигатно присутствующим в крови индукторам агрегации (АДФ, тромбин, адреналин) и активизацию интратромбоцитарных механизмов агрегации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В течение доращивания у телок отмечается тенденция к повышению способности тромбоцитов к агрегации, величина суммы их активированных форм и свободно перемещающихся по крови агрегатов всех размеров, являясь следствием взаимодействия средовых влияний на организм с его адаптивными реакциями.

Platelet activity in heifers at growing.
S. Zavalishina.

ABSTRACT

Heifers for rearing tended to weaken the intensity of lipid peroxidation to increase the activity of antioxidant protection platelet actin-myosin strengthening mechanism at high quantitative content of adenosine in them and expressed their secretion in the process of activation and aggregation. This combined with the heifers have observed a tendency to increase the functional activity of platelets, recorded in vitro and in vivo. Perhaps a slight increase in platelet activity in heifers rearing associated with the maturation of the receptor and platelet postreceptor mechanisms that determine the functional readiness of platelets in response to an inevitable increase in environmental influences on the body of the animal.

Key words: chicks, rearing, platelet ag-

gregation, secretion.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. – 1983. -№3. -С. 33-36.
2. Ермолаева Т.А, Головина О.Г., Морозова Т.В. Программа клинико-лабораторного обследования больных тромбоцитопатиями. -СПб. -1992. -25с.
3. Завалишина С.Ю., Медведев И.Н. Функциональные свойства тромбоцитов у молодняка крупного рогатого скота в возрасте от 3 до 12 месяцев // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. -2013. -№2. -С. 61-66.
4. Медведев И.Н., Белова Т.А. Активация первичного гемостаза у новорожденных телят с функциональными нарушениями пищеварения // Medline.ru. -2008. -Т.9. -№1. -С. 394-401.
5. Медведев И.Н., Белова Т.А. Высокоэффективная коррекция тромбоцитарных нарушений у новорожденных телят с функциональными нарушениями пищеварения // Medline.ru. -2008. -Т.9. -№1. -С. 381-386.
6. Медведев И.Н., Громнацкий Н.И., Шумакова А.В., Новикова Н.В. Тромбоцитарная дисфункция у больных артериальной гипертонией с метаболическим синдромом // Поллиативная медицина и реабилитация. -2004. -№1. -С. 33-33.
7. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Киперман Я.В., Карцева Т.И. Дисфункции гемостаза у новорожденных телят с анемией // Аграрная наука. -2008. -№4. -С. 23-25.
8. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях // Российский кардиологический журнал. -2009. -№5. -С. 42-45.
9. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г., Белова Т.А. Воздействие сорбента «Экос» на тромбоцитарные дисфункции у новорожденных телят с функциональными нарушениями пищеварения // Технологии живых систем. -2009. -Т.6. -№4. -С. 77-80.
10. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г. Оптимизация системы гемостаза у поросят в фазу молочного питания с анемией // Технологии живых систем. -2009. -Т.6. -№6. –С.41-49.
11. Медведев И.Н., Парахневич А.В. Агрегация и цитопрхитектоника эритроцитов у поросят, потребляющих растительные корма, в экологических условиях центральной России // Сельскохозяйственная биология. -2013. -№4. -С. 110-114.
12. Чевари С., Андял Т., Штренгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело. -1991. -№10. -С. 9-13.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 591.8+619

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ С-КЛЕТОК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЖИВОТНЫХ

Мужикян А.А. - м.н.с.
Санкт-Петербургский институт фармации

РЕФЕРАТ

Иммуногистохимические методы исследования органов и тканей животных, используемые для решения диагностических и экспериментальных задач, получили за последние годы широкое распространение главным образом за счет избирательности и высокой чувствительности используемых маркеров. Данные методы актуальны и наиболее информативны также в исследованиях морфологии нейроэндокринных клеток, принадлежащих к APUD-системе. На сегодняшний день особый научно-практический интерес представляет изучение С-клеток щитовидной железы, отличающихся от тироцитов морфологией, происхождением и выполняемыми ими в тироидной ткани функциями. Применяемые для выявления С-клеток щитовидной железы кальцитонин, нейронспецифическая енолаза, синаптофизин и хромогранин А являются наиболее чувствительными высокоселективными маркерами С-клеток и позволяют определить локализацию, морфологическое и функциональное состояние, а также гормонопродуцирующую активность интерфолликулярных клеток щитовидной железы животных в норме и патологии. Последовательное применение данных маркеров при изучении одного и того же материала дает возможность оценить состояние С-клеточной популяции в ткани щитовидной железы, изучить особенности межтканевых взаимоотношений, а также определить количественные и качественные показатели, характеризующие функциональное состояние С-клеток щитовидной железы животных.

Ключевые слова: С-клетки, кальцитонин, нейронспецифическая енолаза, синаптофизин, хромогранин А.

Изучение морфологии С-клеток щитовидной железы (ЩЖ) животных представляет на сегодняшний день высокий научно-практический интерес. Согласно литературным данным, С-клетки отличаются от тироцитов формой, величиной и расположением. Они крупнее тироцитов, форма клеток полигональная или веретенообразная, цитоплазма светлая, ядро округлое, светлое, в 1,5-2 раза крупнее, чем у фолликулярных клеток, с небольшим количеством гетерохроматина [15]. С-клетки играют ключевую роль в поддержании кальциевого гомеостаза [16]. Известно, что основная функция С-клеток сопряжена с секрецией кальцитонина, серотонина и других биогенных аминов [17]. Описано также паракринное влияние гормонов С-клеток в отношении фолликулярных эпителиоцитов [18].

Интерфолликулярные клетки являются частью APUD-системы (особой высокоорганизованной диффузной системы клеток, функцией которой является выработка биогенных аминов и пептидных гормонов), в связи с чем, могут стано-

виться причиной медуллярного рака щитовидной железы (МРЩЖ) [8, 2], описанного исследователями также у домашних животных [43, 46, 53], в том числе у собак [38, 45] и кошек [39].

Остаются до конца неясными и источники происхождения С-клеток и механизмы распределения С-клеточной популяции в тиреоидной ткани [44, 52]. В связи с этим возрастает актуальность изучения вопросов морфологии и гистогенеза С-клеток щитовидной железы животных с применением современных высокоспецифичных методов гистологической обработки материала.

Среди гистохимических методов выявления и морфофункционального анализа клеток, экспрессирующих нейроиммуноэндокринные сигнальные маркеры, к которым, согласно современным представлениям, относят и С-клетки ЩЖ, наиболее часто применяют аргирофильные реакции по Гримелиусу, Севьеру-Мунгеру, Дэвенпорту, дающие хорошо воспроизводимые результаты и позволяющие проводить количественные исследования для изучения поведения эндокринных клеток при патологических состояниях [20].

Описаны флюоресцентные методы выявления С-клеток, основанные на способности локализованных в везикулах нейроэндокринных клеток моноаминов конденсироваться с парами формальдегида, глиоксиловой кислоты, ортофталевого альдегида и образовывать флюорохромы, что нередко применяют для изучения способности клеток поглощать и декарбоксилировать экзогенно введенные предшественники биогенных аминов [20, 13]. Не потеряли своей актуальности методы радиовтографии, применяемые для изучения метаболических процессов в эндокринных клетках.

Наряду с известными и хорошо зарекомендовавшими себя классическими гистологическими и гистохимическими методами, все чаще исследователи прибегают к высокоспецифичным иммуногистохимическим (ИГХ) методам выявления С-клеток, позволяющим с высокой избирательностью обнаруживать в тканях и клетках молекулы, обладающие соответствующими антигенными свойствами. Среди ИГХ маркеров С-клеток ЩЖ животных наибольшее распространение получили кальцитонин, нейронспецифическая енолаза, синаптофизин, хромоген А.

Кальцитонин

Гормон кальцитонин открыт в 1962 году в экспериментах с перфузией кровеносных сосудов, снабжающих ЩЖ и паращитовидную железу растворами, содержащими различные концентрации ионов Са, а в качестве маркера МРЩЖ применен впервые в 1968 году. Рецепторы к кальцитонину были идентифицированы значительно позже, в 1992 году. Тогда же было установлено их родство с семейством 7-TMS (образованных семью трансмембранными сегментами) рецепторов, и отсутствие гомологичных признаков, связывающих эти рецепторы с другими представителями «классических семейств рецепторов». Кальцитонин-положительные рецепторы были обнаружены на поверхности остеокластов, моноцитов, в головном мозге, гипофизе, почках, плаценте, гонадах, печени и лёгких [50, 40].

Кальцитонин выявлялся при помощи методов радиологического и радиоиммунного анализа в тканях гипофиза, тимуса, ликворе спинного мозга, легких, печени и других органах, однако физиологическое значение источников образования кальцитонина, расположенных вне ткани ЩЖ продолжает оставаться неясным [3, 4, 5].

Отмечено возрастание уровня кальцитонина в крови больных с МРЩЖ и дополнительное его увеличение после введения Са, причем уровень кальцитонина может возрастать еще до начала клинических проявлений болезни [37, 21], а в кро-

ви могут определяться множественные формы иммунореактивного кальцитонина, имеющие молекулярный вес, варьирующий от 3400 (мономеры) до 70 000 Да (полимеры).

Биосинтез кальцитонина и родственного ему CGRP определяется α и β генами, расположенными у человека в 11 хромосоме в участках с локализацией гена β-глобина и паратиреоидного гормона. α-ген образован шестью экзонами, ограниченными интронными вставками и выявлен в С-клетках ЩЖ. Различный сплайсинг экзонных последовательностей ведет к образованию двух альтернативных мРНК. При этом мРНК кальцитонина содержит экзоны 1-5, а мРНК CGRP - экзоны 1-3, 5, 6. Таким образом, трансляция экзонов 1-5 ведет к синтезу прокальцитонина, состоящего из 141 аминокислотного остатка, а трансляция мРНК, содержащего экзоны 1-3, 5, 6 служит для образования предшественника CGRP [15]. Биосинтез CGRP определяется также β-геном, не содержащим экзоны кальцитонина, в связи с чем встречаются обозначения α-гена как кальцитонин/CGRP-1, а β-гена, как CGRP-2 [42, 51].

Кальцитонин является на сегодняшний день наиболее распространенным иммуногистохимическим маркером С-клеток ЩЖ и применяется не только в диагностике онкологических заболеваний [1, 40], но и для изучения С-клеточной популяции в норме у человека и животных [12, 48, 19].

Нейронспецифическая енолаза

Нейронспецифическая енолаза (NSE) - цитоплазматический фермент гликолитической цепи с молекулярной массой 78 кДа, представляющий собой одну из структурных разновидностей фермента енолазы, участвующего в гликолизе и присутствующего во всех клетках здорового организма [36, 57]. Существуют различные изоформы енолазы, специфичные для разных тканей [26]. Так, для NSE, определяемой в нейронах головного мозга, описаны некоторые структурные особенности, позволяющие проявлять ферментативную активность при высоких концентрация ионов Cl [23].

NSE обнаруживается в норме в нейронах органов центральной и периферической нервной систем, в эритроцитах и тромбоцитах, а также в большом количестве в клетках нейроэндокринного происхождения, в том числе хромаффинных клетках мозгового слоя надпочечников, С-клетках ЩЖ, нейроэндокринных клетках желудочно-кишечного тракта [9]. Известно, что опухоли из этих клеток характеризуются повышенной продукцией тканеспецифических гормонов (адреналина при феохромоцитоме, кальцитонина при медуллярной карциноме ЩЖ), а также чрезмерным образованием специфичных нейрональных маркеров, в частности NSE [27, 11]. Установлено, что у 75-85% больных опухолями нейроэктодермального происхождения (нейробластомами, медуллобластомами, ретинобластомами) определяется увеличение уровня NSE в крови [7]. Повышенные уровни NSE установлены у больных мелкоклеточной карциномой легких, при медуллярном раке ЩЖ, феохромоцитоме, семиномах, раке почек, гастриноме и инсулиноме [54], карциноидных опухолях желудочно-кишечного тракта [55].

В связи с высокой экспрессией NSE нейроэндокринными клетками, фермент успешно используется в качестве маркера клеток нейроэктодермального происхождения, к которым на сегодняшний день относят и С-клетки ЩЖ [56].

Синаптофизин

Синаптофизин (гликопротеин p38) - основной белок мембраны синаптических пузырьков с молекулярной массой 38 kD, содержит четыре трансмембранных участка и две интравезикулярные петли [47]. Синаптофизин присутствует в панкреатических островках, в клетках медуллярно-

го вещества надпочечников и в других нейроэндокринных клетках [48]. Обнаружено его существование в виде двух изоформ. Предполагают, что p38 вовлечен в процесс экзоцитоза при синаптической передаче. Поскольку этот белок присутствует исключительно в пресинаптических терминалях, его рассматривают как маркер синапсов [35]. Однако, иммуно- экспрессия синаптофизина выявляется также в некоторых нейроэндокринных клетках и во множестве опухолей нейрогенного и эпителиального происхождения [23, 24].

Известно, что для опухолей из С-клеток характерна окраска на кальцитонин, нейронспецифическую енолазу, хромогранин А, синаптофизин, раковоэмбриональный антиген, в ряде случаев на белок S-100 [22, 33, 34, 28], причем кальцитонин, хромогранин А и синаптофизин клетки медуллярного рака щитовидной железы продуцируют в 80 % случаев [6].

Экспрессия синаптофизина в С-клетках ЩЖ обнаружена и описана в норме у собак и кошек, свиней и выявляется нередко в период пренатального онтогенеза, до начала гормонопродуцирующей активности С-клеток, что позволяет рекомендовать его в качестве маркера интерфолликулярных клеток при изучении пренатального гистогенеза ЩЖ или в случаях патологических изменений, связанных с низким уровнем кальцитонина в крови животных [10].

Хромогранин А

Хромогранины — высокомолекулярные кислые раство-римые белки, выявлены в секреторных гранулах практически всех апудоцитов [31, 32]. Хромогранин А (CgA) принадлежит к кислым секреторным гликопротеинам, играет ключевую роль в регуляции биогенеза больших секректорных гранул с электронно-плотной сердцевиной и рассматривается в качестве посттранскрипционного компонента, влияющего на процессы агрегации и конденсации секреторного продукта в транссети комплекса Гольджи и дальнейшего формирования секреторных везикул [14]. Молекула состоит из 439 распределенных по всей длине аминокислотных остатков, по которым происходит ее расщепление, в результате чего образуются регуляторные пептиды: вазостатин, хромостатин, панкреастатин, WE-14, катестатин, парастатин [30].

Хромогранин А является одним из наиболее часто используемых маркеров нейроэндокринных клеток, который, как принято считать, обладает высокой чувствительностью и специфичностью при определении опухолей из нейроэндокринных клеток, в том числе МРЩЖ [29].

Необходимо отметить, что кальцитонин, нейронспецифическая енолаза, синаптофизин, хромогранин А являются наиболее чувствительными высокоселективными маркерами С-клеток ЩЖ и позволяют определить локализацию, морфофункциональное состояние и гормонопродуцирующую активность интерфолликулярных клеток ЩЖ животных в норме и патологии. Последовательное применение данных маркеров при изучении одного и того же материала дает возможность оценить состояние С-клеточной популяции, изучить особенности межтканевых взаимоотношений в тироидной ткани, а также определить количественные и качественные показатели, характеризующие функциональное состояние С-клеток ЩЖ животных.

Immunohystochemical markers of C-cells animal's thyroid gland.

A. Muzihikyan.

ABSTRACT

Immunohistochemistry studies of organs and tissues of animals used for experimental and diagnostic solutions problems in recent years have received widespread mainly due to the high sensitivity and selectivity of the markers used. These methods are relevant and most useful in studying the morphology of neuroendocrine cells belonging to APUD-

system. To date, a special scientific and practical interest to study the C-cells of the thyroid gland, which differ from the thyrocytes morphology, origin and performed by them in the thyroid tissue functions. Used to detect C-cell thyroid calcitonin, neuron specific enolase, synaptophysin and chromogranin A are the most sensitive marker highly selective cells and can determine the localization, morphological and functional state, as well as the activity of hormone interfollicular cells of the thyroid gland of animals in health and disease. Consistent use of these markers in the study of the same material makes it possible to evaluate the state of the C-cell population in the thyroid tissue to study features intertissue relationship, and to identify qualitative and quantitative indicators characterizing the functional state of the C cells of the thyroid gland of animals.

Key words: C-cells, calcitonin, nse, synaptophysin, chromogranin A.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко Н.И., Павловский М.П. Медуллярный рак щитовидной железы (клиника, диагностика, лечение) // Современные аспекты хирургической эндокринологии. - СПб. -2003. -Т.1. -С. 34-36.
2. Бржезовский В.Ж., Любаев В.Л. Диагностика и лечение медуллярного рака щитовидной железы // Практическая онкология. -2007. -Т.8. -№1. -С. 29-34.
3. Бутакова С.С. Кальцитонин - модулятор секреторного процесса поджелудочной железы // Механизмы функционирования висцеральных систем: Мат. VI Всерос. межд. конф. - СПб. -2008. -С. 26-27.
4. Бутакова С.С. Некоторые механизмы гипергликемического действия кальцитонина // Механизмы функционирования висцеральных систем: Мат. VII Всерос. межд. конф. : Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН. -2009. -С. 87-88.
5. Бутакова С.С., Ноздрачев А.Д. Влияние кальций регулирующих гормонов и модуляторов кальциевых каналов на потребление глюкозы мышечной и жировой тканью in vivo и in vitro // Бюл. экспер. Биологии. -2009. -Т.147. -№ 8. -С. 133-137.
6. Волченко Н.Н., Славнова Е.Н. Цитологические критерии диагностики рака щитовидной железы // Сибирский онкологический журнал. –2006. -№3. -С. 5-7.
7. Гашилова Ф.Ф., Жукова Н.Г. Нейронспецифическая енолаза в сыворотке крови как диагностический маркер паркинсонизма // Бюл. сибирской медицины. -2005. -№3. -С. 28-34.
8. Грабовой А.Н. Основы морфологической диагностики нейроэндокринных опухолей // Клиническая онкология. -2011. -№1. -С. 102-104.
9. Жукова И.А., Алифирова В.М., Жукова Н.Г. Нейронспецифическая енолаза как неспецифический маркер нейродегенеративного процесса // Бюлл. сибирской медицины. -2011. -№2. -С. 15-21.
10. Иванов В.С., Мужикян А.А. Синаптофизин как маркер С-клеток щитовидной железы собаки // Морфология. -2014. -№ 3. –80с.
11. Чехонин В.П., Гурина И.А., Рябухина И.А. и др. Иммуноферментный анализ нейроспецифической елоназы на основе моноклональных антител в оценке проницаемости гематоэнцефалитического барьера при нервно-психических заболеваниях // Рос. психиатр. журн. -2000. -№4. -С.15-19.
12. Ильин А.А., Исаев П.А. и др. К вопросу об операциях по поводу лечения медуллярного рака щитовидной железы // Современные аспекты хирургической эндокринологии. -2004. -С. 118-119.
13. Коржевский Д.Э. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии. – СПб. -2010. -124с.
14. Крылова М.И. Хромогранин А: Иммуноцитохимическая локализация в секреторных гранулах кардиомиоцитов предсердия лягушки. Цитология. –2007. -Т.49. -№7. –538с.
15. Кубарко А.И., Yamashita S. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты. -

Минск - Нагасаки. -1998. -368с.
16. Данилова Р.К. Руководство по гистологии. -СПб. -2001. -С. 453-476.
17. Лычкова А.Э. Нервная регуляция функции щитовидной железы // Вестник РАМН. Актуальные вопросы патофизиологии. –2013. -№6. -С. 49-55.
18. Смирнова Т.С. Морфофункциональная характеристика щитовидной железы растущего организма при хроническом стрессе: Автореф. дис. канд. мед. наук. -Волгоград. -2009. -25с.
19. Мужикян А.А. Иммуногистохимическое исследование и морфология с-клеток щитовидной железы свиней // Ветеринарная патология. -2014. -№3-4. –С. 54-61.
20. Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. -М. -2008. -512с.
21. Пинский С.Б., Калинин А.П., Белобородов В.А. Диагностика заболеваний щитовидной железы. -М. -2005. -192с.
22. Рыйхлин Н.Т., Петров С.В., Балатенко Н.В. Иммуногистохимическая диагностика опухолей щитовидной железы (гистологические и цитологические аспекты) // Архив патологии. -1998. -№4.- С. 34-34.
23. Рябухин И.А. Нейроспецифические белки в оценке проницаемости гематоэнцефалического барьера человека и животных: автореф. дис. д-ра мед. наук. -М. -2004. -25с.
24. Сайнога Т.В., Славинский А.А. Синаптофизин в диагностике нейроэндокринных опухолей лёгких // Межд. журнал прикладных и фундаментальных исследований. -2011. -№9. -С. 103-104.
25. Сайнога Т.В., Славинский А.А. Экспрессия иммуногистохимических маркеров нейроэндокринной дифференцировки в злокачественных опухолях лёгких // Кубанский научный медицинский вестник. -2012. -№ 2. -С. 154-157.
26. Чехонин В.П., Лебедев С.В., Рябухин И.А. Селективное накопление моноклональных антител к нейроспецифической енолазе в ткани мозга крыс с окклюзией средней мозговой артерии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. -2004. -Т. 138. -№ 10. -С. 388-392.
27. Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В. Опухолевые маркеры при раке молочной железы // Врач. -2011. -№12. - С. 2-6.
28. Петров С.В., Цыплаков Д.Э., Кулагин Р.Н. и др. Семнадцатилетний опыт повседневной молекулярной диагностики рака. Возможности и ограничения иммуногистохимического анализа в клинической онкологии // Бюл. СО РАМН. –2011. - Т. 31. -С. 75-80.
29. Сивков А.В., Кешишев Н.Г., Ефремов Г.Д. и др. Роль хромогранина А в диагностике рака предстательной железы // Экспериментальная и клиническая урология. –2012. -№3. -С. 68-70
30. Сивков А.В., Кешишев Н.Г., Ефремов Г.Д. и др. Хромогранин-А в диагностике рака предстательной железы // Исследования и практика в медицине. –2015. -№ 1. -Т.2. -С. 55-60
31. Слепнева И.Н. Роль апудоцитов, секретирующих мелатонин, и клеточного обновления эпителиоцитов антрального отдела же-лудка в эвалюции хронического холицистита. Саратов: Б.и., 2002. 24 с.
32. Суходоло И.В., Геренг Е.А. Структурно-функциональная организация клеток диффузной эндокринной системы в дыхательных путях в норме и при патологии // Бюл. сибирской медицины. -2008. -№1. – С. 71-74
33. Фридман М.В., Демидчик Ю.Е. Бранхиогенный рак шеи и щитовидной железы: об источниках развития и способности к полипотентной дифференцировке // Воп. онкологии. -2008. -№2. -С. 225-231.
34. Фридман М.В., Демидчик Ю.Е. Плохо дифференцированный рак щитовидной железы // Онкологический журнал. -2009. -Т.3. -№4. -С.38-47.
35. Хренов А.И. Синаптофизин (р38)-интегральный гликопротеин мембраны синаптических везикул: структура и

функциональное назначение // Нейрохимия. -1999. -№4. -С.259-264.
36. Чехонин В.П., Дмитриева Т.Б. Иммунологический анализ нейроспецифических антигенов. -М. -2000. - 415с.
37. Тица Н.У. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. –М. -1997. -942с.
38. Lee J.J., Larson C. A dog pedigree with familial medullary thyroid cancer // Int. J. Oncol. -2006. -Vol.29. -№5. -P. 1173-82.
39. Barber L.G. Thyroid tumors in dogs and cats // Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract. -2007. -Vol.37. -P. 755-773.
40. Becker K.L. Clinical review // J. Clin. Endocrin. Metab. -2004. -Vol.89. -№4. -P. 1512-1525.
41. Caron N.R., Clark O.H. Well differentiated thyroid cancer // J. Surg. -2004. -Vol. 93. -№4. -P. 261-271.
42. De Hoon J.N., Pickkers P. Calcitonin gene-related peptide: exploring its vasodilating mechanism of action in humans // Clin. Pharm. Ther. -2003. -Vol.73. -P. 312-321.
43. Carver J.R., Kapatkin A. Comparison of medullary thyroid carcinoma and thyroid adenocarcinoma in dogs: a retrospective study of 38 cases // Vet. Surg. -1995. -Vol. 24. -№4. -P.315.
44. Charles G. The Thyroid Gland // Clinical pediatric endocrinology. -2012. -Vol.2 - P.129-150.
45. Piñeyro P., Miranda D. Vieson Histopathological and immunohistochemical findings of primary and metastatic medullary thyroid carcinoma in a young dog // J. Vet. Sci. -2014. -Vol.15. -№3. -P. 449-453.
46. Leblanc B., Parodi A.L., Lagadic M. et al. Immunocytochemistry of canine thyroid tumors // Vet. Pathol. –1991. –Vol.28. –P. 370–380.
47. Johnston P.A. The Multisubunit Structure of Synaptophysin // The journal of biological chemistry. -1990. -Vol.265. -№15. - P. 8869-8873.
48. Kwon S. E. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons // Neuron. -2011. -Vol.70. -№5. -P. 847-854.
49. Brauckhoff M., Lorenz K., Ukket J. et al. Medullary thyroid carcinoma // Scand. J. Surg. -2004. -Vol.93. -№4. -P. 249-260.
50. Mesko D. Differential diagnosis by laboratory medicine // Springer. -2002. -P. 119-120.
51. Lu J.T., Son Y.J., Lee J. et al. Mice lacking alpha-calcitonin gene-related peptide exhibit normal cardiovascular regulation and neuromuscular development // Mol. Cell Neurosci. -1999. -Vol.14. -P. 99-112.
52. Ozaki T. Development of thyroid gland and ultimobranchial body cyst is independent of p63 // Lab. Investigation. -2011. -Vol. 91. -P. 138-146.
53. Patnaik A.K. Gross, Histologic, Cytochemical, and Immunocytochemical Study of Medullary Thyroid Carcinoma in Sixteen Dogs // Vet. Pathol. -1991. -Vol.28. -P. 223-233.
54. Nakyama T., Watanabe M. Slope analysis of CA19-9 and CEA for predicting recurrence in colorectal cancer patients // Antican. Res. -1997. -Vol.17. -№2. -P. 1379-1382.
55. The clinical efficacy of CA 72-4 as serum marker for gastric cancer in comparison with CA19-9 and CEA / I. Kodama, K. Koufuji, S. Kawabata et al. // Int Surg. - 1995. - Vol. 80. - No. 1. - P. 45-48.
56. Vogl M. Tumor Markers: Review and Clinical Application. - Milan. -2002.
57. Woertgen C. Neuron-Specific Enolase Serum Levels After Controlled Cortical Impact Injury in the Rat // J. of Neurotrauma. - 2001. -Vol.18. -№5. -P. 569-574.

УДК: 614

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА БАДАНА НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА, ВЫЗВАННОГО ВЫСОКОКАЛОРИЙНОЙ ДИЕТОЙ

Ковалева М.А.– м.н.с., Макарова М.Н. - д.м.н., профессор
ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации»

РЕФЕРАТ

Препараты природного происхождения, как правило, считается менее токсичны и реже вызывают побочные эффекты, чем химически синтезированных препаратов. Эффекты сухого экстракта бадана на модели метаболического синдрома. В исследовании, было обнаружено, что была исследована модель «столовой диете" наиболее эффективный экстракт бадана в дозе 50 мг / кг, на фоне которых существует выраженное и продолжительное снижение потребления пищи. Кроме того, на фоне экстракта бадана уменьшилось вес тела животных. Было обнаружено, что препарат подавляет аппетит животных, таким образом, нормализации липидного и углеводного обмена.

Ключевые слова: сухой экстракт бадана, диета, холестерин.

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, препараты природного происхождения обычно считаются менее токсичными и менее склонны вызывать побочные эффекты, чем химически синтезированные препараты. Растения, принадлежащие к роду Бадана (семейство Saxifragaceae) являются родными для Китая, Монголии, Сибири, Алтая и Гималаев. Наиболее широко известны следующие подвиды Бадана, имеющие лекарственное значение *B. ciliata, B. ligulata* и *B. crassifolia*. *B. ciliata, B. ligulata* широко используются в Индии в качестве лекарства для лечения лихорадки, диареи, а также для заживления ран, лечения почечных и легочных инфекций (Ballabh B. et al., 2008; Dhalwal K. et al., 2008). Экстракт из листьев и корневищ *B. Cordifolia* обладает ярко выраженным антиоксидантными, анти-а-глюкозидазными и антихолинэстеразными свойствами (Roselli M. et al., 2011). Фитохимические исследования *B. crassifolia* выявили наличие фенольных соединений (Shicov A.N. et al., 2007), флавоноидов, 3-О-моногликозидов и 3-О-дигликозидов из кемпферола и кверцетина, дубильных веществ, бергенина, а также полисахарида бергенана. В ряде исследований отмечается, что настой из листьев *B. crassifolia* способствует ускорению утилизацию жиров у мышей во время купания и уменьшению массы тела на 15-18%, что наблюдалось в группах животных, получавших ферментированные листья *B. crassifolia* (Shicov A.N. et al., 2010). Тем не менее, отсутствуют как таковые данные, касающиеся использования и соответственно эффектов *B. crassifolia* в рационах с высоким содержанием жиров. Таким образом, в исследовании нами использовались зеленые и черные листья *B. Crassifolia,* собранные с плантации МТТ сельскохозяйственного холдинга в Финляндии (Миккели, Финляндия). Зеленые листья были подвергнуты частичной ферментации (Shicov A.N. et al., 2010).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 60 самцах

линии SHR (масса тела к началу исследования 250,0 – 300,0).

Определение концентрации глюкозы в цельной крови методами сухой химии проводили экспресс-методом при помощи глюкометра OneTouch Ultra Easy фирмы «Lifescan», США. Линейный диапазон измерения 1,1 – 33,3 ммоль/л. Определение концентрации общего холестерина в плазме крови проводили при помощи биохимических методов с использованием соответствующих тест-наборов («Витал-Диагностик», Россия) на биохимическом анализаторе «Stat Fax 1904 Plus» (США). Оптическую плотность измеряют при 505 нм. Единицы измерения – ммоль/л. Линейный диапазон измерения до 25,8 ммоль/л.Определение концентрации триглицеридов в плазме крови проводили при помощи биохимических методов с использованием соответствующих тест – наборов («Витал-Диагностик», Россия) на биохимическом анализаторе «Stat Fax 1904 Plus» (США). Количество образующегося окрашенного продукта, измеряемое при 505 нм, прямо пропорционально концентрации триглицеридов в пробе. Линейный диапазон измерения до 8 ммоль/л.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты измерения массы тела животных на фоне применения диеты кафетерия и исследуемых веществ в динамике представлены в таблице 1. Все данные распределены нормально. Сравнение между группами проводилось с помощью критерия Стьюдента для зависимых переменных между днем начала «диеты кафетерия». Как видно из представленных в таблице данных, переход животных на диету кафетерия сопровождался первоначально снижением веса на 2,5-7% по сравнению с последними днями стандартной диеты. Спустя 14 дней пребывания животных на «диете кафетерия» наблюдалась отчетливая тенденция к увеличению веса на 2,5-10,5% во всех группах. К 23 дню исследования в контрольной группе животных продолжало наблюдаться увеличение массы животных. При применении экстракта бадана наблюдалось снижение веса к 23 дню (по сравнению с 14 днем) на 4,1%, и, в группе, получавшей сибутрамина гидрохлорид отмечалось снижение массы тела животных на 6,4%. На фоне потребления рациона «диеты кафетерия» наблюдали увеличение потребления пищи. Полученные данные представлены в таблице 2.

Как видно из представленных данных, на фоне применения рациона «диеты кафетерия» отмечали статистически значимое увеличение потребления пищи. Потребление пищи животными, получавшими экстракт бадана, было на 42% ниже на 23 день по сравнению с контролем ($p<0,05$), а потребление пищи животными, получавшими сибутрамин – на 40% ниже на 23 день по сравнению с контролем ($p<0,05$). Таким образом, применение препаратов приводило к снижению аппетита у животных (снижение потребления пищи), приблизительно одинаково, начиная с 1-го по последний день применения исследуемых препаратов.

Следующим этапом исследования

Таблица 1

Динамика массы тела животных на фоне «диеты кафетерия» и применения исследуемых препаратов, г, M±m, n=15

День исследования	Интактная	Контроль	Экстракт бадана 50 мг/кг	Сибутрамина гидрохлогид 1,5 мг/кг
1	275,5±5,1	269,3±2,0	266,3±5,2●	303,1±4,8●
15	268,1±6,4	291,9±3,1	285,6±1,8●	315,6±3,7●
23	287,4±2,8	316,1±11,3	300,1±8,2●	327,6±4,2●

Примечание: ● - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ($p<0,05$, t – критерий Стьюдента)

Таблица 2

Динамика потребления пищи на фоне «диеты кафетерия» и применения исследуемых препаратов, г, M±m, n=15

День исследования	Интактная	Контроль	Экстракт бадана 50 мг/кг	Сибутрамина гидрохлогид 1,5 мг/кг
1	22,6±0,2	13,0±1,8	20,9±1,2●	18,5±1,5●
15	24,8±1,1	26,5±1,9	17,5±0,7●	16,9±0,9●
23	31,6±1,1	27,8±1,9	16,2±0,5●	16,7±0,3●

Примечание: ● - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой (p<0,05, t – критерий Стьюдента)

Таблица 3

Динамика потребления пищи на фоне «диеты кафетерия», после 18-ти часового голодания и применения исследуемых препаратов, г, M±m, n=15

Группы	30 минут	90 минут	3 часа	6 часов
Интактные	2,6±0,1	2,3±0,2	2,1±0,0	3,0±0,3
Контроль	4,8±0,9	3,5±0,3●	3,1±0,5●	2,5±0,5●
Экстракт бадана 50 мг/кг	5,1±1,1●	3,9±0,1●	2,9±0,4●	2,1±0,2●
Сибутрамина гидрохлорид 1,5 мг/кг	5,0±0,8●	2,6±0,4●	2,7±0,3●	2,3±0,6●

Примечание: ● - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой (p<0,05, t – критерий Стьюдента)

было изучение влияния препаратов на аппетит лабораторных животных после голодания. Время голодания составило 18-ть часов, после чего животным был возвращен корм. Массу потребленного корма регистрировали через 30, 90 минут, 3 и 6 часов. Данные потребления пищи после голодовки представлены в таблице 3. В ходе эксперимента между интактной и контрольной группами животных была установлена существенная разница в потреблении корма. Контрольные животные через полчаса после возвращения корма в кормовое углубление клетки потребляли корма на 85% больше, чем интактные животные. Через 90 минут разрыв между контрольной и интактной группами сократился до 52%, через 3 часа до 48%, через 6 часов обе группы потребляли уже практически одинаковое количество пищи.

На фоне применения экстракта бадана через 30 минут наблюдалась тенденция к увеличение аппетита по сравнению с контрольной группой и выраженное увеличение по сравнению с интактной группой. Через 90 минут потребление пищи в этой группе оставалось повышенным, через 3 часа наблюдалась тенденция к снижению этого показателя, а через 6 часов аппетит у животных был ниже, чем у интактной группы.

Таким образом, можно предположить, что сухой экстракт бадана обладает способностью снижать аппетит, однако его эффект наступает через 3-6 часов после введения и связан с метаболитами биологически активных веществ, содержащихся в экстракте. Наиболее выраженный эффект от применения экстракта бадана наблюдался спустя 90 минут – 3 часа после введения препарата, и, вероятно, обусловлен действием, веществ, входящих в состав экстракта. На фоне введения сибутрамина гидрохлорида эффект был схож с фармакологической активностью экстракта бадана, также через 30 минут, наблюдалась тенденция к увеличению

Таблица 4

Концентрация глюкозы при проведении глюкозотолерантного теста, ммоль/л, M±m, n=15

День исследования	Время, мин	Интактная	Контроль	Экстракт бадана 50 мг/кг	Сибутрамина гидрохлогид 1,5 мг/кг
15	0	3,2±0,3	2,9±0,3	3,3±0,1	2,2±0,5
	60	4,3±0,3	6,0±0,9	3,4±0,1●	4,1±0,3●
	120	3,1±0,8	8,1±1,0	4,6±1,3●	2,5±0,5●
23	0	2,2±0,3	2,4±0,3	3,5±0,3●	4,8±0,3
	60	3,5±0,3	6,6±0,6	3,9±0,3	4,6±0,2●
	120	3,1±0,2	10,3±1,4	8,7±1,1	10,3±0,5

Примечание: ● - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой (p<0,05, t – критерий Стьюдента)

Таблица 5

Состояние липидного обмена у животных на фоне «диеты кафетерия» и применении исследуемых препаратов, ммоль/л, M±m, n=15

Группы	Триглицериды	Холестерин
Интактные	0,63±0,11	1,87±0,08
Контроль	2,84±0,57●	2,80±0,17*
Экстракт бадана 50 мг/кг	1,28±0,20●	2,45±0,24*
Сибутрамина гидрохлорид 1,5 мг/кг	3,09±0,49*	2,60±0,26*

*Примечания: ● - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой (p<0,05, t – критерий Стьюдента); * - различия статистически значимы по сравнению с группой контроль (p<0,05, t – критерий Стьюдента)*

аппетита по сравнению с контрольной группой и выраженное увеличение по сравнению с интактной группой (почти в 2 раза). Через 90 минут, потребление пищи в этой группе, снижалось до уровня интактных животных, и оставалось на этом уровне до конца исследования (через 3 и 6 часов). Сибутрамина гидрохлорид вероятно проявляет свое действие за счет первичных и вторичных метаболитов, что объясняет отсроченность эффектов.

На 23 день эксперимента был проведен ГТТ с целью выявления нарушений углеводного обмена. Следует отметить, что перед проведением теста у лабораторных животных всех групп не было статистически значимых различий концентрации глюкозы в периферической крови. Между 15 и 23 днем применения рациона «диета кафетерия» контрольные животные имели статистически значимо большую концентрацию глюкозы спустя 60 и 120 мин после углеводной нагрузки. На фоне применения экстракта бадана (таб. 5) наблюдали нормализацию утилизации глюкозы, что нашло свое отражение в статистически значимом уменьшении концентрации глюкозы спустя 60 и 120 мин после углеводной нагрузки (15 день).

У интактных животных уровень глюкозы изменялся в пределах физиологической нормы.

У контрольных животных в первые девять дней пребывания на «диете кафетерия», сахарная кривая практически не отличалась от уровня интактных животных. К 15 дню пребывания на «диете кафетерия» у животных было отмечено повышение уровня глюкозы в плазме крови через 1 и 2 часа после сахарной нагрузки, подобные изменения (хотя уровень глю-

Таблица 6

Состояние липидного обмена у животных на фоне «диеты кафетерия» и применения исследуемых препаратов, ммоль/л, M±m, n=15

Группы	Триглицериды	Холестерин
Интактные	0,63±0,11	1,87±0,08
Контроль	2,84±0,57●	2,80±0,17*
Экстракт бадана 50 мг/кг	1,28±0,20●	2,45±0,24*
Сибутрамина гидрохлорид 1,5 мг/кг	3,09±0,49*	2,60±0,26*

Примечания: ● - различия статистически значимы по сравнению с интактной группой (p<0,05, t – критерий Стьюдента); * - различия статистически значимы по сравнению с группой контроль (p<0,05, t – критерий Стьюдента)

козы не превышал почечного порога) характеризуют нарушенную толерантность к глюкозе, и являются фактором риска для развития сахарного диабета 2 типа. К концу исследования (23 и 24 день пребывания животных на «диете кафетерия») у животных контрольной группы наблюдалась устойчивое нарушение толерантности к глюкозе с повышением уровня глюкозы через 2 часа после сахарной нагрузки выше почечного порога.

В группе животных, которые на фоне «диеты кафетерия» получали экстракт бадана в первые пятнадцать дней пребывания на «диете кафетерия», сахарная кривая практически не отличалась от уровня интактных животных. К 15 дню пребывания на «диете кафетерия» у животных было отмечено незначительное повышение уровня глюкозы в плазме крови через 2 часа после сахарной нагрузки. К концу исследования (23 и 24 день пребывания животных на «диете кафетерия») у животных этих групп наблюдалось некоторое повышение уровня глюкозы через 2 часа после сахарной нагрузки, однако почечный порог превышен не был.

Схожая ситуация наблюдалась в группе животных, получавших сибутрамина гидрохлорид, в первые пятнадцать дней пребывания на «диете кафетерия», сахарная кривая практически не отличалась от уровня интактных животных. К концу исследования (23 и 24 день пребывания животных на «диете кафетерия») у животных этой группы наблюдалось устойчивое нарушение толерантности к глюкозе с повышением уровня глюкозы через 2 часа после сахарной нагрузки выше почечного порога. Как известно, арбутин, являющийся компонентом экстракта бадана, оказывает определенное влияние на уровни триглицеридов и холестерина в сыворотке крови животных. Как показали наши исследования, уровень триглицеридов у животных на фоне применения «диеты кафетерия» увеличивался в 4,5 раза и превышал физиологический уровень. Концентрация холестерина в крови контрольных животных также увеличивался (в 1,5 раза).

На фоне применения тестируемых объектов статистически значимое уменьшение концентрации триглицеридов наблюдали только в группе животных, получавших экстракт бадана (таблица 6).

Применение сибутрамина гидрохлорида не привело к выраженной нормализации концентрации холестерина в плазме крови.

Таким образом, ожирение, являясь нарушением энергетического дисбаланса, развивается в тех случаях, когда потребление энергии превалирует над ее расходом, что является серьезной медицинской проблемой, т.к. вызывает множество проблем со здоровьем. Повышенное потребление калорийной пищи резко увеличивает риск серьезных проблем со здоровьем, включая сердечно-сосудистые заболевания, гипертонии, диабет и нарушение обмена веществ. Проведенное исследова-

ние показало, что «диета кафетерия» является перспективной моделью исследования влияния биологически-активных веществ на аппетит экспериментальных животных. Пребывание животных на «диете кафетерия» в течение 15 дней привело к увеличению массы животных на 2,5-10,5%. Вместе с тем, отмечалось увеличение потребления пищи в 1,2-1,4 раза, которое носило устойчивый характер. На фоне перорального введения экстракта бадана и сибутрамина тенденции снижения веса тела по сравнению с контрольной группой составили 12% и 2%, соответственно. При использовании как сухого экстракта бадана, так и сибутрамина снижение потребления пищи за 24 дня составило 38%.

При исследовании концентрации глюкозы в крови экспериментальных животных уже к 15 дню применения рациона «диета кафетерия» у животных было отмечено повышение уровня глюкозы в плазме крови через 1 и 2 часа после сахарной нагрузки. Через 24 дня применения диеты у животных наблюдалось устойчивое нарушение толерантности к глюкозе с повышением уровня глюкозы через 2 часа после сахарной нагрузки выше почечного порога, что связано с нарушением толерантности к глюкозе, и является фактором риска для развития сахарного диабета 2 типа. По сравнению с контрольной группой, экстракт бадана показал заметное снижение уровня глюкозы в сыворотке крови через 60 мин на 41% и через 90 минут – на 16%, соответственно. В свою очередь применение сибутрамина вызывало снижение уровня глюкозы через 60 мин на 30%. Через 90 минут эффекта как такового не наблюдалось. Изменения в углеводном обмене у экспериментальных животных, сопровождались изменениями в липидном обмене. Уровень триглицеридов у животных на фоне применения «диеты кафетерия» увеличивался в 4,5 раза и превышал физиологический уровень, концентрация холестерина при этом также увеличивалась (в 1,5 раза), но пограничный уровень (как фактор риска) достигнут не был. Эти изменения характерны для начальных стадий развития сахарного диабета 2 типа, и модель в целом может служить не только для оценки аппетита, но и как модель метаболических нарушений связанных с образом жизни. По сравнению с контрольной группой, экстракт бадана снижал содержание триглицеридов в сыворотке крови у животных на 55%.Следует отметить, что применение сибутрамина гидрохлорида не вызывало снижение уровня триглицеридов. Потребление высококалорийной диеты может приводить к развитию депрессии, что и наблюдалось в ходе исследования - отмечалось снижение ориентировочно-исследовательской активности и эмоционального статуса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования было установлено, что на модели «диета кафетерия» наиболее эффективным оказался исследуемый экстракт бадана, на фоне применения которого, наблюдалось выраженное и устойчивое снижение потребления пищи. Также на фоне применения экстракта бадана снижалась масса тела животных. Установлено, что данный препарат подавлял аппетит животных, нормализуя при этом липидный и углеводный обмены.

Impact on the dry extract Badal during the experimental metabolic syndrome caused by high-calorie diet.

M. Kovaleva, M. Makarova.

ABSTRACT

Drugs of natural origin are generally considered less toxic and less likely to cause side effects than chemically synthesized drugs. The effects of dry extract of Bergenia on the model of the metabolic syndrome. In the study, it was found that the model of "cafeteria diet" most effective was investigated Bergenia extract at a dose of 50 mg / kg, on the background of which, there is a

pronounced and sustained reduction in food intake. Also on the background of Bergenia extract decreased the body weight of animals. It was found that the drug suppresses the appetite of animals, thus normalizing lipid and carbohydrate exchanges.

Key words: dry extract of Bergenia, diet, cholesterol.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ballabh B., Chaurasia O.P., Ahmed Z., Singh S.B.Traditional medicinal plants of cold desert Ladakh used against kidney and urinary disorders // J. of Ethnophar. –2008. -№118. –P. 331-339.
2. Dhalwal K., Shinde V.M., Biradar Y.S. Simultaneous quantifi-cation of bergenin, catechin, and gallic acid from *Bergenia ciliata* and *Bergenia ligulata* by using thin-layer chromatography // J. of Food Com. and An. – 2008. -№21. –P. 496-500.
3. Roselli M., Lentini G., Habtemariam S. Phytochemical, antioxidant and anti- a-glucosidase activity evaluations of *Bergenia cordifolia* // Phytotherapy Research. –2011. –Vol. 26. –P. 908-914.
4. Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Dorman H.J.D., Makarov V.G., Tikhonov V.P., Hiltunen R. Chemical composition of extracts from green, brown and black leaves of *Bergenia crassifolia* // L. Planta Medica. –2007. –Vol.73. –P. 897.
5. Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Makarova M.N., Dorman H.J.D., Makarov V.G., Tikhonov V.P., Galambosi B., Hiltunen R. Examination of adaptogenic effect of infusions of *Bergenia crassifolia* black and fermented leaves in the forced swimming test // Planta Medica. –2008. –Vol.74. –P. 908.
6. Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Makarova M.N., Dorman H.J.D., Makarov V.G., Hiltunen R., Galambosi B. Adaptogenic effect of black and fermented leaves of*Bergenia crassifolia* L. in mice // Journal of Functional Foods. –2010. -№2. –P. 71-76.

УДК: 612.67

МОДЕЛЬ ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ: КАРРАГЕНИНОВЫЙ ВОЗДУШНЫЙ МЕШОЧЕК

Кательникова А.Е. - м.н.с, Крышень К.Л.– с.н.с, Мужикян А.А. - м.н.с.,
Макарова М.Н.-д.м.н., профессор, Макаров В.Г. - д.м.н., профессор,
Санкт-Петербургский институт фармации

РЕФЕРАТ

Разработка новых лекарственных средств для лечения воспалительных заболеваний зависит от наличия подходящих моделей на животных. Наибольший интерес представляют модели «воспаление полости», поскольку они близки к артриту, при котором патологический процесс локализуется в синовиальной полости. Модель подкожного воздушного мешочка in vivo можно использовать для изучения острого воспаления, разрешения воспалительного ответа и оценки окислительного стресса. Воспаление индуцируют в 6-дневном воздушном мешочке крысы или мыши путем введения в полость мешочка каррагенина. Помимо каррагенина, в качестве раздражающего агента в данной модели можно использовать зимозан или липополисахарид (LPS). Модель характеризуется миграцией лейкоцитов, формированием гранулемы, выраженным увеличением экссудата, общего белка, провоспалительных медиаторов таких как, NO, простагландинов, TNFα, IL-1β. В этом обзоре рассматриваются основные требования и особенности методологии модели острого воспаления «каррагениновый воздушный мешочек».

Ключевые слова: каррагенин, каррагениновый воздушный мешочек, острое воспаление, синовиальная полость.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых противовоспалительных лекарственных средств (ЛС) зависит от наличия подходящей модели на животных для оценки действия препаратов на этапе доклинических исследований. Несмотря на тяжесть хронического воспалительного процесса, предпочтение отдается моделям острого воспаления по двум причинам. Во-первых, для скрининга новых противовоспалительных ЛС необходимы простые, легко воспроизводимые модели, позволяющие оценить эффективность препаратов достаточно быстро. Во-вторых, и что более важно, модели острого воспаления необходимы для изучения механизмов, участвующих в переходе острого воспаления в хроническое [1].

Для оценки противовоспалительного действия ЛС на доклиническом этапе используют множество экспериментальных моделей острого воспаления. На сегодняшний день наиболее часто используют модели «воспаление полости», позволяющие достаточно близко сымитировать такое заболевание как артрит, при котором патологический процесс локализуется в синовиальной полости [2].

Седвиг с соавторами [3] обнаружили, что инъекция индуктора воспаления в мешочек, сформированный путем подкожной инъекции воздуха в межлопаточную область крысы через шесть дней, сопровождается воспалительной реакцией, встречающейся у пациентов с ревматоидным артритом и другими хроническими заболеваниями суставов. Кроме того, шестидневная выстилка воздушного мешочка имеет структурное сходство с синовиальной оболочкой сустава, т.е. помимо макрофагов и фибробластов как и синовиальная оболочка суставов, воздушный мешочек выстлан синовиацитами типов А и В [4]. Наконец модель воздушного мешочка имеет дополнительные преимущества, так она не связана с внутренними органами, которые могут быть повреждены при заборе проб, а главное, она обеспечивает чувствительную оценку препаратов, которые ингибируют каскад арахидоновой кислоты [2]. Прототипом данной модели была однодневная модель воздушного мешочка, впервые описанная Селье в 1953 году [5]. Модель широко использовали для изучения воспалительной реакции на различные вещества, такие как зимозан [6], карбоксиметилцеллюлоза [7], кристаллы мононатриевой соли мочевой кислоты [8], керамики, используемой в искусственных органах [9], каррагенина [10], и бактериальных инфекций [11].

Несмотря на большое количество литературных источников по воспроизведению модели воздушный мешочек, условия проведения могут отличаться. В обзоре рассматриваются ключевые требования и особенности методологии при воспроизведении модели острого воспаления «каррагениновый воздушный мешочек» у крыс и мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные

Исследование проводят на мелких лабораторных грызунах (мыши, крысы). Причем, воспроизведение модели воздушного мешочка на мышах имеет ряд преимуществ из-за возможности использования генетически модифицированных (knockout) животных.

Оптимальный вес животных по Current Protocols in Pharmacolodgy 5.6.1-5.6.8 у крыс составляет – 130-150 г, у мышей – 20-25 г [12]. Однако жестких требований в выборе, как веса животных, так и возраста при воспроизведении данной модели нет. В большинстве исследований крыс используют массой тела 200-250 г и мышей массой 25-30 г в связи с преиму-

ществом в увеличении площади поверхности тела животных [1, 2, 13].

Количество животных, используемых в эксперименте должно быть достаточным для полной статистически значимой регистрации изучаемых эффектов. Рекомендуют использовать не менее шести животных одного пола в каждой тестируемой группе [12].

Формирование групп

В дизайне исследования обязательно должны быть указаны контрольная группа, группы с тестируемым ЛС в разных дозах и группа положительного контроля с известным противовоспалительным препаратом [12].

Модель «каррагенинового воздушного мешочка» на крысах

Формирование воздушного мешочка

1.1 Формирование воздушного мешочка осуществляется за шесть дней до индукции воспаления.

В шприц объемом 20 мл набирают воздух. К шприцу прикрепляют стерильную иглу диаметром 23G (*игла от шприца объемом 2 мл*).

Животное подвергают анестезии в соответствии с выбранным методом (рекомендации к выбору анестезии будут рассмотрены ниже).

За ушами у крысы собирают кожную складку и в основание складки делают инъекцию воздуха в объеме 20 мл. Иголка при ведении должна быть под углом 45° к телу животного (рис. 1, 2).

Анестезия

В соответствии с основным протоколом Current Protocols in Pharmacolodgy 5.6.1-5.6.8 анестезию проводят при помощи общего ингаляционного наркоза и искусственной вентиляции легких в процессе анестезии изофлюраном или галотаном (концентрация 5%) с использованием ветеринарного наркозного аппарата [12]. Применение данных препаратов обеспечивает безопасный, надежный и быстрый способ создания оптимальной глубины

Рис. 1. Подкожная инъекция воздуха крысе

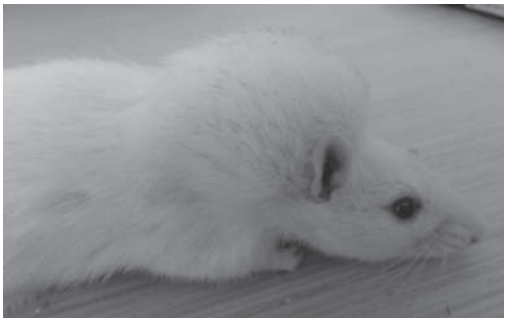


Рис. 2. Сформированный воздушный мешочек у крысы

анестезии с коротким временем восстановления.

Учитывая стоимость анестетиков и требуемого для них оборудования, анестезию можно осуществлять путем кратковременного помещения животного в CO_2-камеру.

По результатам собственного опыта безопасное время пребывания животных в CO_2-камере с достижением адекватной анестезии для крысы составляет не более 25 секунд, для мышей не более 15 секунд. Но учитывая индивидуальные особенности каждого животного, при выборе в качестве анестезии CO_2-камеру необходимо осуществлять постоянный контроль за животным во время ингаляции.

1.2 Через трое суток от момента формирования воздушного мешочка проводят вторую подкожную инъекцию воздуха в полость мешочка в объеме 10 мл, также с использованием анестезии (шприц объемом 10 мл, игла диаметром

23G от шприца объемом 2 мл). Повторная инъекция необходима для поддержания объема полости воздушного мешочка.

Индукция воспаления

На шестой день от момента формирования воздушного мешочка (первой инъекции воздуха) в полость воздушного мешочка вводят 2 мл 2 % раствора λ-каррагенина шприцом объемом 5 мл (игла диаметром 23G от шприца объемом 2 мл), с использованием анестезии.

Каррагенин взаимодействует с рецепторами TLR4 на поверхности макрофагов, выстилающих внутрикапсульную область мешочка, что вызывает их активацию и последующий синтез провоспалительных медиаторов (IL-1; IL-6; TNFα, IL-8, простагландинов и лейкотриенов, NO, активных форм кислорода) [14]. Вазодилятация способствует инфильтрации клеток и медиаторов воспаления и опосредуется в ответ на действие NO и некоторых простагландинов. NO образуется из L-аргинина вследствие активации NO-синтазы (NOS) [15]. Другой признак воспалительного процесса, вызванного введением раствора каррагенина, это экссудация жидкости. Экссудат в мешочке образуется в результате накопления богатой белками жидкости во внутритканевое пространство под действием гистамина, брадикинина, лейкотриенов, компонентов комплемента, субстанции Р и тромбоцит-активирующего фактора PAF. Все эти факторы заметно изменяют барьерную функцию малых кровеносных сосудов и увеличивают проницаемость капилляров и венул как для воды, так и для белков [16, 17]. Вазодилятация и экссудация жидкости сопровождается миграцией лейкоцитов. Нейтрофилы первыми среди лейкоцитов мигрируют в зону воспаления. Процесс трансмиграции нейтрофилов можно разделить на несколько стадий: роллинг, адгезия, диапедез (трансмиграция) и хемотаксис [15]. Уже через 6 часов после введения раствора каррагенина наблюдается резкое увеличение в экссудате лейкоцитов (до 10-20x10^6 кл/мл). Из них 80-90% составляют нейтрофилы. Значительно повышается уровень провоспалительных медиаторов, включая TNFα, IL-1, IL-6, лейкотриенов и простагландинов [2].

Таким образом, инъекция раствора каррагенина в воздушный мешочек воспроизводит воспалительную реакцию, которая характеризуется инфильтрацией выстилки мешочка клетками, увеличением экссудата и массивным высвобождением провоспалительных медиаторов, таких как простагландины, лейкотриены и цитокинов.

Помимо λ-каррагенина, в качестве раздражающего агента можно использовать зимозан или липополисахарид (LPS). В большинстве случаев используют λ-каррагенин из-за развития мощной воспалительной реакции.

Введение исследуемых препаратов

Для изучения эффектов препаратов в модели острого воспаления могут быть использованы различные пути введения, но наиболее распространенный - способ, являющийся аналогом планируемого пути введения человеку в клинической практике. Не исключаются и другие пути введения, например, в полость воздушного мешочка. Выбор способа введения должен быть научно обоснован.

Время введения тестируемого ЛС или референтного препарата в группе положительного контроля (например, индометацин или дексаметазон) должны быть определены в соответствии с фармакокинетикой препаратов. Как правило, индометацин вводят непосредственно перед инъекцией каррагенина, тогда как дексаметазон вводят за 3 часа до индукции воспаления [14]. Все исследуемые объекты в эксперименте вводят однократно.

Эвтаназия животных

В зависимости от анализируемых па-

раметров животных эвтаназируют от 1 часа до 24 часов после индукции воспаления [12] путем помещения животного в CO_2-камеру, в условиях постепенного заполнения камеры диоксидом углерода.

5. Сбор экссудата из воздушного мешочка

После эвтаназии, животному в полость воздушного мешочка вводят 5 мл раствора для промывания (шприц 5 мл, игла диаметром 23G от шприца объемом 2 мл) и мягко массируют область мешочка для смешения содержимого. Раствор для промывания представляет собой 2% раствор ЭДТА (10 г ЭДТА смешивают с 500 мл 0,9% физиологического раствора). ЭДТА добавляют с целью предотвращения агрегации клеток.

Далее содержимое мешочка вскрывают. В соответствии с протоколом 5.6.1-5.6.8 в области мешочка ножницами делают сагиттальный разрез приблизительно 2 см. Далее пипеткой собирают весь воспалительный экссудат в стерильные центрифужные пробирки объемом 15 мл [12]. Пробирки с экссудатом сразу после забора должны быть помещены на лед с целью сохранения уровней исследуемых показателей.

По собственному опыту рекомендуется при заборе экссудата брать животное вертикально за воздушный мешочек и делать горизонтальный надрез около 3 мм в верхней части воздушного мешочка (рис. 3). Экссудат рекомендуется собирать путем помещения в разрез шприца объемом 10 мл с атравматичным зондом вместо иглы (рис. 4).

Оцениваемые показатели

Для оценки степени воспаления и эффективности исследуемых лекарственных средств используются различные параметры. Например, измерение объема экссудата, анализ про-и противовоспалительных медиаторов (IL-1β, TNFα, IL-6, IL-10, PGE_2), определение NO, общего белка, анализ клеточного состава экссудата.

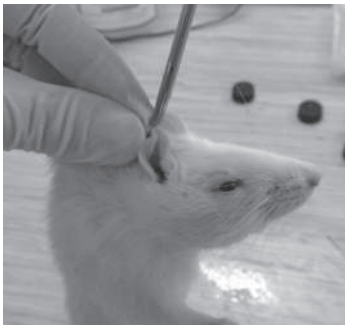


Рис. 3. Вскрытие «каррагенинового воздушного мешочка» у крысы

Рис. 4. Забор экссудата из полости воздушно мешочка с использованием атравматичного зонда

Кроме того, противовоспалительную активность препаратов можно оценить по результатам гистологического исследования стенок воздушного мешочка [13].

Подготовка проб экссудата к анализу

Экссудат центрифугируют 10 мин при 1000xg, при 4°C. Отбирают 1 мл супернатанта, аликватируют и замораживают при -20°C для сохранения уровней исследуемых показателей, если анализ исследуемых параметров будет выполнен не сразу. Анализ провоспалительных медиаторов, таких как IL-1β, TNFα, IL-6, IL-10, PGE2 чаще всего проводят с использованием коммерчески доступных наборов для иммуно-ферментного анализа.

Модель «каррагенинового воздушного мешочка» на крысах

Для воспроизведения модели у мышей, как и у крыс, подкожно в основание собранной кожной складки за ушами вводят 5 мл воздуха (шприц 5 мл, игла диаметром 26G от шприца объемом 1 мл) с последующим повторным введением 2 мл воздуха через 3 дня после первой инъек-

Рис.5. Сформированный воздушный мешочек у мыши.

ции для поддержания мешочка (рис. 5). Чтобы вызвать воспаление через 6 дней после первой инъекции воздуха, вводят 1 мл 1% раствора λ-каррагенина в сформированный мешочек. После эвтаназии мышам внутрь мешочка вводят 1 мл раствора для промывания.

Предупреждение ошибок

Животные до начала эксперимента должны пройти адаптацию не менее 1 недели, чтобы предупредить влияние стресса.

Все манипуляции с экссудатом, супернатантом и клетками необходимо проводить на льду с целью сохранения исходных уровней анализируемых показателей и свести к минимуму гибель клеток.

Важно контролировать в экссудате возникновение процессов синтеза и катаболизма. Например, если планируется измерять уровень простагландинов, то в экссудат в состав раствора для промывания должны быть включены ингибиторы циклооксигеназы, для предотвращения синтеза ex-vivo эйкозаноидов [12].

Ожидаемые результаты

Теоретически выход экссудата из воздушного мешочка у крыс составляет, как правило, 7 мл: 5 мл раствора для промывания и 2 мл раствора каррагенина. Для мышей объем экссудата также эквивалентен сумме вводимых растворов и составляет 2 мл. Тем не менее, выделенный объем экссудата может варьировать.

Время между первой инъекцией воздуха и введением каррагенина влияет на величину воспалительного ответа. Так если каррагенин вводить меньше чем через 6 дней после первой инъекции воздуха, то общая воспалительная реакция будет снижена. Сами по себе стенки нестимулированного воздушного мешочка выстланы преимущественно моноцитами/макрофагами, число которых при непосредственном выделении составляет от $1x10^6$ до $5x10^6$ клеток. По результатам собственных микроскопических исследований стенка воздушного мешочка у интактного животного, образована волокнистой соединительной тканью, состоящей преимущественно из тонких коллагеновых волокон и клеток фибробластического ряда, и формирует выросты, выстланные клетками, морфологически схожими с синовиоцитами синовиальной оболочки сустава (рис. 6). Значительная клеточная инфильтрация происходит в ответ на введение каррагенина. В течение первых 24 часов инфильтрат в основном состоит из полиморфноядерных клеток (80-90%) с постепенным увеличением мононуклеарных клеток до 25% от общего объема через 48 ч. Гистологически после введения каррагенина, отмечается утолщение и гиперплазия стенки, сопровождающееся умеренной и выраженной диффузной смешанноклеточной, преимущественно нейтрофильной и лимфоцитарной воспалительной инфильтрацией, как самой стенки мешочка, так и подлежащей жировой ткани (рис. 7). Инъекция каррагенина в воздушный мешочек вызывает заметное увеличение выделения медиаторов таких как простагландины, лейкотриены, цитокины. Увеличение этих медиаторов, как правило, наблюдается в течение часа после инъекции каррагенина и образует пики в различные моменты времени, в зависимости от изучаемого параметра.

В таблице 1 перечислены эффекты препаратов, которые обычно используют в качестве положительного контроля, на крысах и мышах в модели «карраге-

Таблица 1

Эффекты противовоспалительных препаратов на модели «каррагениновый воздушный мешочек»

Вид жи-вотн ых	Источ-ник	% р-ра каррагени на/ Время забора экссудата	Анализируемые параметры в экссудате	Уровень параметров в кон-трольной группе	Позитивный контроль/ уровень параметра
кры-сы	Sedgwick and Lees, 1986 [1]	1% / 6ч	Общее кол-во лейкоцитов, х 10^6/ мл	≈16	Дексаметазон (80 мг/кг)/ ≈8; Дексаметазон (160 мг/кг)/ ≈ 6
			PGE_2, нг/мл	≈11	Дексаметазон (80 мг/кг)/ ≈9; Дексаметазон (160 мг/кг)/ ≈ 6
	Futaki et al., 1993 [18]	1% /3ч	PGE_2, (% относи-тельно интактной группы)	683±12	Индометацин (3 мг/кг)/ 52,8±12,0
	Kim et al., 2006 [19]	1% 24ч	PGE_2, нг/мл	≈26	Индометацин (5 мг/кг)/ ≈6
мы-ши	Romano et al., 1997 [20]	1% /24ч	Общее кол-во лейкоцитов, х 10^6/ мл	28,95±8,4	Дексаметазон (0,2% с питье-вой воде)/ 0,62±0,19; Индоме-тацин (2 мг/кг)/ 13,8±1,35
			TNFα, пг/мл	1470±480	Дексаметазон (0,2% с питье-вой воде)/ < 50, Индометацин (2 мг/кг)/ 110±40
			PGE_2, пг/мл	> 3200	Дексаметазон (0,2% с питье-вой воде)/ 983±659, Индоме-тацин(2 мг/кг)/1170± 1523
	Vigil et al., 2008 [21]	1% /24ч	Общее кол-во лейкоцитов, х 10^6/ мл	7,9 ± 0,2	Дексаметазон (0,5 мг/кг)/ 3,8 ± 0,2, Индометацин (5 мг/ кг)/ 2,7 ± 0,3
			Общее кол-во нейтрофилов, х 10^6/мл	7,4 ± 0,1	Дексаметазон (0,5 мг/кг)/ 2,9 ± 0,2, Индометацин (5 мг/ кг)/ 2,0 ± 0,4
			IL-1β, пг/мл	2066,0 ± 4,0	Дексаметазон (0,5 мг/кг)/ 24,3 ± 5,8 ,Индометацин (5 мг/кг)/ 645,9 ± 297,3
			TNFα, пг/мл	5283,0 ± 529,1	Дексаметазон (0,5 мг/кг)/ 2799,0 ± 179,9, Индометацин (5 мг/кг)/5225,0 ± 325,4
			NO, мкмоль	12,7 ± 0,2	Дексаметазон (0,5 мг/кг)/ 5,2 ± 0,4, Индометацин (5 мг/кг)/8,2 ± 1,0
	Min et al., 2010 [22]	2% /24ч	TNFα, нг/мл	≈0,8	Индометацин (5 мг/кг)/ ≈0,5
			PGE_2, нг/мл	≈9	Индометацин (5 мг/кг)/ ≈3
			IL-1β, нг/мл	≈2,2	Индометацин (5 мг/кг)/ ≈0,4
			Общий белок, мг	≈0,29	Индометацин (5 мг/кг)/ ≈0,10

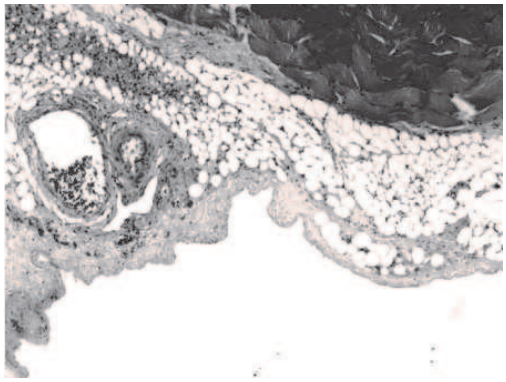


Рис. 6. Срез стенки воздушного мешочка интактной крысы (стрелкой указаны выступы сходные с синовиацитами). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 50.

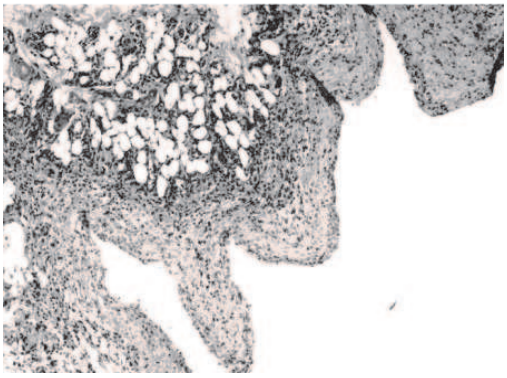


Рис. 7. Срез стенки воздушного мешочка через 6 часов после введения каррагенина (стрелкой указаны выступы сходные с синовиацитами). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 50.

ниновый воздушный мешочек».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, модель 6-дневного каррагенинового воздушного мешочка у крыс и мышей близко имитирует многие аспекты воспаления суставов, является идеальной моделью для изучения противовоспалительных эффектов стероидных и нестероидных препаратов (НПВП), а также для изучения гранулематозного воспаления [23], разрешения острого воспаления [24, 25] и оценки окислительного стресса. [26]

Важно понимать, что условием успешного выполнения фармакологического эксперимента является отработка модели, которая позволит подобрать информативные показатели оценки воспаления, выбрать временные точки.

Model of acute inflammation: carrageenan air pouch.

A. Katelnikova, K. Kryshen, A. Muzhikyan, M. Makarova, V. Makarov.

ABSTRACT

The development of new drugs to treat inflammatory diseases relies on the existence of suitable animal models. Experimental models of cavity inflammation are of special interest and relevance to arthritis, since this inflammation is localised in the synovial cavity. The subcutaneous air pouch is an in vivo model that can be used to study acute inflammation, the resolution of the inflammatory response, and the oxidative stress response. Inflammation is induced in the 6-day-old rat or mouse air pouch by injection of carrageenan. Besides carrageenan, other irritants such as zymosan or lipopolysaccharide (LPS) can be used to induce inflammation in this model. The model is characterized in terms of leukocyte influx, granuloma formation, increase of exudate volume, total protein, proinflammatory mediators such as NO, prostaglandins, TNFα, IL-1β. In this review main requirements and especially the methodology of model of acute inflammation «carrageenan air pouch» execution are considered.

Key words: carrageenan, carrageenan air pouch, acute inflammation, synovial cavity.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sedgwick A.D., Lees P.A. Comparison of air pouch, sponge and pleurisy models of acute carrageenan inflammation in the rat // Agents Actions. -1986. -Vol.18. -P.439-446.
2.Martin S.W., Stevens A.J., Brennan B.S. The six-day-old rat air pouch model of inflammation: characterization of the inflammatory response to carrageenan // J. Pharm. Tox. Methods. -1994. -Vol.32. -P.139–147.
3. Sedgwick A.D., Sin Y.M. Increased in-

flammatory reactivity in newly formed lining tissue // J. Path. –1983. -P.483-495.
4. Edwards J.C.W., Sedgwick A.D. The formation of a structure with the function of synovial lining by subcutaneous injection of air. An invivo tissue culture system // J. Path. –1981. -Vol.134. -P.147-156.
5. Selye H. On the mechanism through which hydrocortisone affects the resistance of tissue to injury // J. Am. Med. Assoc. -1953. -Vol.152. -P.1207- 1213.
6. Konno S., Tsurufuji S. Induction of zymosan-air-pouch inflammation in rats and its characterization with reference to the effects of anticomplementary and anti-inflammatory agents // Br. J. Phar. –1983. -Vol.80. -P.269-277.
7. Ishikawa H., Niinobe S., Tsurufuji S. Studies on the mode of action of anti-inflammatory agents. Quantitative analysis of anti-inflammatory effects by carboxymethyl cellulose pouch method // Yakugaku Zasshi. –1968. -Vol.88. -P.1472-1477.
8. Gordon T.P., Kowanko I.C., James M. Monosodium urate crystal-induced prostaglandin synthesis in the rat subcutaneous air pouch // Clin. Exp. Rheumatol. -1985. -Vol.3. -P.291-296.
9. Nagase M., Baker D.G., Schumacher J. Prolonged inflammatory reactions induced by artificial ceramics in the rat air pouch model // J. Rheumatol. –1988. -Vol.15. -P.1334 1338.
10. Fukuhara M., Tsurufuji S. The effect of locally injected anti-inflammatory drugs on the carrageenin granuloma in rats // Biochem Pharmacol. –1969. -Vol.18. -P.475-484.
11.Yoshino S., Cromartie W.J., Schwab J.H. Inflammation induced by bacterial cell wall fragments in the rat air pouch: Comparison of rat strains and measurement of arachidonic acid metabolites // Am. J. Pathol. –1985. –Vol.121. -P.327-336.
12. Current Protocols in Pharmacology 5.6.1-5.6.8. John Wiley & Sons, Inc. March, 2012.
13. Garcı´a-Ramallo E., Marques T. Resident cell chemokine expression serves as the major mechanism for leukocyte recruitment during local inflammation // J. of Imm. –2002. –Vol.169. -P.6467–6473.
14.Tsuji R., Hoshino K., Noro Y. Suppression of allergic reaction by lambda-carrageenan: toll-like receptor 4/MyD88-dependent and -independent modulation of immunity // Clin. Exp. Allergy. -2003. -Vol. 33. -P.249-258.
15. Sherwood E., Toliver-Kinsky T. Mechanisms of the inflammatory response // Best Practice & Research Cl. Anaest. -2004. -Vol.18. -P.385-405.
16. Friedl H., Till G., Trentz O. Roles of histamine, complement and xanthine oxidase in thermal injury of skin // Am. J. of Pat. -1989. -Vol.135. -P.203-217.
17. Denzlinger C., Rapp S., Hagmann W. Leukotrienes as mediators in tissue trauma // Science. -1985. -Vol.230. -P.330-332.
18. Futaki R., Arai I., Hamasaka Y. Selective inhibition of NS-398 on prostanoid production in inflamed tissue in rat carrageenan-air-pouch inflammation // J. Pharm. –1993. -Vol.45. –P.753-755.
19. Kim J.Y., Hwang Y.P. Inhibitory effect of the saponins derived from roots of platycodon grandiflorum on carrageenan-induced inflammation // Biosci. Biotechnol. Biochem. –2006. -Vol.70. –P.858–864.
20. Romano M., Faggioni R., Sironi M. Carrageenan-induced acute in- flammation in the mouse air pouch synovial model. Role of tumour necrosis factor // Mediators Inflamm. -1997. -Vol.6. –P.32-38.
21. Vigil S.V., Liz R. Efficacy of tacrolimus in inhibiting inflammation caused by carrageenan in a murine model of air pouch // Transplant Immunology. –2008. -Vol.19. –P.25–29.
22. Sung-Won Min, Su-Noh Ryu. Anti-inflammatory effects of black rice, cyanidin-3-O-β-D-glycoside, and its metabolites, cyanidin and protocatechuic acidInternational // Immunopharm. –2010. -P.959–966.
23. Vane J.R., Mitchell J.A., Appleton I.

Inducible isoforms of cyclooxygenase and nitric-oxide synthase in inflammation // Proc. Natl. Acad. Sci. U. -1994. -Vol.91. – P.2046–2050.
24.Ariel A., Serhan, C.N. Resolvins ad protectins in the termination program of acute in- flammation. Trends Immunol. -2007. -Vol.28. –P.176–183.
25. Serhan C.N., Krishnamoorthy S., Recchiuti A., Chiang, N. Novel anti-inflammatory pro-resolving mediators and their receptors // Curr. Top. Med. Chem. -2011. -Vol.11. –P.629–647.
26. Jain M., Parmar, H.S. Evaluation of anti-oxidative and anti-inflammatory potential of hesperidin and naringin on the rat air pouch model of inflammation // Inflamm. Res. -2011. -Vol.60. -P.483– 491.

УДК: 612.67

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ БОЛИ И НОЦИЦЕПЦИИ

Шекунова Е.В.[1,2], Кашкин В.А.[1,2], Макарова М.Н.[1], Макаров В.Г.[1]
[1] - Санкт-Петербургский институт фармации; [2] – Институт фармакологии им. А.В.Вальдмана ПСПбГМУ им. акад. И.П.Павлова

РЕЗЮМЕ

Проблема изучения боли и ноцицепции является одним из актуальных направлений современной биомедицины. Тесты с использованием аверсивных стимулов различной модальности (термических механических, электрических, химических) позволяют оценивать ноцицептивные реакции. Однако понятия «боль» и «ноцицепция» не идентичны. Ноцицепция - это нейрональные процессы кодирования и обработки повреждающих стимулов, а боль определяется как эмоциональное переживание, возникающее в ответ на повреждение тканей. В последние годы появились новые методические подходы, позволяющие оценивать не только ноцицептивные рефлексы, но и моделировать боль у лабораторных грызунов. Все это позволяет совершенствовать трансляционные исследования в биомедицине. В этом отношении, большое значение имеет подбор адекватных экспериментальных моделей, тестов и процедур, отвечающих целям эксперимента, а также выбор релевантных протоколов исследования.

Ключевые слова: боль, ноцицепция, экспериментальная модель, аналгезия, грызуны.

ВВЕДЕНИЕ

Боль – это не только симптом многих острых и хронических заболеваний, но и сложный психофизиологический феномен. Общим свойством разных по своей модальности стимулов, способных вызвать боль, является повреждение тканей. В начале 20-го века английский физиолог Ч.С. Шеррингтон ввел понятие «ноцицепция» (от латинского «nocere» - причинять вред) [1]. Однако понятия «боль» и «ноцицепция» не идентичны. Согласно определению, данному Международной Ассоциацией по изучению боли (International Association for the Study of Pain (IASP)), ноцицепция - это «нейрональные процессы кодирования и обработки повреждающих стимулов», а боль определяется как «неприятное ощущение и эмоциональное переживание,

возникающее в связи с настоящей или потенциальной угрозой повреждения тканей» [2]. Ноцицепция включает и обработку информации на уровне периферической и центральной нервной системы, что дает возможность незамедлительного рефлекторного реагирования на повреждающий стимул [3]. Напротив, боль это осознанный субъективный опыт, психофизиологический феномен, вовлекающий механизмы формирования эмоций, моторные, гуморальные и гемодинамические проявления [4].

Проблема медикаментозного обезболивания продолжает оставаться одной из наиболее актуальных в современной медицине. Необходимым условием для поиска новых средств фармакотерапии боли является совершенствование и разработка экспериментальных моделей, наиболее полно воспроизводящих клинические симптомы боли.

В клинике, степень выраженности болевых ощущений оценивается пациентами вербально, что невозможно воспроизвести в экспериментах на лабораторных животных. Поэтому большинство методических подходов, используемых в экспериментах на животных, по сути, являются методами, позволяющими изучать ноцицепцию. Конечно, при определенных условиях, не остается сомнений в том, что животное чувствует боль – например, в случае возникновения вокализации в ответ на повреждающий стимул. С другой стороны, если даже отсутствуют явные проявления болевой реакции (вокализация, избегание), невозможно утверждать, что животное в данный момент не испытывает болевых ощущений.

Важным является и то, что признаки болевого поведения могут существенно различаться у животных разных видов. Детальное описание видоспецифичных реакций на болевой стимул само по себе является важным звеном в изучении ноцицепции и боли в эксперименте. Однако в большинстве случаев в лабораторных условиях для скрининга веществ, потенциально обладающих анальгетической активностью, используют грызунов (крыс, мышей). Ниже приведен краткий обзор основных тестов, широко применяемых в настоящее время для оценки боли и ноцицепции на лабораторных грызунах.

Ноцицептивные тесты

В ноцицептивных тестах используют электрические, термические, механические, или химические стимулы. В большинстве случаев оцениваемым параметром является латентный период реакции, направленной на избегание стимула, например, отдергивание лапы или хвоста.

Электрическая стимуляция

Электрическая стимуляция не является тем видом повреждающего стимула, который встречается в естественной среде обитания. Тем не менее, используемые в клинике аналгетики показывают эффективность на моделях данной группы. В тестах с электрической стимуляцией интенсивность серий отдельных стимулов продолжительностью в несколько сотен миллисекунд постепенно нарастает. Ток может подаваться через электроды, расположенные подкожно в хвосте [5-7] или через пол камеры, в которую помещают животное [8]. В качестве оцениваемых показателей выступает рефлекторное отдергивание хвоста (в первом случае), вздрагивания, прыжки (во втором), вокализации, которые могут отражать и аффективный аспект болевого поведения [9]. Надо отметить, что реакция на стимул, которую можно определить как «вздрагивание» - «flinching» - у грызунов не является достаточной для того, чтобы остановить тест, так как эта реакция может отражать сенсорную реакцию на стимул, а не ноцицептивную, поэтому для получения релевантных результатов необходима оценка всей последовательности поведенческих элементов [3]. В лю-

бом случае, как и при проведении других ноцицептивных тестов, критерии остановки теста должны быть четко установлены и определены заранее.

Термическая стимуляция

Данные тесты, пожалуй, наиболее широко используются для проведения скрининговых исследований. В коммерчески доступных приборах интенсивность термического стимула четко контролируется. Латентный период ноцицептивной реакции обычно составляет от 5 до 10 секунд. Подача стимула автоматически прекращается, как только зафиксирована поведенческая реакция (например, тест отдергивания хвоста - «tail-flick»). В тесте «горячая пластина» («hot-plate») исследователь должен незамедлительно извлечь животное из экспериментального бокса, как только была продемонстрирована ноцицептивная реакция. Во всех тестах устанавливается предельное время стимуляции (*cut off time*) во избежание повреждения тканей.

Тест отдергивания хвоста является одним из наиболее используемых тестов в экспериментальной фармакологии [10]. Стимул подается в виде сфокусированного пучка света на дорсальную или вентральную (в зависимости от модификации прибора) поверхность хвоста («tail-flick test»). Разновидностью теста является процедура, при которой хвост животного опускают в нагретую до определенной температуры воду («tail immersion test») [11]. Преимуществом использования воды является возможность изменения температурного воздействия в широком диапазоне. Использование более низких температур позволяет тестировать аналгетики с умеренной фармакологической активностью.

Рефлекс отдергивания хвоста является спинальным, так как он присутствует у спинализированных животных. При определенных условиях рефлекс подвержен и супраспинальным влияниям [12]. Латентный период реакции зависит от места приложения стимула: время реакции снижается по мере удаления точки приложения стимула от основания хвоста [13].

В тесте «горячая пластина» животное помещается на нагретую до определенной температуры (от 42º С до 53 ºС) площадку. Ноцицептивная реакция в данном случае состоит в облизывании лап и прыжках. Поведение облизывания лап чувствительно к действию опиатов, в то время как аналгетики, обладающие меньшим обезболивающим потенциалом, например, парацетамол, увеличивают латентный период прыжков, особенно при температуре нагрева 50 ºС [14].

Поведение мышей в данном тесте довольно стереотипно, в то время крысы демонстрируют гораздо больший спектр поведенческих болевых реакций, включающих перетаптывания, замирания, подъемы на задние лапы и так далее. Комплекс наблюдаемых элементов индивидуален, именно это обстоятельство делает сложным четкое определение латентного периода болевой реакции у крыс, что, в итоге, приводит к большому разбросу параметра внутри группы.

В конце 80-х годов был предложена процедура, состоящая в регистрации порогов на термический стимул, направленный на плантарную поверхность правой и левой задних лап у свободно передвигающихся животных (тест Харгривса) [15]. Перед проведением теста животное должно быть очень хорошо приучено к условиям проведения процедуры, что удлиняет общее время эксперимента.

При проведении тестов важно помнить, что стресс и вызванная стрессом анальгезия влияют на оцениваемые показатели. Для получения более точных результатов может потребоваться проведение нескольких повторных тестов (например, для точной оценки исходной чувствительности). Вместе с тем, животные могут обучаться избегать стимуляции

(в особенности, в тесте «горячая пластина»). Поэтому в исследования необходимо включение контрольной группы, что позволяет оценить вклад этих факторов. При грамотном проведении этих тестов, они дают стабильные и хорошо воспроизводимые результаты.

Регистрация ноцицептивного ответа на холодовой стимул является несколько более трудоемкой задачей, по сравнению с оценкой ответа на высокотемпературную стимуляцию. Для того чтобы оценить выраженность холодовой аллодинии, на дорсальную или плантарную поверхность задней лапы крысы наносят каплю ацетона [16]. Испаряясь, ацетон охлаждает поверхность лапы, что в норме не вызывает болевой реакции, но у животных с нейропатической болью индуцирует ноцицептивный ответ, или аллодинию (то есть ноцицептивную реакцию на стимул, обычно не вызывающий поведенческий ответ). Еще одним вариантом проведения теста с использованием холодового стимула является тест «холодная пластина». В данном тесте используют бальную шкалу, оценивающую выраженность ноцицептивного поведения за фиксированный интервал времени. Более точным методом оценки реакции может быть фиксация продолжительности элементов ноцицептивного поведения за время наблюдения.

Механическая стимуляция.

Механическая стимуляция с помощью калиброванных филаментов (или нитей) фон Фрея является процедурой, заимствованной из клиники. Данная процедура используется для определения степени выраженности аллодинии у пациентов, страдающих нейропатической болью. Филаменты представляют собой набор пластиковых нитей, увеличивающихся в диаметре. Определение порога тактильной реактивности проводят с помощью набора из 8 стандартных нитей фон Фрея. При проведении теста на крысах жесткость нитей, выражаемая как минимальное усилие необходимое для сгибания волоска, возрастает логарифмически с абсолютными значениями от 0,692 г до 28,840 г. У каждой крысы порог поочередно определяют на каждой лапе. Кончиком нити прикасаются к середине плантарной поверхности лапы с усилием, необходимым для сгибания волоска, и удерживают волосок в таком положении 6-8 секунд. Положительный ответ регистрируется, если животное резко отдергивает лапу во время касания. Тест можно проводить и на мышах, при этом используют нити меньшего диаметра.

В норме здоровые животные не реагируют на механическую стимуляцию в указанном диапазоне. Однако животные с болевым синдромом (например, нейропатическая боль), реагируют на стимуляцию. Сама процедура тестирования может различаться: например, нить одного и того же диаметра прикладывается к лапе определенное количество раз, фиксируют количество положительных ответов. Другим вариантом проведения теста является процедура титрования, при которой поочередно прикладывают нити меньшего или большего диаметра, в зависимости от наблюдаемой реакции: если животное отреагировало на стимуляцию, используют нить меньшего диаметра, если нет – большего [17] . В зависимости от используемого протокола полученные данные могут сильно различаться между лабораториями. Важную роль при проведении этого теста играют и такие детали как угол, под которым прикладывается к лапе нить, усилие, с которым совершается воздействие, и наконец, такой субъективный фактор, как определение той или иной реакции животного, как ноцицептивной.

Механический порог реакции может быть определен в тесте Рандалл-Селлито [18], который является классическим тестом для измерения механических порогов реакции, механической аллодинии

или гипералгезии. Заднюю лапу животного помещают между двух пластин, затем осуществляется нарастающее контролируемое сдавление пластин. Регистрируемым параметром является сила воздействия (в граммах), при которой наблюдают проявления ноцицептивной реакции. При правильном проведении данный тест дает стабильные и воспроизводимые результаты, но требует от экспериментатора хорошей подготовки, а также тщательной габитуации животных к условиям проведения теста.

Химическая стимуляция

Для индукции болевой реакции используются различные раздражающие химические агенты: формалин, капсаицин, уксусная кислота. Широко распространено использование формалина. Формалин вводят в дорсальную или плантарную поверхность задней лапы, в вибриссную подушку (орофациальный формалиновый тест), что индуцирует комплекс поведенческих реакций: облизывание, покусывания лапы, поднятия лапы в первом случае, прыжки, вздрагивания и интенсивный груминг – во втором.

У грызунов инъекция формалина вызывает бифазный поведенческий ответ. Первая фаза – реакция в течение первых минут после введения формалина, связана с прямой стимуляцией ноцицепторов и чувствительна к воздействию местных анестетиков. Вторая фаза – реакция, которая фиксируется спустя 10-12 минут после введения формалина и продолжается в течение 20 – 40 минут, затрагивает механизмы развития воспаления и центральной сенситизации [19]. Некоторые исследователи выделяют ингибиторную фазу формалинового теста [20], которая наблюдается между первой и второй фазой и выражается в кратковременном (от 2 до 4 минут) затухании ноцицептивных поведенческих реакций. Механизмы, обуславливающие эту фазу, связывают с активацией эндогенной системы обезболивания.

Введение химического агента в брюшную полость вызывает ноцицептивный ответ, который внешне фиксируется в виде характерных движений - «корчах». Вызванные уксусной кислотой корчи у мышей являются часто используемой моделью ноцицептивного раздражения висцеральных рецепторов [21]. Измеряют число ответов за период наблюдения. Интенсивность «корчей» снижается со временем естественным образом, так что оценить продолжительность действия аналгетика на этой модели нельзя. [1]. Преимущество метода в том, что даже анальгетики с умеренной активностью эффективно снижают количество «корчей». Однако тест обладает низкой селективностью, так как фармакологические вещества, не относящиеся к аналгетикам, такие как антигистаминные препараты, спазмолитики, ингибиторы МАО, снижают количество ноцицептивных ответов. Поэтому положительный результат, полученный с использованием этого теста, не дает гарантии, что тестируемое вещество обладает анальгетическим потенциалом [1]. С другой стороны, поскольку абсолютно все аналгетики эффективны в данной модели, тест полезен для скрининга молекул с неизвестным фармакодинамическим профилем. Несмотря на низкую селективность, эффективные дозы анальгетиков, рассчитанные с помощью этого теста, проведенного на крысах, хорошо коррелируют с эффективными клиническими дозами препаратов [22].

Модели боли

Весь спектр существующих тестов, позволяющих оценивать острые ноцицептивные реакции в эксперименте, недостаточен для проведения трансляционных исследований по изучению боли и механизмов обезболивания, так как чаще наблюдаются хронические болевые синдромы.

Модели воспалительной боли

При повреждении тканей в результате аутоиммунного процесса или внешнего воздействия, иммунная система реагирует на повреждение путем высвобождения медиаторов воспаления, которые активируют ноцицептивную систему [23]. Большинство экспериментальных моделей воспаления заключается во введении веществ, которые активируют иммунный ответ, либо непосредственно приводят в высвобождению медиаторов воспаления. Формалиновый тест в этом контексте может рассматриваться как кратковременная модель воспалительной боли. Наиболее часто в экспериментах используют вещества, обладающие сильным антигенным потенциалом, такие как полный адьювант Фрейнда или каррагенин. Введение этих агентов, например, в плантарную поверхность лапы животного ведет к развитию термической и механической гипералгезии и аллодинии.

Введение провоспалительных агентов в суставную полость используется для моделирования суставных болей. При этом с течением времени развиваются дегенеративные изменения сустава, отражающие патологически процессы, наблюдаемые при артрите. Развитие артрита, в том числе и во многом, отражающего симптоматику развития ревматоидного артрита, можно получить и при введении адьюванта Фрейнда в основание хвоста или в лапу животного. Разработаны модели коллаген-индуцированного и адьювант – индуцированного артрита [24;25]. Подобные подходы позволяют воспроизводить развитие полиартрита у животных.

Модели нейропатической боли

В клинике в большинстве случаев нейропатическая боль является следствием поражений периферических нервов, последствием травмы, сдавления, либо вследствие развития сахарного диабета. Однако нейропатическая боль может стать и результатом развития инфекционных заболеваний, воздействия нейротоксичеких агентов (например, злоупотребление алкоголем), может иметь и центральный генез. Симптомы нейропатической боли включают изменения тактильной чувствительности, спонтанную боль, которая может быть постоянной или приступообразной, а также включают развитие гипералгезии и аллодинии.

На грызунах разработано довольно большое количество моделей нейропатической боли. Большинство моделей основано на травматизации седалищного нерва. Широкое применение данного подхода определятся относительной простотой хирургической манипуляции: седалищный нерв относительно легко выделить, а также удобством регистрации болевой чувствительности. Порог реакции определяют на ипсилатеральной к месту перевязки задней лапы, в то время как контрлатеральная лапа служит контролем. Одной из наиболее часто используемых в эксперименте моделей является модель хронического сдавления нерва (CCI – chronic constriction injury). Патология индуцируется путем накладывания трех или четырех лигатур на седалищный нерв [26]. Эта модель позволяет воспроизводить основные симптомы нейропатической боли - гипералгезию и аллодинию. Существуют и другие технические манипуляции, ведущие к повреждению седалищного нерва, например, накладывание пластиковой манжеты вокруг нерва [27], частичное сдавление нерва (PSL - partial sciatic nerve ligation) [28], перевязка спинальных нервов на уровне сегментов L5 и L6 (SPN - spinal nerve ligation) [29], модель частичного повреждения нерва (SNI – spared nerve injury), в которой две из трех две ветвей седалищного нерва перевязывают, после чего осуществляется дистальная аксотомия, при этом третья ветвь нерва остается интактной [30]. До того, как были разработаны эти модели, исследователи, в основном, использовали перерезку седалищного нерва для индук-

ции нейропатической боли у грызунов. Однако этот подход очень часто приводил к аутотомии конечности, то есть животное само травмировало денервированную конечность, вплоть до полного ее ампутации. Первоначально расцениваемое как показатель нейропатической боли, в настоящее время поведение аутотомии рассматривается как недопустимое с точки зрения гуманных принципов обращения с животными.

Современные тенденции в моделировании боли и ноцицепции в эксперименте

В последние годы активно предпринимаются попытки моделирования именно боли, а не просто ноцицептивных рефлексов, на грызунах, что довольно сложно, ведь боль – это субъективный опыт. Современные методические подходы к изучению боли на грызунах с целью реализации данной задачи задействуют весь арсенал существующих методик по изучению поведения лабораторных грызунов.

Одним из таких направлений является методология, основанная на предоставлении животному выбора между обстановкой, ассоциированной с болевыми стимулами и обстановкой, лишенной этих стимулов. Это может быть осуществлено путем проведения теста предпочтения места или теста активного избегания. Животные быстро обучаются избегать бокса, который был ассоциирован с неприятным болевым стимулом (например, введение формалина). Показано, что животные, испытывающие болевые ощущения (например, нейропатическая боль) предпочитают бокс, ассоциированный с введением аналгетиков [31].

В клинике для оценки эмоционального компонента болевой реакции используют шкалу, которая оценивает по состоянию мимической мускулатуры степень эмоционального напряжения у людей, не имеющих возможности общаться вербально. Не так давно, подобный подход был предложен для оценки степени болевых ощущений у грызунов. Хотя оценка эмоционального состояния по изменениям внешнего вида морды животного затруднительна, подобная шкала («grimace scale») была предложена для оценки степени болевых ощущений для крыс [32] и мышей [33].

Вокализация также является одним из способов выражения эмоций. У грызунов слышимые или не воспринимаемые человеческим ухом ультразвуковые вокализации сопровождают болевые реакции. Грызуны издают ультразвук в диапазоне 20-28 КГц при воздействии острого болевого стимула, в то время как вокализации в диапазоне 22-25 кГц крысы издают в стрессовой ситуации, что делает затруднительным использование этого подхода для оценки именно болевого поведения. Подтвержденных данных о наличии у грызунов специфической частоты вокализаций, ассоциированных с болевым поведением пока нет [3].

Влияние хронической боли на регуляцию сна, когнитивные функции, социальное поведение активно изучается. Было показано, что животные с нейропатической болью, демонстрируют депрессивноподобный паттерн поведения, который проявляется в тесте социального взаимодействия снижением общительности [34]. Такие комплексные поведенческие подходы позволяют более полно оценить весь комплекс патологических изменений психоэмоциональной сферы, индуцированный хроническим болевым воздействием.

Заключение

В настоящий время арсенал методических подходов для изучения ноцицепции и боли в эксперименте достаточно велик. В последние годы активно ведется поиск новых параметров, которые включали бы в себя не только простые ноцицептивные реакции, но также могли бы охватить весь комплекс патологических изменений, возникающих на фоне хронического болевого воздействия. Прогресс в этом на-

правлении сделает более полноценной возможность трансляции данных, полученных в доклинических исследованиях по изучению механизмов боли и аналгезии и скринингу новых фармакологических агентов, в клинику. Успех зависит от адекватного подбора экспериментальных моделей, тестов и процедур, а также выбора релевантных протоколов исследования.

The experimental models of pain and nociception.

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

ABSTRACT

Nociception and pain are within main fields of both neuroscience and medical research. Tests using stimuli of different modalities (thermal, mechanical, electrical, chemical) allow to measure nociceptive reactions. However there are distinction between nociception and pain. Nociception is a neuronal process of encoding and processing noxious stimuli, whereas pain is an emotional experience associated with tissue damage. More recently, a growing effort has been put to record not only nociceptive reflexes but to assess pain in rodents. This aimed to further improve the translational value of preclinical research. In this respect, the relevance of protocols, using of adequate models, tests and procedures is a critical point.

Key words: pain, nociception, experimental model, analgesia, rodents.

ЛИТЕРАТУРА

1. Le B.D., Gozariu M., Cadden S.W. Animal models of nociception // Pharm. Rev. -2001. -Vol.53. -P. 597-652.
2. Loeser J.D., Treede R.D. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology // Pain. -2008. -Vol.137. -P.473-477.
3. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents // Neuroscience. -2012. -Vol.211. -P.39-50.
4. Игнатов Ю.Д., Зайцев А.А., Михайлович В.А., Страшнов В.И: Адренергическая аналгезия // Экспериментально-клинические аспекты. -СПб. -1994. -215с.
5. Borszcz G.S., Johnson C.P., Fahey K.A. Comparison of motor reflex and vocalization thresholds following systemically administered morphine, fentanyl, and diazepam in the rat: assessment of sensory and performance variables // Pharm. Bioc. Behav. -1994. -Vol.49. -P.827-834.
6. Levine J.D., Feldmesser M., Tecott L. Pain-induced vocalization in the rat and its modification by pharmacological agents // Brain Res. -1984. -Vol.296. -P.121-127.
7. Paalzow L. An electrical method for estimation of analgesic activity in mice. II. Application of the method in investigations of some analgesic drugs // Acta Pharm. Suec. -1969. -Vol.6. -P.207-226.
8. Evans W.O. A critical review of some new methods in animal analgesiometry // J. New Drugs. -1964. -Vol.4. -P.179-187.
9. Borszcz G.S. Pavlovian conditional vocalizations of the rat: a model system for analyzing the fear of pain // Behav. Neurosci. -1995. -Vol.109. -P.648-662.
10. D'Amour F.E, Smith D.L. A method for determing loss of pain sensation // J. Pharm. Exp. Ther. -1941. -Vol.72. -P.74-79.
11. Janssen P.A., Niemegeers C.J. The inhibitory effect of fentanyl and other morphine-like analgesics on the warm water induced tail withdrawl reflex in rats // Arzneimittelforschung. -1963. -Vol.13. -P. 502-507.
12. Jensen T.S., Yaksh T.L. Comparison of the antinociceptive action of mu and delta opioid receptor ligands in the periaqueductal gray matter, medial and paramedial ventral medulla in the rat as studied by the microinjection technique // Brain Res. -1986. -Vol. 372. -P.301-312.
13. Ness T.J., Jones S.L., Gebhart G.F. Contribution of the site of heating to variability in the latency of the rat tail flick reflex // Brain Res. -1987. -Vol.426. -P.169-172.
14. Ankier S.I. New hot plate tests to quantify antinociceptive and narcotic antagonist

activities // Eur. J. Pharm. -1974. -Vol.27. -P.1-4.
15. Hargreaves K., Dubner R., Brown F. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia // Pain. -1988. -Vol.32. -P.77-88.
16. Choi Y., Yoon Y.W., Na H.S., Kim S.H., Chung J.M. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain // Pain. -1994. -Vol.59. -P.369-376
17. Chaplan S.R., Bach F.W., Pogrel J.W. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw // J. Neurosci Methods. -1994. -Vol.53. -P.55-63.
18. Randall L.O., Selitto J.J. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue // Arch. Int. Pharm. Ther. -1957. -Vol.111. -P.409-419.
19. Tjolsen A., Berge O.G. The formalin test: an evaluation of the method // Pain. -1992. -Vol.51. -P. 5-17.
20. Gaumond I., Spooner M.F., Marchand S. Sex differences in opioid-mediated pain inhibitory mechanisms during the interphase in the formalin test // Neuroscience. -2007. -Vol.146. -P.366-374.
21. Vyklicky L. Techniques for study of pain in animals. In: Advances in pain research and therapy. Raven Press. -1979. -Vol.3. –P. 727-745.
22. Collier H.O., Dinneen L.C., Johnson C.A., Schneider C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse // Br. J. Pharm. Chem. -1968. -Vol.32. -P.295-310.
23. Marchand F., Perretti M., McMahon S.B. Role of the immune system in chronic pain // Nat. Rev. Neurosci. -2005. -Vol.6. -P. 521-532.
24. Hegen M., Keith J.C., Jr. Utility of animal models for identification of potential therapeutics for rheumatoid arthritis // Ann. Rheum. Dis. -2008. -Vol.67. -P. 1505-1515.
25. Whitehouse M.W. Adjuvant arthritis 50 years on: The impact of the 1956 article by C. M. Pearson, 'Development of arthritis, periarthritis and periostitis in rats given adjuvants' // Inflamm Res. -2007. -Vol.56. -P. 133-138.
26. Bennett G.J., Xie Y.K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man // Pain. -1988. -Vol.33. -P.87-107.
27. Mosconi T., Kruger L. Fixed-diameter polyethylene cuffs applied to the rat sciatic nerve induce a painful neuropathy: ultrastructural morphometric analysis of axonal alterations // Pain. -1996. -Vol.64. -P.37-57.
28. Seltzer Z., Dubner R., Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury // Pain. -1990. -Vol.43. -P.205-218.
29. Kim S.H., Chung J.M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat // Pain. -1992. -Vol.50. -P.355-363.
30. Decosterd I., Woolf C.J. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain // Pain. -2000. -Vol. 87. -P.149-158.
31. Sufka K.J. Conditioned place preference paradigm: a novel approach for analgesic drug assessment against chronic pain // Pain. -1994. -Vol.58. -P. 355-366.
32. Sotocinal S.G., Sorge R.E., Zaloum A., Tuttle A.H. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions // Mol. Pain. -2011. -Vol.7. -P.55.
33. Langford D.J., Bailey A.L., Chanda M.L. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse // Nat. Methods. -2010. -Vol.7. -P. 447-449.
34. Belozertseva I.V., Shekunova E.V., Nagel J., Danysz W.: Further validation of social interaction test for estimation of pain-related behavioral alteration in rats with neuropathic pain // Soc. Neuros. Abstr. -2009. –Vol.39. –P. 457.24.

УДК: 614

МЕТОДЫ ЭВТАНАЗИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В СООТВЕТСТВИИ С ЕВРОПЕЙСКОЙ ДИРЕКТИВОЙ 2010/63

Рыбакова А.В. - к.в.н., Макарова М.Н. - д.м.н., профессор,
Санкт-Петербургский институт фармации

РЕФЕРАТ

На сегодняшний день процедура эвтаназии лабораторных животных широко распространена и применяется в научно -исследовательской практике, в том числе в доклинических исследованиях лекарственных препаратов. В статье проведен обзор основных вопросов связанных с гуманной эвтаназией лабораторных животных, освещены основные критерии подбора персонала, осуществляющего эвтаназию животных, описаны оптимальные методы и препараты, применяющиеся для эвтаназии лабораторных животных в соответствии с Европейской директивой 2010/63/EU. Согласно принципам гуманной экспериментальной практики, необходимо свести к минимуму страдания животных, в том числе такие состояния, как страх и беспокойство.

При выборе метода эвтаназии необходимо учитывать множество факторов, в том числе размеры животного, его физиологические и видовые особенности. Процедура эвтаназии неизбежно сказывается на патоморфологической картине органов и тканей животных, вызывая в них существенные артифициальные изменения. Таким образом, при проектировании дизайна исследования необходимо учитывать влияние выбранного метода эвтаназии на получаемую патоморфологическую картину изучаемых в эксперименте органов. Специалисты, выполняющие эвтаназию должны быть технически опытными и владеть гуманными методами эвтаназии, знать все клинические проявления этапов процедуры.

Ключевые слова: доклинические исследования, лабораторные животные, гуманные методы эвтаназии.

ВВЕДЕНИЕ

В большинстве случаев в доклинической практике интерес исследователей не ограничивается изучением физиологии животных, анализом показателей крови и мочи. Важным для оценки действия исследуемого препарата является изучение патологоанатомических и гистологических изменений, что предполагает проведение эвтаназии животных [1].

При проведении доклинических исследований эвтаназия лабораторных животных проводиться в двух случаях: если во время эксперимента животное испытывает хронический стресс и при завершении исследования.

В соответствии с гуманными принципами исследователь должен провести процедуру эвтаназии животного, если во время эксперимента оно испытывает страдания и стресс, возникающие под воздействием физических, физиологических, эмоциональных факторов и вызывает серьезные изменения в гомеостазе животного [2]. Эти процессы зачастую ведут к изменению нейроэндокринного состояния животного, что может привести к изменению поведенческих реакций. Ответ животного варьируется в зависимости от его вида, возраста, породы и текущего

физиологического и психологического состояния, а также социальной среды и других факторов [3, 4]. Стресс разделяется на три фазы: эустресс – когда стимулы безвредны и инициируют адаптивные реакции, которые полезны для животного, обычный стресс - возникает, в ответ на нейтральные раздражители, дистресс - состояние, когда ответ на раздражители мешает благополучию и комфорту животного [5].

В клинической ветеринарной практике эвтаназия домашних животных проводится в связи с:

- онкологическими заболеваниями;
- при терминальном состоянии в результате системных нарушений;
- травм несовместимых с жизнью;
- при социально опасных заболеваниях.

В соответствии с принципами гуманной экспериментальной практики (1959) и Европейской директивой 2010/63/EU необходимо свести к минимуму страдания животных, в том числе такие состояния как страх и беспокойство.

Персонал

Специалист, выполняющий эвтаназию должен быть технически опытным, владеть гуманными методами эвтаназии, знать все клинические проявления этапов эвтаназии. Если он недостаточно осведомлен о том, что ожидать, то может интерпретировать любое движение животного, как сознание, и отсутствие движения, как потерю сознания, что приведет к ошибочным действиям. При планировании и проведении эвтаназии, специалисту необходимо учитывать такие показатели, как: размеры животного, его видовые физиологические и поведенческие особенности. Необходимо учитывать, что на начальном этапе выполнения процедуры эвтаназии, нужно снизить развитие эмоционального стресса и боли у животного, так как это может увеличить резистентность организма животного к действию фармакологических средств, используемых в качестве премедикации [6, 7]. Следует отметить, что некоторые поведенческие реакции животных на стресс могут быть интерпретированы не опытным исполнителем неверно. В руководящих принципах для эвтаназии животных AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animald: 2013 edition описаны такие признаки проявления воздействия стресса как: вокализация во время обработки или болезненных процедур, связанная со стрессом [8, 9], вокализация связанная с избыточным давлением, возникающим при фиксации [10, 11]. Слюноотделение, мочеиспускание, дефекация, эвакуация содержимого параанальных желез, тахикардия, потливость и рефлекторные сокращения скелетных мышц вызывающих дрожь и тремор и другие мышечные спазмы могут возникать в бессознательном, а также сознательным состоянии животных. Страх может вызвать неподвижность у некоторых видов животных, таких как кролики и куры [12]. В данном случае эту неподвижность не следует интерпретировать, как потерю сознания. Вокализация, агрессивное поведение, и секреция определенных запахов испуганного животного могут вызвать беспокойство и стресс у других животных [13, 14]. В связи с этим, нежелательно присутствие других животных при выполнении эвтаназии, необходимо обеспечить шумовые и визуальные барьеры [11, 15-18].

При любых обстоятельствах, метод эвтаназии должен быть подобран и использоваться в соответствии с этическими стандартами. Решение об эвтаназии, основывается на рекомендациях ветеринарного специалиста. Методы, при которых прекращается двигательная активность животных, предпочтительнее других методов, связанных с угнетением дыхания, сердечной деятельности и пр. Постоянное участие в процедурах эвтаназии может накладывать определенный отпечаток на сотрудников, ее проводящих.

Это может проявляться неудовлетворенностью в работе, отчужденностью или небрежной и черствой работой с животными.

Для того, чтобы избежать таких случаев, должны проводиться:

- биоэтическая комиссия с полным разбором дизайна исследования с акцентом на гуманные точки и выбранным методом эвтаназии;
- ротация кадров, связанная с оценкой психоэмоционального состояния сотрудника;
- обучение внутри организации с разъяснением необходимости проведения эвтаназии при проведении доклинических исследований;
- обучение вне организации.

Выбор метода эвтаназии

При выборе метода эвтаназии необходимо учитывать, что данные методы должны приводить к быстрой потере сознания, и в дальнейшем сопровождаться остановкой сердца и дыхания, окончательной потерей функции мозга, а также быть надежными, легко выполнимыми и необратимыми.

Так же важно учитывать, что методы эвтаназии могут повлиять на весь организм животного или на отдельные органы, тем самым вызывают появление артефактов, наличие которых необходимо учитывать при обработке полученных результатов. Чаще всего артифициальные изменения можно обнаружить в ткани легких, причем их количество и степень выраженности зависят от вида эвтаназии и от способа его использования [1].

В оценке методов эвтаназии используются следующие критерии:

- способность вызывать потерю сознания и смерть без причинения боли, страданий, беспокойства;
- время, требуемое для потери сознания;
- надежность;
- безопасность для обслуживаемого персонала;
- необратимость;
- совместимость с дизайном исследования;
- эмоциональный эффект оказываемый на персонал;
- возможность последующей оценки, экспертизы или использования тканей;
- потенциальная возможность у человека злоупотребления препаратами для наркоза и эвтаназии;
- совместимость с видом, возрастом и состоянием здоровья;
- наличие специального оборудования.

Агенты используемые для проведения эвтаназии делятся на 3 категории. Выбор агента зависит от того, испытывает животное страдание до потери сознания или нет:

1. агенты оказывающие прямое угнетение функциональных нейронов;
2. агенты вызывающие стойкую гипоксию;
3. агенты вызывающие разрушение структур головного мозга.

Потеря сознания должна предшествовать потере двигательной активности. Агенты и методы, которые предотвращают двигательную активность через паралич мышц, но не блокируют и не нарушают проводимость коры головного мозга или эквивалентные структуры (например, сукцинилхолин, стрихнин, кураре, никотин, калий или магниевые соли), не могут применяться в качестве единственного средства для эвтаназия позвоночных, потому что они не снижают проявления боли и стресса до смерти. Например, магниевые соли являются приемлемыми в качестве единственного агента для эвтаназии для многих беспозвоночных из-за отсутствия доказательств мозговой деятельности [19, 20]. В зависимости от скорости наступления ответной реакции конкретного агента может наблюдаться торможение двигательной активности, сопровождающейся вокализацией и сокращением мышц аналогично тому, что на-

блюдается в начальной стадии наркоза. После атаксии и потери рефлексов возникает последующая двигательная активность, характеризующаяся судорогами, вокализациией и рефлексами борьбы, что можно отнести ко второй стадии анестезии, которая, по определению, длится от потери сознания до наступления апноэ [21, 22]. Гипоксия обычно достигается путем воздействия на животных высоких концентраций газов, что приводит к вытеснению кислорода. Наиболее часто используются: двуокись углерода, азот, аргон, окись углерода, блокирующее поглощение кислорода эритроцитами. Так по многим источникам умерщвление диоксидом углерода более пригодно для изучения структуры легких [2].

Обескровливание, другой способ вызывать смерть животного находящегося без сознания или в агональном состоянии. Как и в других методах эвтаназии, некоторые животные могут проявлять двигательную активность или судороги после потери сознания из-за гипоксии. Однако, эта рефлекторная деятельность сознательно не воспринимается животным. Кроме того, методы, основанные на создании гипоксии не могут быть использованы для рептилий, которые устойчивы к длительной гипоксии.

Методы эвтаназии

Методы эвтаназии разделяют на: 1 - допустимые - те, которые позволяют провести эвтаназию гуманно; 2 - условно-допустимые методы - методы, при которых из-за возможности ошибки оператора или проблем с безопасностью сложно произвести гуманную эвтаназию или - методы, плохо себя зарекомендовавшие; 3 - недопустимые методы - методы, считающиеся негуманными при любых условиях, или при которых существует большой риск для здоровья человека.

Физические методы часто используются в сочетании с забором объема циркулирующей крови для дальнейшего исследования. Эти методы являются недорогими, гуманными и безболезненными, если выполнены надлежащим образом, и исключают негативное влияние фармацевтических препаратов на структуры органов и тканей и тем самым облегчают интерпретацию результатов. Кроме того, животные испытывают меньше страха и тревоги при использовании физических методов, но это требует обязательной подготовки персонала и более прямой связи с животными, которые должны будут умерщвлены. Данный аспект может неблагоприятно влиять на персонал.

Физические методы включают в себя применение огнестрельного оружия, цервикальную дислокацию, обезглавливание, смерть от электрического тока, микроволновое облучение, компрессию грудной клетки, обескровливание, оглушение, разрушение спинного мозга. Эти методы более быстрые, менее безболезненные, более гуманные и практичные, чем другие. Обескровливание, оглушение и разрушение спинного мозга рекомендуются для эвтаназии только в комплексе с другими методами. Физические методы являются самыми гуманными и могут быть наиболее подходящими методами в определенных ситуациях. По данным многих авторов [2] применение таких методов эвтаназии, как декапитация и цервикальная дислокация подходят для изучения органов брюшной полости, без оказания влияния на структуры.

Цервикальная дислокация – если выполняется подготовленным персоналом, считается гуманным. Этот метод применяется для эвтаназии домашней и другой мелкой птицы, мышей, молодых крыс и кроликов. При эвтаназии мышей и крыс, большой и указательный пальцы помещаются с обеих сторон шеи у основания черепа или накладывают металлический ограничитель у основания черепа. Другой рукой делают рывок за основание хвоста или задних конечностей, производя отрыв

Таблица 1

Сводная таблица применимых методов эвтаназии для различных животных в соответствии с Европейской Директивой 2010/63

Вид животного/ методы	Рыбы	Амфибии	Рептилии	Птицы	Грызуны	Кролики	Собаки, кошки, хорьки, лисы	Крупные живот-ные	Нечелове-кообразные обезьяны
Сверхдозы анестетиков	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Травматический стержень	-	-	2	-	-	-	-	-	-
CO_2	-	-	-	-	3	-	-	-	-
Цервикальная дислокация	-	-	-	4	5	5	-	-	-
Удар по голове	-	-	-	7	8	9	10	-	-
Декапитация	-	-	-	11	12	-	-	-	-
Электрический ток	13	13	-	13	-	13	13	13	-
Инертные газы (Ar,N_2)	-	-	-	-	-	-	-	14	—
Специализированное огнестрельное оружие	-	-	15	-	-	-	16	15	-

Примечание:
1. Следует использовать седативные средства, 2. Только для крупных рептилий, 3. Только постепенное заполнение камеры, не используется для новорожденных, 4. Только для птиц менее 1 кг, для птиц более 250 г. следует использовать седацию, 5. Только для грызунов менее 1 кг, для грызунов более 150 г. следует использовать седацию, 6. Только для кроликов менее 1 кг, для кроликов более 150 г. следует использовать седацию, 7. Только для птиц менее 5 кг, 8. Только для грызунов менее 1 кг, 9. Только для кроликов менее 5 кг, 10. Только для новорожденных, 11. Только для птиц менее 250 г., 12. Используется в крайних случаях, когда другие методы невозможны, 13. Необходимо использование специализированного оборудования, 14. Может быть использовано только для свиней, 15. Может выполняться только обученным персоналом, 16. Может выполняться только обученным персоналом, только когда другие методы невозможны.

позвоночника от черепа. При эвтаназии крольчат, голову держат в одной руке, задние конечности в другой. Для домашней птицы этот метод эвтаназии – обычный массовый метод, но он не гарантирует мгновенную потерю сознания. При данном методе достигается достаточно быстрая потеря сознания. Ткани организма химически не загрязняются. Требует технических навыков для гарантии быстрой потери сознания. Использование ограничено домашней и мелкой птицей, молодыми крысами, мышами и кроликами. Обезглавливание может использоваться для эвтаназии грызунов и мелких кроликов. Оно позволяет получить ткани и жидкости организма, а так же анатомически неповрежденные ткани мозга. Доступны гильотины для мгновенного обезглавливания взрослых грызунов и мелких кроликов. Вызывает быструю потерю сознания. Персонал должен соблюдать правила техники безопасности для предотвращения травм. Оборудование должно поддерживаться в хорошем состоянии.

Передозировка ингаляционными анестетиками (эфир, галотан, метоксифлуран, изофлуран, севофлурана, десфлюран, энфлюран) широко используются для эвтаназии в настоящее время [23]. Эвтаназия с применением ингаляционных средств может занять некоторое время, необходимое для достижения определенной концентрации препарата в легких. В большинстве случаев, при высокой концентрации препарата потеря сознания происходит быстрее, и эвтаназия является более гуманной. Оборудование для газовой эвтаназии должно быть исправно. Дефектное оборудование может приводить к медленной и мучительной смерти животного и может быть опасным как для других животных, так и персонала. Большинство препаратов для газовой эвтаназии опасны для персонала из-за возможности взрыва (эфир), наркоза (галотан), кислородной недостаточности (азот, угарный газ), привыкания или эффекта хронического накопления (закись азота). Газовая анестезия применяется по открытому, полуоткрытому, и полузакрытому контуру. Анестезия в прозрачных боксах для премедикации используется для вводной анестезии мелких млекопитающих и применима для птиц. Для животных с нарушенной вентиляцией легких (медленное повышение концентрации препарата), следует применять другие методы. Новорожденные животные более стойки к гипоксии. Для животных в возрасте менее 16 недель ингаляционные препараты рекомендуется использовать только для введения в наркоз, эвтаназию проводить с использованием других методов.

Использование инъекционных препаратов - самый быстрый, надежный и оптимальный метод эвтаназии, так как не вызывает болезненности или страха у животного. Агрессивным, напуганным животным перед введением препарата для эвтаназии необходимо вводить седативные препараты или нейролептики. Если внутривенное введение провести сложно или невозможно, допустимо внутрибрюшинное введение.

Дополнительные методы

Оглушение и разрушение спинного мозга при правильном применении вызывают потерю сознания, но не гарантируют гибель. Поэтому эти методы должны использоваться только совместно с другими процедурами (введение фармакологических препаратов, обескровливания или обезглавливания).

Обескровливание используется для гарантирования гибели животных после оглушения или находящихся без сознания и не может использоваться как монометод.

В нашей лаборатории был проведен анализ изменений, связанных с использованием наиболее распространенных способов эвтаназии. При постепенном увеличении концентрации углекислого газа

наблюдалось спадение ткани легких с максимально выраженными изменениями. Эвтаназия воздушной эмболией не подходит для изучения микроскопического строения легких вследствие возникновения выраженной эмфиземы. После применения цервикальной дислокации и использования препаратов для ингаляционного наркоза структура легких сохраняется, хотя артефактные изменения все же наблюдаются и могут затруднить анализ. Наиболее приемлемые результаты были получены при использовании углекислого газа в концентрации близкой к 100%, поскольку структура легочной ткани страдала незначительно. Полученные данные позволили предложить практические рекомендации по использованию методов эвтаназии мелких лабораторных животных с целью дальнейшего гистологического исследования тканей [2].

Подтверждение смерти

После эвтаназии смерть должна быть обязательно подтверждена и запротоколирована. Животное в глубоком наркозе после введения препарата может казаться мертвым, но, в конечном счете, может вернуться к жизни.

Смерть должна быть подтверждена до утилизации останков животного. Сочетание следующих критериев является наиболее надежным в подтверждении смерти:

- отсутствие пульса;
- дыхания;
- отсутствие роговичного рефлекса;
- невозможность услышать дыхание и сердцебиение с помощью фонендоскопа;
- синюшность слизистых оболочек.

Ни один из этих признаков в одиночку не подтверждает смерть. В сомнительных случаях, проверка смерти может быть дополнена чрезкожной сердечной пункцией после потери сознания у животного. Отсутствие движения иглы и шприца после введения в сердце (предварительно проверив правильное расположение) указывает на отсутствие сердечных сокращений и подтверждает смерть [24].

Средства, применяемые для эвтаназии

Ингаляционные препараты

Фторотан (Phtorothanum) - Наряду с выраженным наркотическим действием, фторотан практически не обладает анальгетическими свойствами. Введение в наркоз, осуществляется при постепенном повышении концентрации до 1-2 об.%, а затем снижении до 0,5-1,5 об.%. Введение в наркоз происходит значительно легче, стадия возбуждения практически не выражена, рвота возникает редко. Фторотан не взрывоопасен, позволяет использовать большие объемы кислорода, что положительно отражается на состоянии организма, обеспечивает хорошую релаксацию мышц, подавляет секрецию слюнных и бронхиальных желез.

Метоксифлуран (Methoxyflurane) (Metafane®, Penthrane®) - обладает выраженным анальгезирующим и релаксирующим действием. Хорошо растворяется в крови, что приводит к длительному введению в наркоз. При его применении наблюдается выраженная стадия возбуждения. Хирургическая стадия наркоза достигается через 5 - 10 мин. после начала подачи анестетика. Возможно применение в сочетании с другими анестетиками. Является условно-допустимым препаратом для эвтаназии (высокая растворимость в крови при медленной анестезии), раздражает слизистую оболочку носа и глаз, огне- и взрывоопасен. Так как метоксифлуран малолетучее вещество, лучше всего использовать его в системах с открытым контуром.

Галотан (Halothane) (Halothan®, Fluothane®) - мощный анестетик и относительно мало раздражающий газ, требующий точного испарителя для применения. При использовании галотана быстро развивается угнетение сердечного рит-

ма. При введении в наркоз используется в дозе 4 об.%. Поддержание анестезии обычно достигается концентрациями анестетика между 1-1,5%. Галотан обладает слабым миорелаксирующим действием, поэтому рекомендуется использовать совместно с курареподобными миорелаксантами. При передозировке - происходит одновременно апное и остановка сердца. Препарат может быть причиной хронических болезней печени у персонала клиники, поэтому наркозная система должна быть оснащена уловителем и местной вытяжкой.

Изофлуран (Isoflurane) (Forane®, Aerrane®, Forene®, IsoFlo®,) универсальный газовый анестетик с быстрым введением в наркоз. В зависимости от дозы изофлуран проявляет угнетающий эффект на дыхательную и сердечно-сосудистую систему. Так как порог насыщения крови изофлураном достаточно низок, газ практически не растворяется в крови, что обеспечивает высокую скорость индукции наркоза. При низком содержании кислорода в дыхательной смеси, анестезия изофлураном приводит к состоянию апное, сердечной аритмии и блокаде сердца. Процедуру эвтаназии проводят до момента прекращения дыхания. Кроме того, необходимо поступление достаточного количества воздуха или кислорода для того, чтобы предотвратить преждевременную гипоксию.

Закись азота (N_2O, Nitrogenium oxidatum) анестетик со слабыми наркотическими и выраженными анальгетическими свойствами. Используется с другими ингаляционными анестетиками для ускорения анестезии, но как монопрепарат не вызывает анестезию у животных даже в 100% концентрации, вызывая гипоксию вплоть до остановки дыхания и сердечной деятельности.

Углекислый газ. Ингаляция CO_2 при концентрации 7,5% повышает болевой порог, более высокие концентрации CO_2 приводят к быстрому анестезирующему эффекту. У крыс 80% концентрация CO_2 обеспечивает анестезию через 12 - 33 секунды, 70% концентрация CO_2 в кислороде вызывает анестезию через 40 - 50 секунд. Обладает быстрым успокаивающим, болеутоляющим и анестезирующим эффектом, легко доступен, недорогой, взрывобезопасен, не поддерживает горение, опасность для персонала минимальна. Поскольку CO_2 тяжелее воздуха, неполное заполнение объема может позволить животным, поднимаясь выше его уровня, избегать его воздействия. Некоторые виды животных (норные, водоплавающие) могут иметь повышенную устойчивость к нему. Частота дыхания у рептилий и амфибий слишком низкая для использования углекислого газа. Эвтаназия с использованием CO_2 может занимать больше времени, чем эвтаназия другими средствами. Высокие концентрации CO_2 могут вызывать мучения у животных и недопустимы к использованию. Рекомендованный источник углекислого газа – сжатый в газовых баллонах. Углекислый газ, полученный другими методами (из сухого льда, огнетушителей, химическими средствами) недопустим. Поток газа должен поддерживаться минимум в течение 1 минуты после очевидной клинической смерти. Если животное не погибло, использование CO_2 совмещают с другими методами эвтаназии.

Азот, аргон. Азот (N_2) и аргон (Ar) - бесцветные газы без запаха, инертные, огне- взрывобезопасны. Эвтаназию проводят, помещая животное в закрытый прозрачный бокс, оснащенной системой подачи газа. Они замещают кислород, вызывая смерть от гипоксии. Крысы теряют сознание при 39% объеме азота через 3 минуты, дыхание прекращается через 5 - 6 минут. Независимо от концентрации газа, до потери сознания и гибели присутствуют признаки возбуждения. Газы легко доступны в сжатом виде. Опасность

для персонала минимальна. Потере сознания предшествуют гипоксия и учащенное дыхание. Повышение концентрации кислорода до 6% и более до момента наступления смерти приводит к восстановлению жизненных функций организма. Использование азота и аргона для эвтаназии условно-допустимо, так как может быть мучительным для некоторых видов животных (крысы). Использование допустимо при быстром падении концентрации кислорода

Угарный газ, (CO) - бесцветный газ без запаха, при концентрациях, не превышающих 10% огне- и взрывобезопасен, приводит к смерти от гипоксии. У морских свинок при 8% концентрации CO потеря сознания наступает через 40 – 120 секунд, смерть наступает в течение 6 минут. У норок и шиншилл потеря сознания наступает через 1 минуту, остановка дыхания - через 2 минуты, работы сердца - 5 - 7 минут. Угарный газ – общетоксический яд, чрезвычайно опасен для персонала из-за высокой токсичности и трудности обнаружения. Вызывает безболезненную потерю сознания, гипоксия незаметна. Смерть при концентрации 4 - 6% наступает быстро. Его использование допустимо для собак, кошек и других мелких млекопитающих, при условии использования сжатого CO, высококачественного оборудования, расположенного в легко проветриваемом помещении или на улице, хорошо освещенным и имеющим люки для прямого наблюдения за животными. Расход CO должен быть минимальным и быстро достигать необходимой концентрации (не менее 6%). Если оборудование расположено в помещении, помещение должно быть оборудовано датчиками CO.

Неингаляционные препараты

Производные барбитуровой кислоты. Барбитураты угнетают центральную нервную систему, начиная с коры головного мозга, приводя к потере сознания, и, в дальнейшем, к наркозу. При передозировке, глубокая анестезия приводит к недостатку кислорода (вследствие угнетения дыхательного центра), с последующей остановкой сердца. Все используемые для анестезии производные барбитуровой кислоты, вводимые внутривенно, подходят для эвтаназии. Барбитураты вызывают эвтаназию с минимальным дискомфортом для животного.

Пентобарбитал натрия (Этаминал натрия, Нембутал, Embutal, Isobarb, Mebubarbital, Narcoren, Nembutal sodium, Nembutal natrium, Pental, Pentobarbitalum Natricum, Pentobarbital sodium, Pentobarbital solublte, Pentone, Prodormol, Somnopentyl, Sopental). Препарат оказывает снотворное, в высоких дозах - наркотическое действие. Сон наступает относительно быстро (через 30 - 45 мин), продолжается 5 - 6 ч. Внутривенно вводят медленно в виде 5% раствора.

Кетамин (Ketaminum, Калипсол, Кетажест, Кеталар, Велонаркон, Кетанест, Kalipsol, Ketaject, Ketalar, Ketamine, Ketanest, Ketolar, Vetalar, Ketaset, Velonarcon). Является очень сильным анальгетиком, не обладает снотворным и успокаивающим действием, сохраняющий и даже повышающий во время наркоза мышечный тонус. Утрата сознания наступает через 20 - 60 с. Анальгетический эффект кетамина развивается обычно при введении в вену в течение 10 мин и продолжается примерно 2 - 3 ч. При внутривенном введении раствора кетамина возможны боль и покраснение кожи по ходу вены. Не вызывает значимого угнетения дыхания, не угнетает глоточные и гортанные рефлексы.

Пропофол (Diprivan, Pofol, Recofol), быстродействующий препарат для внутривенного наркоза, который наступает через 30-60 секунд. Пропофол вызывает глубокую депрессию дыхания: индукционная доза обычно вызывает апноэ, значительно уменьшает сократимость мио-

карда, что приводит к значительному снижению артериального давления. Пропофол снижает мозговой кровоток и внутричерепное давление, может вызывать возбуждение (во время введения в наркоз). Наркотизируюшей является доза 1,0-1,5 мг/кг. Пропофол назначается только внутривенно. Анальгетический эффект у пропофола отсутствует. Использование пропофола хорошо сочетается с различными препаратами для премедикации, мышечными релаксантами, ингаляционными анестетиками и анальгетиками.

Мидазолам (Midazolam, Dormicum, Dormonid, Flormidal, Versed). Обладает очень быстрым седативным и выраженным снотворным эффектом. Оказывает успокаивающее, противосудорожное, миорелаксантное действие, усиливает действие снотворных, наркотических, аналгезирующих средств. Вводится внутривенно, внутримышечно и ректально. Действует непродолжительно. Для введения в наркоз внутривенно вводят за 15 мин из расчета 0,3-0,35 мг/кг массы тела вместе с аналгетиками.

Рометар (Ксилазин) - антагонист альфа2-адренорецепторов. Обладает успокаивающим и болеутоляющим действием, вызывает релаксацию скелетной мускулатуры посредством центрального действия. Применяют животным внутримышечно и внутривенно с целью успокоения, обезболивания и миорелаксации при проведении хирургических манипуляций, лечебно-профилактических обработок и диагностических исследований. При внутримышечном введении препарат оказывает свое действие через 5- 30 минут, при внутривенном – через 1-5 минут, успокаивающее действие длится от 0,5 до 5 часов.

Золетил - препарат для общей анестезии, содержащий в качестве действующих веществ тилетамина гидрохлорид и золазепама гидрохлорид. Тилетамин - общий анестетик диссоциативго действия. Золазепам угнетает подкорковые области мозга, вызывая анксиолитическое и седативное действия, расслабляет поперечно - полосатую мускулатуру. Золазепам усиливает анестетическое действие тилетамина.

Дроперидол (Droperidolum, Dehydrobenzperidol, Dridol, Droleptan, Droperidol, Inapsin, Sintodril). Нейролептическое средство из группы бутирофенонов. Оказывает транквилизирующее, седативное и противорвотное действия, уменьшает двигательную активность. Вводят дроперидол под кожу, внутримышечно и внутривенно. Эффект при введении в вену проявляется через 2 - 5 мин, достигает максимума через 20 - 30 мин, действие в зависимости от дозы продолжается до 2 - 3 ч.

Таламонал - комбинированный препарат, содержащий в одном миллилитре 2,5 мг дроперидола и 0,05 мг фентанила. При вводном наркозе препарат вводят внутривенно в дозе 1-8 мг/кг, а затем, по мере необходимости, его добавляют дробно через каждые 15-20 мин. вместе с анальгетиками.

Промедол - по своему действию близок к морфину, но по анальгетической активности слабее морфина, менее токсичен, в меньшей степени угнетает дыхательный центр. Применяется для премедикации, а также во время общей анестезии для усиления анальгезирующего эффекта. Его можно сочетать с другими анальгетиками, анестетиками, ненролептиками Препарат вводят внутривенно, внутримышечно, подкожно и внутрь.

Фентанил - по силе действия в 100 раз превосходит морфин, дает быстрый, сильный, но более короткий (до 30 мин.) анальгетический эффект. Фентанил угнетает дыхание, вплоть до апноэ, вызывает брадикардию.

Буприноршин (Temgesic) - сильный анальгетик, который успешно применяется для собак и кошек. Вводится внутри-

мышечно в дозе 4-10 мг/кг, внугривенно - в дозе 2-5 мг/кг.

Бутарфанол (Torbugesic) - обладает прекрасным анальгезирующим и седативным действием. Вводится внутримышечно в дозе 0,2-0,8 мг/кг кошкам и в дозе 0,5 мг/кг собакам, что дает эффект в течение 3-4 часов.

Тубокурарин - относится к н-холиноблокаторам скелетной мускулатуры, оказывает мощное миопаралитическое действие. Вводится внутривенно в дозе 0,4-0,5 мг/кг, через 2-4 мин. наступает релаксация мышц, которая длится от 10 до 20 мин. Последующие дозы должны быть уменьшены в 1,5-2 раза, т.к. препарат обладает кумулятивным действием.

Дитилин (листенон, миорелаксин) - применяют 1-2% раствор в дозе 1-2 мг/кг. Вызывает расслабление скелетной мускулатуры в течение 5-7 минут. При использовании допускается быстрое введение насыщенного раствора внутривенно или внутрисердечно в дозе 1-2 ммоль/кг (остановка работы сердца). Требуется общий наркоз животного с потерей сознания и отсутствием сокращений мышц.

Магния сульфат (Magnesii sulfas). При парентеральном введении в зависимости от дозы может наблюдаться седативный, снотворный или наркотический (курареподобный) эффект, большие дозы препарата понижают возбудимость дыхательного центра и вызывают остановку дыхания с результирующей остановкой сердца. Препарат может использоваться только при предварительном введении животного в наркоз, или животному, находящемуся без сознания.

Сульфонат метана (MS 222, TMS) - производное бензойной кислоты. Может использоваться для эвтаназии амфибий и рыбы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение эвтаеазии лабораторных животных при проведении доклинических исследований должно выполняться с учетом соблюдения этических норм.

Methods of euthanasia of laboratory animals, in accordance with European Directive 2010/63

A. Rybakova, M. Makarova.

ABSTRACT

Today euthanasia procedure laboratory animals is widespread and used in scientific research practice, including preclinical studies of drugs. The article provides an overview of the main issues related to the humane euthanasia of laboratory animals, highlights the main criteria for the selection of personnel involved in animal euthanasia, describes the best methods and drugs used to evtanazirovaniya laboratory animals in accordance with the European Directive 2010/63 / EU. According to the principles of humane experimental practice, it is necessary to minimize the suffering of animals, including conditions such as fear and anxiety.

When choosing a method of euthanasia is necessary to consider many factors, including the size of the animal, its physiological and specific features. The procedure for euthanasia inevitably affects the pathological picture of organs and tissues of animals, causing them significant change of the artificial. Thus, the design of the study design should take into account the effect of the chosen method of euthanasia on the resulting histopathology pattern was investigated organs. Specialists performing euthanasia must be technically proficient and possess humane methods of euthanasia to know all the clinical manifestations stages of the procedure.

Key words: pre-clinical studies, laboratory animals, humane methods of euthanasia.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мужикян А.А., Макарова М.Н., Гущин Я.А. Особенности патологоанатомического исследования группы экспериментальных животных // Международный вестник ветеринарии. -2014. -№2 -С. 103-109.
2. Гущин Я.А., Мужикян А.А. Влияние методов эвтаназии на гистологическую

картину легких мелких лабораторных грызунов // Международный вестник ветеринарии. –2014. -№4. -С. 96-104.
3. Rollin B.E. Animal agriculture and emerging social ethics for animals // J. Anim. Sci. -2004. –Vol.82. –P. 955–964.
4. DeGrazia D. Self-awareness in animals. In: Lurz R, ed. The philosophy of animal minds // Cambridge University Press. -2009. –P. 201–217.
5. Thompson P.B. Ethics on the frontiers of livestock science // Cambridge. -CABI. -2007. –P. 30–45.
6. Thompson P.B. Getting pragmatic about farm animal welfare. Animal pragmatism: rethinking humannonhuman relationships // Indiana University Press. -2004. –P. 140–159.
7. DeGrazia D. Animal ethics around the turn of the twenty-first century // J. Agric. Environ. Ethics. -1999. –Vol.11. –P. 111–129.
8. DeGrazia D. Taking animals seriously: mental life and moral status // Cambridge University Press. -1996.
9. Thompson P.B. Agricultural ethics: research, teaching, and public policy // Iowa State University Press. -1998.
10. Varner G. In nature's interests? Interests, animal rights and environmental ethics // Oxford University Press. -1998.
11. www.avma.org
12. Pavlovic D., Spassov A., Lehmann C. Euthanasia: in defense of a good, ancient word. J. Clin. Res. Bioeth. [serial online].
13. AVMA. AVMA animal welfare principles. Available at: www. avma.org/KB/Policies/Pages/AVMA-Animal-Welfare.
14. AVMA. Euthanasia of animals that are unwanted or unfit for adoption. Available at: www.avma.org/KB/Policies/Pages/ Euthanasia-of-Animals-That-Are-Unwanted-or-Unfit-for-Adoption.aspx. .
15. Haynes R. Animal welfare: competing conceptions and their ethical implications. -The Netherlands: Springer. -2008.
16. Appleby M.C. What should we do about animal welfare?. -Oxford, England: Blackwell. -1999.
17. Fraser D., Weary D.M, Pajor E.A., et al. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns // Anim. Welf. -1997. –Vol.6. –P.187–205.
18. Duncan I.J.H. Animal welfare defined in terms of feelings // Acta. Agric. Scand. A Anim. Sci. -1996. –P. 29–35.
19.Yeates J. Death is a welfare issue // J. Agric. Environ. Ethics. -2010. –Vol.23. –P. 229–241.
20. Kamm F.M. Morality, mortality. Vol 1. // Oxford University Press. -1993.
21. Morton D.B. A hypothetical strategy for the objective evaluation of animal well-being and quality of life using a dog model // Anim. Welf . -2007/ -Vol.13. 75–81.
22. Rollin B.E. Animal euthanasia and moral stress. Euthanasia of the companion animal // Philadelphia: Charles Press. -1988. –P. 31–41.
23. Niel L., Stewart S.A., Weary D.M. Effect of flow rate on aversion to gradual-fill carbon dioxide euthanasia in rats // Appl. Anim. Behav. Sci. -2008. –Vol.109. –P.77–84.
24. Brown M., Carbone L., Conlee K.M., et al. Report of the working group on animal distress in the laboratory // Lab. Anim. -NY. -2006/ -Vol.35. –P. 26–30.
25. Fakkema D. Operational guide for animal care and control agencies: euthanasia by injection // American Humane Association. -2010.

ФОРМУЛА ЗДОРОВЬЯ

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

Официальный представитель в России и странах СНГ: **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

MBB

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