

ISSN 2072-2419



№ 3

Международный Вестник Ветеринарии

INTERNATIONAL BULLETIN
OF VETERINARY MEDICINE



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2014

www.gavm.spb.ru



НПП «АВИВАК»

Современные научные разработки
и передовые технологии –
гарантия здоровья Вашей птицы



188502, Ленинградская область,
Ломоносовский район, д. Горбунки
Тел.: (812) 454-02-31, 454-02-32
E-mail: AVIVAC@sovintel.ru

105120, Москва,
3-й Сыромятнический пер., д. 3/9
Тел.: (495) 785-18-01 (многоканальный)
E-mail: AVIVAC@list.ru

WWW.AVIVAC.COM

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ

3.2014

Редакционный совет

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

Редакционная коллегия

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

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

Редакционно-технический отдел

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

Сдано в набор 01.10.2014

Подписано к печати 01.10.2014

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. Yatusевич - professor, DVM, Vitebsk

Editorial Board

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

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

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

Technical Department

V.D. Sokolov - professor, DVM, St. Petersburg
N.L. Andreeva - professor, DBS, St. Petersburg
M.N. Makarova - professor, DBS, St. Petersburg
A.V. Rybakova - PhD, St. Petersburg
Sent to 03/14/2014

Signed for printing 14/03/2014

The format of 100 × 70 1/16 .

Glossy paper number 1. Offset printing.

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

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

На 1 странице обложки расположено: **Атлантический ветеринарный колледж (AVC)**, который является аккредитованным и всемирно признанным ветеринарным колледжем в университете о. Принц Эдуард, Канада. Атлантический ветеринарный колледж был построен в 1985 году. В колледже располагаются различные научно-исследовательские центры, такие как центр ветеринарной эпидемиологии, научный центр изучения водной среды и др.

**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	• Экспертная оценка формирования заразной патологии в популяции домашних плотоядных и других видов животных. <i>Пашкин А.В., Папкина Ю.В., Горин М.А., Фадеева А.Н., Атрохова С.В., Картушина Л.Н., Карелкин Д.В.</i>	7
	• Электронная микроскопия в комплексной диагностике микоплазмозов у коз Зананенской породы. <i>Данко Ю.Ю., Рублёв А.Л.</i>	12
Хирургия	• Лечение кожных экспериментальных ран у лошадей с применением тромбоцитарной аутоплазмы. <i>Семёнов Б.С., Кузнецова Т.Ш., Гусева В.А.</i>	19
	• Структурные изменения тканей копытцев при глубоких некрозах. <i>Симонов Ю.И.</i>	24
	• Обоснование применения биodeградируемого покрытия титановых имплантов, предназначенных для протезирования зубов у собак. <i>Красников А.В., Анников В.В., Морозова Д.Д., Фомин А.А., Заярский Д.А., Петрова Н.В.</i>	28
Фармакология, токсикология, фармация	• Влияние стресс-факторов на заболеваемость телят диспепсией. <i>Винникова С.В., Донская Т.К., Батраков А.Я., Кириллов А.А.</i>	32
	• Определение антимикробной активности Фураргента при длительном хранении. <i>Лунегов А.М.</i>	36
	• Эффективные лекарственные средства при лечении повреждений тканей. <i>Фисенков Н.Н.</i>	40
Зоогигиена, Санитария, Кормление	• Адаптогенные и ростостимулирующие свойства некоторых иммуностимуляторов. <i>Войтенко В.Д., Андреева Н.Л.</i>	44
	• Применение естественных метаболитов в рационах свиноматок. <i>Лунегова И.В.</i>	49
Биохимия, анатомия, физиология	• Изменение показателей живой массы и сохранности кур при добавлении в корм кремнеземистого мергеля. <i>Жилочкина Т.И.</i>	53
	• Коррекция иммунной недостаточности у собак. <i>Бобрицкая О.Н.</i>	58
	• Ультраморфология гемомикроциркуляторного русла молочной железы коз Зананенской породы. <i>Щипакин М.В.</i>	63
Экспериментальная фармакология	• Возрастная морфология артерий области бедра рыси Евразийской (LYNX EUROASIAN). <i>Былинская Д.С.</i>	68
	• Принципы работы службы контроля качества биомедицинских исследований с участием животных. <i>Селезнева А.И., Макарова М.Н., Ходько С.В., Шиков А.Н.</i>	73
	• Половые различия при моделировании алкогольной нейропатии у крыс. <i>Шекунова Е.В., Кашкин В.А.</i>	82
	• Влияние фиксирующих жидкостей на микроскопическую структуру органов мелких лабораторных животных. <i>Гуцин Я.А., Мужикян А.А.</i>	88
Информация	• Анализ мутагенной активности. Тест по учету доминантных летальных мутаций у млекопитающих. <i>Бекетова Д.Д., Крышень К.Л., Касторнова А.Е., Ацапкина А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	95
	• Решение Третьего Международного конгресса	105

CONTENTS

Infectious diseases	<ul style="list-style-type: none"> • <i>The expert estimation formation of infectious pathology in the population domestic carnivores and other kinds of animals. A. Pashkin, Ju. Pashkina, M. Gorin, A. Fadeeva, S. Atrochova, L. Kartushina, D. Karelkin.</i> 7 • <i>Electron microscopy in the diagnosis of complex mycoplasmoses zaanenskoj breed goats. A. Rublev, Yu. Danko.</i> 12
Surgery	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Treatment of skin experimental wounds in horses using Thrombocytic autoplasm. B. Semenov, T. Kuznetzova, V. Guseva.</i> 19 • <i>Struktural changes in the tissues of the hoofs with deep necrosis. U. Simonov.</i> 24 • <i>Justification of use of biodegradable coatings on titanium implants, used for dental prosthetics for dogs. A.V. Krasnikov, V. Annikov, D. Morozova, A. Fomin, D. Zayarsky, N. Petrova.</i> 28
Pharmacology, toxicology, pharmacy	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Influence a stress factors on incidence of calves of a dispepsiya. S. Vinnikova, T. Donskaya, A. Batrakov, A. Kirillov.</i> 32 • <i>Determination of antimicrobial activity furargent during prolonged storage. A. Lunegov.</i> 36 • <i>Effective medicines at treatment of damages of fabrics. N. Fisenkov.</i> 40 • <i>Adaptogenic and growth-promoting properties of some immunostimulators. V. Voytenko, N. Andreeva.</i> 44
Zoohygiene, Sanitation, Feeding	<ul style="list-style-type: none"> • <i>The use of natural metabolites in the diets of sows. I. Lunegova.</i> 49 • <i>Change indicators of live weight and safety when added to chicken feed siliceous marl. T. Zhilochkina.</i> 53
Biochemistry, anatomy, physiology	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Correction of immune deficiency in dogs. O. Bobritskaya.</i> 58 • <i>Ultramorphology og the haemo-microcirculatory course of the mammary gland of goats of Zaanenskaya breed. M. Shchipakin.</i> 63 • <i>Age-river rift morph dynamics arteries hip area of the Eurasian lynx (LYNX EUROASIAN). D. Bylinskaya.</i> 68
Experimental pharmacology	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Principles of the quality management system in biomedical experiments on animals. A. Selezneva, M. Makarova, S. Khodko, A. Shikov.</i> 73 • <i>Sex different of experimental alcohol neuropathy in rats. E. Shekunova, V. Kashkin.</i> 82 • <i>Effect of fixing liquids on microscopic structure of small laboratory animals. Ya. Gushchin, A. Muzhikyan.</i> 88 • <i>Mutagenic activity analysis. Dominant lethal assay in mammals. D. Beketova, K. Kryshen, A. Kastornova, A. Atsapkina, M. Makarova, V. Makarov.</i> 95
Information	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Solution: Third International Congress</i> 105



ЭКСПЕРТНАЯ ОЦЕНКА ФОРМИРОВАНИЯ ЗАРАЗНОЙ ПАТОЛОГИИ В ПОПУЛЯЦИИ ДОМАШНИХ ПЛОТОЯДНЫХ И ДРУГИХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Пашкин А.В.¹ – д.вет.н., профессор, зав. кафедрой, Пашкина Ю.В.² – д.вет.н., профессор, Горин М.А.¹ – аспирант, Фадеева А. Н.¹ – аспирант. Атрохова С.В.² – аспирант, Картушина Л.Н.¹ – аспирант, Карелкин Д.В.¹ – аспирант.

¹Кафедра микробиологии, вирусологии, биотехнологии, радиобиологии и безопасности жизнедеятельности; ²Кафедра эпизоотологии, паразитологии и ветсанэкспертизы Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия

РЕФЕРАТ

Цель нашей работы - изучение особенности формирования заразной патологии различных видов животных, в частности домашних плотоядных, с целью определения значимости отдельных из нозоформ.

Установили, что нозологический профиль заразной патологии различных представителей животного мира в условиях Нижегородской области имеет выраженные региональные особенности и формируется как из числа инфекционных (36,9% от общей заразной патологии), так и инвазионных (63,1%) паразитарных систем, функционирующих в 66,2 % случаях на моно- (с вовлечением одного вида животных), а в 33,8% случаях на полигостальной (с вовлечением многих видов животных) основе.

Установлены отличия по количеству нозоформ в нозологическом профиле заразной патологии отдельных видов животных, представленных в условиях изучаемого региона и РФ в целом, что позволяет сделать заключение о том, что в различных субъектах федерации существует свой специфический набор болезней животных различных видов из-за факторов, способствующих их возникновению, распространению и ликвидации. Это обстоятельство необходимо учитывать при проведении корректировки (усовершенствования) системы противоэпизоотических мероприятий при отдельных болезнях в конкретных условиях места и времени.

Ключевые слова: нозоформы, инфекционная и инвазионная патология, животные, птицы, рыбы.

ВВЕДЕНИЕ

Большинство исследователей, изучающих проблемы ветеринарного обеспечения промышленных центров, считают, что состоянию здоровья домашних и синантропных животных, как возможным источникам возбудителей болезней человека, следует уделять особое внимание. С этой целью в ряде стран и регионов РФ

организован и осуществляется эпизоотологический мониторинг за уровнем заболеваемости животных, в т.ч. и на урбанизированных территориях [1, 2, 3, 4].

Проведены исследования по унификации методических приемов определения нозологического профиля заразной патологии животных различных видов в городах и сырьевой зоне их продовольствен-

ного рынка [5].

Известно, что биологическая опасность в регионах обусловлена формированием очагов заразной патологии животных, реализацией эпидемической проекции, непостоянством границ эпизоотического проявления регистрируемых здесь нозозформ и особенно зоонозов [6].

В связи с этим возникает необходимость подробного изучения особенностей формирования заразной патологии различных видов животных и в условиях Нижегородской области с целью определения значимости отдельных из нозозформ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась на кафедрах микробиологии, вирусологии, биотехнологии, радиобиологии и безопасности жизнедеятельности, эпизоотологии, паразитологии и ветсанэкспертизы ФГБОУ ВПО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия».

В работе использован комплексный эпизоотологический анализ, включающий методы современной прогностики, ветеринарно-санитарной статистики, эпизоотологического обследования, а также общепринятые в эпизоотологии методы.

Эпизоотическая обстановка в области изучалась по материалам ветеринарной статистики, результатам лабораторных исследований и лично собранным материалам.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе эпизоотического мониторинга изучили эпизоотическое состояние Нижегородской области на доступную глубину ретроспекции (15 лет).

В ходе проведенных исследований было установлено, что практически все виды сельскохозяйственных и диких животных, рыбы и пчелы являются соактантами эволюционно сформировавшихся здесь экологических паразитарных систем, большинство (63,1%) из которых являются инвазионными паразитарными

системами, представленные – гельминтозами (38,5%), протозоозами (10,8%), арахноэнтомозами (13,8%). Кроме этого в области сформировались и функционируют инфекционные паразитарные системы (36,9% от общей заразной патологии).

Весьма неоднозначно распределение заразной патологии в популяциях домашних плотоядных. Так, в ходе исследований установлено, что среди популяции собак функционируют 67,4% инфекционных и а 32,6% инвазионным нозозформ, когда как среди кошек 56,6% и 43,4% соответственно. Среди болезней инфекционной патологии ведущая роль отводится микроспории (42,6% от количества случаев проявления всех инфекционных болезней кошек), а в инвазионной патологии значительную долю (73,8%) занимают эктопаразитозы.

Установлено также, что более 25% среди инфекционных и 11,4% среди инвазионных болезней кошек, зарегистрированных на территории области имеют выраженную эпидемическую проекцию.

Изучив хозяйный состав возбудителей инфекционных и инвазионных болезней, зарегистрированных на территории Нижегородской области, определили, что сочлены популяции крупного рогатого скота являются соактантами 32 нозозформ (49,2%), мелкого рогатого скота – 13 (20%), свиней – 11 (16,9%), лошадей – 11 (16,9%), птиц – 7 (10,8%), кроликов – 17 (26,2%), домашних непродуктивных – 12 (18,5%), дикие животные – 4 (6,2%), рыбы – 5 (7,7%), пчелы – 5 (7,7%).

Большая часть из зарегистрированных в регионе нозозформ (43 или 66,2%) функционируют на моногостальной основе, т.е. поражают один вид животных, а 22 (33,8%) – на полигостальной основе.

Проведя подробный анализ эпизоотической ситуации по отчетным материалам за 2011-2013 гг., любезно предоставленным Комитетом госветнадзора по Нижегородской области, установили, что за

2011 год на территории области было зарегистрировано 46 неблагополучных пунктов, из них: 2 – по африканской чуме свиней, 5 – по инфекционной анемии лошадей; 34 – по бешенству животных, 1 – по пастереллезу оленей; 4 – по орнитозу птиц.

Установлено, что в этот период среди свиней регистрировались сальмонеллез, гемофилезный полисерозит и дизентерия, а также два случая заноса африканской чумы свиней (с. Черное, на границе г. Дзержинска и д. Мулино Володарского района).

Кроме того на территории г. Н. Новгорода сложилась неблагополучная ситуация по заболеваемости птиц орнитозом. Так, только за летне-осенний период 2011 г. было зарегистрировано 325 случаев этого заболевания среди различных видов декоративных (попугаи, канарейки) и синантропных (голуби) птиц, практически со 100% летальностью.

Остается весьма напряженной эпизоотическая ситуация в области по бешенству. Так, если за 2011 г. здесь было зарегистрировано 34 случая подтверждения диагноза на бешенство (22 среди диких плотоядных, 5 – среди кошек, 6 – среди собаки и 1 случай среди крупного рогатого скота), а в 2012 г. – 35 (24 – среди диких плотоядных, 8 – среди домашних плотоядных, 2 – среди крыс и 1 – среди крупного рогатого скота), то за период с 1 января по 4 марта 2013 года в области уже зарегистрировано 17 случаев бешенства в 12 неблагополучных пунктах (Богородский, Кстовский, Гагинский, Сергачский и другие районы области).

Кроме этого опасной тенденцией является учащение случаев укуса людей животными. Так только за первый квартал этого года укусы людям нанесли в 40% случаях безнадзорные, в 50% - домашние и в 10% случаев дикие животные.

Кроме бешенства в 2011 году в области зарегистрирована вспышка пастерелле-

за с гибелью 45 голов оленей на территории охотхозяйства «Великовское» Лысковского района области

В этот же период отмечались единичные случаи проявления инфекционной анемии лошадей в 4 сельских населенных пунктах Нижегородской области и в г.Н.Новгороде.

Путем клинического осмотра поголовья крупного рогатого скота за 2011 год обнаружено заболевание 81 головы гиподерматозом, в том числе 19 голов среди животных, принадлежащих частному сектору.

Ситуация в кролиководстве области за тот же период была более благополучна. Из особо опасных инфекционных болезней здесь регистрировался миксоматоз. По официальным данным последний случай, выявления которого приходится на 2009 г. Из инвазионных болезней ежегодно в мелких кролиководческих хозяйствах регистрируют эймериоз, причиной возникновения которого нередко является несоблюдение правил содержания этого вида животных.

Проведя подробный анализ изменения эпизоотической ситуации в отчетном 2012 г. году, установили эпизоотическое проявление 61 нозоформы с вовлечением различных видов животных, птиц и пчел, 49,1% из которых относятся к инфекционным, а 50,9% - инвазионным болезням.

Среди крупного рогатого скота доминирующее положение занимает лейкоз. По официальным данным, в 2012 г. было выявлено 57 тыс. голов Ридположительных, с подтверждением в 4 тыс. случаях гематологическим методом и в 170 – методом полимеразной цепной реакцией.

Из инфекционных болезней среди этого вида животных также регистрировались микоплазмоз, хламидиоз, вирусная диарея, катаральная лихорадка (блютанг), инфекционный ринотрахеит, эшерихиоз, коронавирусный энтерит. Кроме этого

выявлены единичные случаи бешенства и листериоза. Из инвазионных болезней регистрировались – кровепаразитарные болезни (пироплазмоз, бабезиоз и анаплазмоз), нематодозы, трематодозы, цестодозы и гиподерматоз.

Среди свиней и лошадей официально зарегистрированы лишь случаи заражения нематодами. Среди мелкого рогатого скота случаи инфекционных болезней не зарегистрированы, а заразную патологию формируют лишь инвазионные заболевания (нематодозы, трематодозы и цестодозы).

Аналогичная ситуация и по птицам. Несмотря на многотысячные исследования проб крови и другого биоматериала, выявлено 54 случая гельминтозов среди домашних птиц, из которых 83,3% приходится на нематодозы, и 2 случая кокцидиоза.

Наиболее разнообразен перечень различных болезней у собак, у которых только за 2012 г. зарегистрированы случаи проявления грибковых инфекций (доля трихофитии – 10,3% и микроспории – 6,7% от общего количества зарегистрированных среди данной популяции животных нозоформ), саркоптоидозов (37,7%), пироплазмоза (30,9%), гельминтозов (13,1%) и бешенства (1,3%).

Среди кошек в 2012 г. наиболее часто регистрировались арахноэнтомы (51% от общей заболеваемости, включая заражение саркоптоидами), грибковые инфекции (39%) и гельминтозы (7%). За исследуемый период было зарегистрировано 4 случая бешенства, что составило 1% от общего количества зарегистрированных случаев проявления заразных болезней среди данной популяции животных.

Среди кроликов здесь отмечались случаи вирусной геморрагической болезни, эймериоза и микроспории. Заболевания миксоматозом, регистрируемые среди декоративных пород кроликов в условиях

частных ветеринарных клиник города по необъяснимым причинам в официальном отчете госветслужбы не отражены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты изучения нозологического профиля инфекционной и инвазионной патологии животных в условиях конкретного региона, подтверждает региональные особенности его формирования, что, в свою очередь, позволяет еще раз подтвердить необходимость постоянного изучения инфекционной и инвазионной патологии животных путем осуществления эпизоотологического мониторинга, основываясь не только на ретроспективном анализе, но и на проведении скрининговых клинико-эпизоотологических и иммунологических исследованиях.

Методы экспертных оценок, прямой, косвенной и инверсионной верификации позволяют определять разовые и долговременные отклонения в нозологическом профиле заразной патологии конкретных видов животных, на конкретной территории, а в последующем, адекватно этим изменениям, вносить коррективы в систему антропогенных воздействий на характер проявления эпизоотического процесса наиболее значимых нозоединиц.

The expert estimation formation of infectious pathology in the population domestic carnivores and other kinds of animals

A. Pashkin, Ju. Pashkina, M. Gorin, A. Fadeeva, S. Atrochova, L. Kartushina, D. Karelkin.

ABSTRACT

The purpose of the work: to investigate particularities of formation of infectious pathology of different animals' kinds, particularly domestic carnivores, for estimation significance of some nozoform.

It was installed, that the nosological profile of infectious pathology of various wild-life species in Nizhniy Novgorod's conditions has a pronounced regional particularities and it formed from a number both infec-

tious (36,9 percents of total contagious pathology) so and parasitic (63,1%) systems. In 66,2% cases it functioned as a mono- (with involving only one kind of animals) and in 33,8% - as a polyhost system (with involving many kinds of animals).

The differences in the number of nozofoms in nosological profile of infectious pathology of different animals' kinds were installed, not only on the territory of the region, but also in Russian Federation in the whole and it allowed making conclusion, that in the different regions of RF there is a specific set of the diseases different kinds of animals and the factors (the conditions), promoting their origin, spreading and liquidations. It is necessary to consider in correction (the improvement) system of measures on struggle against epizooty.

Key words: nosological forms, infectious and parasitic pathology, animals, birds and fish.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авилов В.М. Организация государственного ветнадзора в АПК // Ветеринария. - 1995. - № 2. - С. 3 - 10.
2. Алиев А.А. Наиболее распространенные инфекционные болезни собак и кошек, регистрируемые в СПб // Актуальные проблемы ветеринарной медицины домашних животных: мат. конф. 25-26 ноября 1999 г. - СПб. -1999. - С.8 – 9.
3. Колобов Е.А. Состояние популяционного здоровья и хозяйственной полезности сельскохозяйственных животных - эпизоотологические параметры их популяций // Вопросы нормативно правового регулирования в ветеринарии. – 2012. - № 4/2. – С. 18-21.
4. Пашкина Ю.В. Формирование нозологического профиля заразной патологии домашних и продуктивных животных в условиях Нижегородской области // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2012. - № 4-2. - С.51-53.
5. Усенков А.В. Научно-обоснованная

система противоэпизоотического обеспечения сырьевой зоны регионального продовольственного рынка на приграничной с Республикой Казахстан территории // Популяционное здоровье животных и эмерджентные инфекции в современных условиях: мат. межд. науч.-пр. конф. 26 декабря 2013 г., – Волгоград. -2013. – Ч.1. – С. 82-85.

6. Усенков А.В. Роль и место госветнадзора в предупреждении эпидемической проекции зоонозов при формировании и наполнении продовольственного рынка на урбанизированных территориях // Популяционное здоровье животных и эмерджентные инфекции в совр. условиях: мат. межд. науч.-пр. конф. 26 дек. 2013г., – Волгоград. 2-013. – Ч.1. – С.93-100.

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ В КОМПЛЕКСНОЙ ДИАГНОСТИКЕ МИКОПЛАЗМОЗОВ У КОЗ ЗААНЕНСКОЙ ПОРОДЫ

Данко Ю.Ю. –д.в.н., профессор, Рублёв А.Л. - аспирант
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Микоплазмоз является типичной хронической инфекцией, характеризуется длительной персистенцией возбудителя в организме животных и наносит хозяйствам значительный экономический ущерб. Для некоторых патогенных видов микоплазм доказана первичная роль в этиологии болезней крупного и мелкого рогатого скота (контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота, инфекционная плевропневмония овец и коз), животных других видов. Микоплазмы, преодолевая тканевой барьер, проникают в кровеносное русло. В этом процессе важную роль играет капсула, гликолипиды которой токсичны для макроорганизма: они снижают фагоцитоз и блокируют иммунокомпетентную систему. Поражение микоплазмами дыхательного тракта животных приводит к респираторной патологии, гениталий – к поражению репродуктивных органов. В настоящее время для лабораторной диагностики микоплазмозов применяют микроскопический, бактериологический, серологический, молекулярно-биологический методы исследования. Цель работы - изучение при помощи просвечивающей электронной микроскопии морфологии микоплазм при хронических болезнях органов дыхания у коз зааненской породы с промышленным содержанием в условиях Ленинградской области. Для изучения эпизоотической ситуации по хроническим респираторным болезням коз в хозяйстве проведен анализ эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных, результатов бактериологических исследований биологического и патологического материала (ткани из глотки, бронхов и легких). В результате бактериологических исследований и ПЦР выделены микроорганизмы, относящиеся к роду *Mycoplasma*. Дальнейшую идентификацию возбудителя проводили путём высева проб на специальную среду для PPLO и изучения культурально-биохимических свойств. Электронно-микроскопическое исследование взвеси микоплазмозных культур осуществляли путем просмотра ультратонких срезов в электронном микроскопе JEOL JEM 1011. Электронные микро-фотографии, полученные с использованием цифровой фотокамеры Morada (Olympus Inc.), показали отпочковывающиеся элементарные тельца диаметром 80-400 нм × 55 000 в суспензии культуры *Mycoplasma arginini* и отпочковывающиеся элементарные тельца диаметром 80-200 нм×55000 в суспензии культуры *Mycoplasma ovipneumoniae*.

Ключевые слова: микоплазмы, морфология, просвечивающая электронная микроскопия, хроническая бронхопневмония, козы, промышленное содержание.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы возросло значение условно-патогенных микроорганизмов, в том числе микоплазм, в возникновении респираторных болезней животных. Для некоторых патогенных видов микоплазм доказана первичная роль в этиологии болезней крупного и мелкого рогатого скота (контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота, инфекционная плевропневмония овец и коз, инфекционная агалактия овец и коз), свиней (энзоотическая пневмония), птиц (респираторный микоплазмоз птиц, инфекционный синусит индеек), лошадей, собак, кошек, лабораторных животных, приматов, диких млекопитающих. Микоплазмоз является типичной хронической инфекцией с присущей ей длительной персистенцией возбудителя в организме [2]. При этом микоплазмы способны сохранять жизнеспособность в фагоцитах и оказывать повреждающие действия на макрофаги, что приводит к нарушению их функции и снижению резистентности организма. Вступая в синергические отношения с вирусами, условно-патогенной микрофлорой, микоплазмы создают условия для активного роста и развития последней, что усиливает тяжесть течения болезни [8]. Для некоторых патогенных видов микоплазм доказана их первичная роль в этиологии болезней крупного и мелкого рогатого скота (контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота, инфекционная плевропневмония овец и коз), свиней (энзоотическая пневмония), птиц (респираторный микоплазмоз птиц, инфекционный синусит индеек), лошадей, собак, кошек, лабораторных животных, приматов, диких млекопитающих [3].

Клетки микоплазм (самых мелких прокариот) с минимальными размерами (150—800 нм) имеют выраженные признаки живого организма и наиболее близко в таксономическом отношении расположены к вирусам — представителям

наномира. Принадлежность микроорганизмов к микоплазмам определяется следующими признаками: отсутствие клеточной стенки и наличие трехслойной плазматической мембраны; резистентность к пенициллину; морфология колоний (форма которых обычно напоминает яичницу глазунью) и клеток; отсутствие реверсии в бактерии; торможение роста антителами; содержание Г+Ц в ДНК не менее 46 мол% [3].

Патогенное действие микоплазм на организм животного определяется их способностью прикрепляться к клеткам хозяина. Микоплазмы, преодолевая тканевый барьер, проникают в кровеносное русло. В этом процессе важную роль играет капсула, гликолипиды которой токсичны для макроорганизма: они снижают фагоцитоз и блокируют иммунокомпетентную систему. Некоторые виды микоплазм (*M. gallisepticum*, *M. neurolyticum*) образуют токсины, которые увеличивают проницаемость эндотелия капилляров, что обуславливает отечность различных тканей организма. В итоге изменяется мембрана клеток макроорганизма, нарушается иммунологическая реактивность и развивается хроническая инфекция [3].

Для лабораторной диагностики микоплазмозов применяют бактериологический, микроскопический, серологический (РНГА, РАГА, РПГА, РИФ, твердофазный ИФА и др.), молекулярно-генетический (ПЦР) методы [2,5,8,9, 10]. Культивируют микоплазмы на средах с обязательным добавлением сыворотки крови (лошадей, свиней, крупного рогатого скота или кроликов). Большинство микоплазм растет колониями, форма которых напоминает яичницу-глазунью, часто центр врастает в агар.

При микроскопии наблюдается полиморфизм клеток, обусловленный, в первую очередь отсутствием твердой клеточной стенки и связанных с ней белковых и

липидных компонентов, присущих бактериям, а также сложным циклом развития микоплазм. В живом состоянии микоплазм изучают в темном поле и фазово-контрастном микроскопе. В световом микроскопе можно обнаружить лишь самые большие формы и виды микоплазм, размеры которых превышают 0,2 мкм в длину и в поперечнике [1,2,3,5].

Ультраструктурные элементы микоплазм выявляют при электронной микроскопии, для которой применяют специальные методы приготовления препаратов [1,6]. В мазках, приготовленных из суспензий органов и выращенных культур микоплазм, обнаруживают округлые, кольцевидные, овальные, кокковидные и нитевидные образования. Вместо клеточной стенки они имеют трехслойную мембрану из полярных липидов и протеинов, цитоплазму с ядерной субстанцией, гранулами и вакуолями [1,5,8]

Электронная микроскопия все шире применяется для ранней диагностики болезней, а также для выявления этиологии инфекционных процессов. Электронная микроскопия – метод морфологического исследования объектов с помощью потока электронов, позволяющих изучить структуру этих объектов на макромолекулярном и субклеточном уровнях. Действие электронного микроскопа основано на использовании направленного потока электронов, который выполняет роль светового луча в световом микроскопе, а роль линз играют магниты (магнитные линзы). Вследствие того, что различные участки исследуемого объекта по-разному задерживают электроны, на экране электронного микроскопа получается черно-белое изображение изучаемого объекта, увеличенное в десятки и сотни тысяч раз. В биологии и медицине в основном используются электронные микроскопы просвечивающего типа, реже – растровый и сканирующий электронные микроскопы.

Просвечивающий (трансмиссионный) электронный микроскоп (ПЭМ) – устройство, в котором изображение от ультратонкого образца (толщиной около 0,1 мкм) формируется в результате взаимодействия пучка электронов с веществом образца с последующим увеличением магнитными линзами и регистрацией на флуоресцентном экране, фотопленке или сенсорном приборе

Растровый электронный микроскоп (РЭМ) предназначен для получения изображения поверхности объекта с высоким (до 0,4 нанометра) пространственным разрешением. РЭМ является вакуумным прибором, так как при нормальном атмосферном давлении электронный пучок сильно рассеивается и поглощается, что делает невозможным его фокусировку.

Сканирующий электронный микроскоп (СЭМ) – микроскоп, который сканирует исследуемый образец электронным лучом. По сравнению с оптическими микроскопами СЭМ характеризуется более высоким пространственным разрешением и глубиной резкости, а также возможностью проведения химического анализа на основе регистрации спектра рентгеновского излучения, генерируемого при облучении поверхности образца электронным пучком [1,4,5,6].

Существует несколько гипотез репродукции микоплазм, которые можно зафиксировать при электронной микроскопии. Одна теория представляет их развитие как последовательную смену пяти фаз: зернистой, волокнистой, разветвления, образования цепочек и их распада на зерна. Согласно второй теории цикл развития микоплазм состоит из двух фаз. В первой фазе происходит образование гранул, во второй — разрыв волокон и отпочковывание шаровидных телец. Имеет место также мнение, что размножение микоплазм происходит по типу аутолиза, в результате которого появляются вакуоли, наполненные волокнистыми структу-

рами. В последующем стенка вакуоли разрывается, содержимое оказывается в окружающей среде и цикл репродукции повторяется [5].

Цель исследований – изучить при помощи просвечивающей электронной микроскопии морфологию микоплазм при хронических болезнях органов дыхания у коз зааненской породы в условиях промышленного содержания в Ленинградской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение эпизоотической ситуации на козоводческой ферме Приозерского района проводили комплексным методом с использованием эпизоото-логических, клинических исследований, результатов патологоанатомических, гистологических, микроскопических, бактериологических исследований и ПЦР. Объект исследования – козы зааненской породы при промышленном содержании в возрасте 6-8 мес, поступившие по импорту из Германии.

Для бактериологических и гистологических исследований использовали биологический и патологический материал (выделения из глаз, ткани из глотки, бронхов и легких козлят с респираторной патологией). Индикацию и идентификацию возбудителей осуществляли микроскопическими методами, включающими и электронную микроскопию, а также бактериологическими методами и ПЦР.

Для определения видовой принадлежности микоплазм применяли бактериологические методики с посевом материала на специальные обогащенные питательные среды для PPLO (pleuropneumonia-like-organism) с целью накопления культуры микоплазм в течение 4-10 сут, изучения их биохимических свойств и характера роста. После накопления культуры микоплазм проводили микроскопию клеток этого микроорганизма в просвечивающем электронном микроскопе (ПЭМ).

Для получения микрофотографий суспензию микоплазм наносили на медные сетки для электронной микроскопии, покрытые коллодиевой подложкой. После адсорбции микоплазм на подложке в течение 1 мин сетки дважды промывали дистиллированной водой. Далее выполняли негативное контрастирование микоплазм 2% раствором натриевой соли фосфорновольфрамовой кислоты на сеточках в течение 1 мин. После контрастирования сеточку высушивали и исследовали в просвечивающем электронном микроскопе JEOL JEM 1011. Электронные микрофотографии были получены с использованием цифровой фотокамеры Morada (Olympus Inc.).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При анализе эпизоотологических данных установлено, что в период 30-дневного карантинирования коз, в течение которого животные исследованы на блутанг, бруцеллёз, туберкулёз, вирусный артрит-энцефалит, гельминтозы, а также при выращивании молодняка и содержании взрослых коз были нарушены ветеринарно-санитарные нормативы содержания животных (повышенная температура, относительная влажность, запыленность).

При клиническом обследовании у всех животных на козоводческой ферме выявлены признаки бронхита (влажный кашель с незначительными серозными и серозно-гнойными истечениями из носовых ходов) с эпизодическим падежом при отсутствии лихорадки и явного снижения продуктивности. У 15 голов (75%) отмечены серозные истечения из глаз, подчелюстные лимфатические узлы увеличены, безболезненны, при аускультации – влажный кашель.

При патологоанатомическом осмотре органов грудной полости от 3 коз зааненской породы в возрасте 6 мес (органы респираторной системы) выявлено

ны: отечность слизистых оболочек трахеи и бронхов, фибриновые и крупозные наложения на слизистой оболочке крупных, средних и малых бронхов, увеличение бронхиальных лимфатических узлов средостенья. Признаки лобулярной или лобарной серозно-катаральной и катарально-гнойной пневмонии имели локализацию в краниальных, средних (сердечных) и каудальных (диафрагмальных) долях.

Результаты бактериологических исследований прижизненного материала, взятого из глотки козлят, выявили *Ent. faecalis*, *Staphylococcus intermedius*, *E. coli*; метода ПЦР - микроорганизмы рода *Mycoplasma*. В пробах выделений из глаз методом ПЦР выявлены микроорганизмы, относящиеся к роду *Mycoplasma* и семейству *Chlamydiaceae* (ФГБУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория» - эксп. № 80381-80383/3527-3529). Проведённые посмертно бактериологические исследования и ПЦР патологического материала, взятого из лёгких козлят, выявили *Enterococcus faecium*, *Mannheimia haemolytica*, *Mycoplasma ovipneumoniae* (ФГБУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория» - эксп. № 88074/4809; ФГБУ «ВНИИЗЖ» - эксп. № 01-12/5973).

Для иллюстрации патологоанатомических изменений в респираторном тракте коз зааненской породы при микоплазменной пневмонии, осложненной *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*, были сделаны гистологические исследования лёгочной ткани, которые подтвердили посмертный диагноз микоплазменной пневмонии.

Для определения видовой принадлежности микоплазм производили высев проб патологического материала на специальные питательные среды для PLO (pleuropneumonia like organism) с целью накопления культуры микоплазм и дальнейшего изучения характера роста микроорганизмов и их биохимических

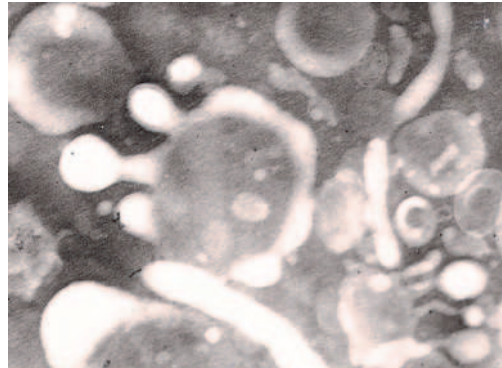


Рис. 1. Клетка микоплазмы диаметром 500 нм, на поверхности которой видны отпочковывающиеся элементарные тельца диаметром 80-100 нм. $\times 60\ 000$. Суспензия культуры *Mycoplasma hyorhinis*.

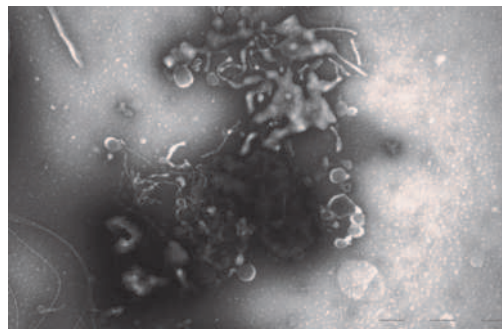


Рис. 2. Клетка микоплазмы диаметром 600 нм, на поверхности которой видны отпочковывающиеся элементарные тельца диаметром 80-200 нм $\times 55\ 000$. Суспензия культуры *Mycoplasma ovipneumoniae*.

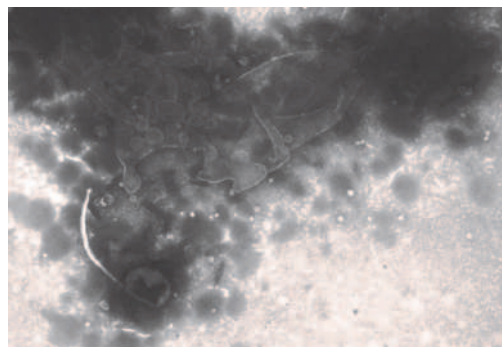


Рис. 3. Клетка микоплазмы с отпочковывающимися элементарными тельцами диаметром 80-400 нм $\times 55\ 000$. *Mycoplasma arginini*.

свойств. В результате идентификации микоплазмы, выделенные из биологического и патологического материала коз с респираторной патологией, определены как *Mycoplasma arginini* и *Mycoplasma ovipneumoniae*.

После накопления культуры микоплазм на питательных средах проводили электронную микроскопию микробной суспензии в просвечивающем электронном микроскопе JEOL JEM 1011. При электронно-микроскопическом исследовании препаратов обнаружены нитевидные, кокковидные, почкующиеся, ветвистые и другие формы, типичные для жизненного цикла микоплазм. При электронном микроскопировании в ПЭМ были получены позитивно-негативные микрофотографии (рис. 2,3), на которых представлены микроорганизмы, по своей структуре относящиеся к микоплазменно-подобным организмам *Mycoplasma arginini* и *Mycoplasma ovipneumoniae*. Рис.2, 3.

По полученным результатам электронной микроскопии можно заключить, что она является вспомогательным методом лабораторной диагностики при изучении микроорганизмов рода *Mycoplasma*. К сожалению, с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) достаточно трудно провести идентификацию микоплазм с установлением их точной видовой принадлежности, так как в сравнении с микрофотографиями, полученными с помощью ПЭМ других видов микоплазм (*Mycoplasma hyorhinis*, рис.1) [7], выявляется их аналогия в морфологическом строении. В связи с этим, для точной идентификации данных микроорганизмов рекомендуем применять совместно с просвечивающей электронной микроскопией другие методы, а именно, растровую электронную микроскопию (РЭМ), иммунноэлектронную микроскопию, АСМ (атомно-силовая микроскопия), а также ПЦР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Носительство и персистенция, характерные для микоплазм являются преградой для постановки окончательного диагноза даже при выделении культуры возбудителя, не говоря уже о выявлении суммарных антител или нуклеотидных последовательностей в ПЦР. Поэтому только применение нескольких, взаимодополняющих лабораторных методов, в том числе электронной микроскопии, является оптимальным подходом для подтверждения диагноза инфекции, вызванной любым возбудителем пневмоний, особенно пневмоний смешанной этиологии с участием нескольких возбудителей.

Electron microscopy in the diagnosis of complex mycoplasmoses zaanenskoj breed goats.

A. Rublev, Yu. Danko.

ABSTRACT

Summary. Mycoplasmosis is typical of chronic infection, characterized by long-term persistence of the pathogen in the body of animals and farms causes considerable economic damage. For some pathogenic mycoplasma species proved primary role in the etiology of diseases of cattle and small ruminants (contagious bovine pleuropneumonia, contagious pleuropneumonia of sheep and goats), other species *Mycoplasma*, overcoming tissue barrier and penetrate into the blood-stream. In this process, the capsule plays an important role, glycolipids which are toxic for the microorganism they reduce phagocytosis and inhibit immunocompetent system. Defeat mycoplasma respiratory tract of animals leads to respiratory disease, genitals - the defeat of the reproductive organs. Currently, laboratory diagnosis mycoplasmoses used microscopic, bacteriological, serological, molecular biological methods. Purpose - study by transmission electron microscopy morphology of mycoplasmas in chronic respiratory diseases in goats zaanenskoj breed with industrial maintenance in terms of the Leningrad region. To study the epizootic chronic

respiratory disease of goats on the farm analyzed epizootic, clinical, pathological data, results of bacteriological and pathological studies of biological material (tissue from the throat, bronchi and lungs). As a result of bacteriological examinations and PCR highlighted microorganisms belonging to the genus *Mycoplasma*. Further identification of the causative agent was performed by plating samples on a special environment for PPLO and learning culturally and biochemical properties. Electron microscopic study mikoplazmoznyh suspension cultures were carried out by viewing ultrathin sections in an electron microscope JEOL JEM 1011. Electron micrographs obtained using a digital camera Morada (Olympus Inc.) revealed budding elementary bodies of diameter 80-400 nm × 55000 *Mycoplasma arginini* and budding elementary bodies with a diameter of 80-200 nm × 55000 *Mycoplasma ovipneumoniae*.

Key words: Mycoplasma morphology, transmission electron microscopy, chronic pneumonia, goats, industrial maintenance.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас сканирующей электронной микроскопии клеток, тканей и органов /Под ред. О.В. Волковой, В.А. Шахламова, А.А. Миронова.-М.:Медицина.- 1987.- 463с.
2. Вологодская О. В. Ассоциативный урогенитальный микоплазмоз крупного рогатого скота: диагностика и лечение: дис. канд. вет. наук.-Омск.-2006. -134 с.
3. Глушков А.А. Болезни животных, вызываемые микоплазмами (микоплазмозы): В кн.Инфекционные болезни животных. - М.:КолосС.-2007. -С. 239-260.
4. Гоулдстейн Дж., Ньюбери Д., Эчлин П. и соав.. Растровая электронная микроскопия и рентгеновский микроанализ. -М.: Мир, -1984. - 303 с.
5. Кирьянов Е. А. Микоплазмы и Л-формы бактерий в патологии животных: лекция — Уссурийск. -1983. - 46с.
6. Миронов А.А. Методы электронной

микроскопии в биологии и медицине. - СПб. -1994. - 400с.

7. Пономарев А.П. и соав. Морфология и свойства некоторых микроорганизмов, представителей нано- и микромира // Вестник Ивановской медицинской академии. -2008. - №3. -С. 23-29.

8. Прозоровский, С.В. Медицинская микоплазмология. -М.- 1997.-57 с.

9. Chanock R. Growth on artificial medium of an agent associated with atypical pneumonia and its identification as a PPLO // Proc. Nat. Acad. Sci. - 1962. -Vol. 48. -№ 1. - P. 41.

10. Comparison of PCR for sputum samples obtained by induced cough and serological tests for diagnosis of Mycoplasma pneumonia infection / T. Yamasaki et al. // Clin Vaccina Immunol. -2006. -Vol. 13(6). - P. 708-718.

11. Ramires, A.S. Development and evaluation of diagnostic PCR for Mycoplasma sinovia using primers located in the intergenic spacer region the 23S RNA gene // Vet. Microbiol. -2006. - Vol.7. -P.12-18.



ХИРУРГИЯ

УДК: 615.38:617-001.4:636.1

ЛЕЧЕНИЕ КОЖНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ РАН У ЛОШАДЕЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТРОМБОЦИТАРНОЙ АУТОПЛАЗМЫ

Семёнов Б.С. - д.в.н., профессор кафедры оперативной хирургии
Кузнецова Т.Ш. - к.б.н. ветеринарный врач кафедры оперативной хирургии
Гусева В.А. - аспирантка кафедры оперативной хирургии
Санкт-Петербургская академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Данная статья содержит сведения о применении тромбоцитарной аутоплазмы при лечении экспериментальных ран у лошадей. Использование тромбоцитарной аутоплазмы в медицине берёт своё начало из аутогемотерапии. Широкое применение этого метода

основано на том, что тромбоциты содержат различные факторы роста: тромбоцитарный, эпидермальный, фибробластный, инсулиноподобный и многие другие. Повышенная концентрация этих факторов в месте инъекции стимулирует регенеративные процессы. Кроме того, тромбоцитарная аутоплазма не обладает иммунореактивным и токсичным действием в отношении организма, не вызывает аллергических реакций.

Лошади были разделены на две группы: подопытную и контрольную. Всем животным наносили раны в средней трети шеи. Подопытным лошадям вводили тромбоцитарную аутоплазму 1 раз в 3 суток под дно раны, дополнительно раны обрабатывали мазью «Левомеколь». Лошадям контрольной группы раны обрабатывали только мазью «Левомеколь». Тромбоцитарную аутоплазму получали, разделяя цельную кровь по градиенту плотности путём центрифугирования в специальных пробирках «Плазмолифтинг тм» (Россия). Тромбоцитарную аутоплазму инъецировали сразу после приготовления.

По результатам исследования были сделаны выводы, что тромбоцитарная аутоплазма практически исключает стадию гидратации из раневого процесса у лошадей, следовательно, профилактирует развитие гнойного процесса в ранах возникновение гнойно-резорбтивной лихорадки. Но самое важное свойство тромбоцитарной аутоплазмы это ускорение регенерации тканей. Исследования показали, что применение тромбоцитарной аутоплазмы в комплексном лечении кожных экспериментальных ран у лошадей более эффективно по сравнению с другими методами лечения, так как ускоряет регенерацию тканей и профилактирует развитие гнойного процесса в ранах.

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

ВВЕДЕНИЕ

Применение тромбоцитарной аутоплазмы, приготовленной методом «Плазмолифтинг тм», активно применяется в различных областях медицины. Этот метод на современном этапе был разработан д.м.н, профессором Р.Р. Ахмеровым и к.м.н. Р.Ф. Зарудием [1]. Метод «Плазмолифтинг тм» доступен для лечения различных патологий травматического характера у животных. Суть метода в том, что тромбоциты, попадая в мягкие ткани, разрушаются, выделяют факторы роста (трансформирующий фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, эпидермальный фактор роста, фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелия сосудов, инсулиноподобный фактор роста, фактор роста эндотелиальных клеток) и другие биологически активные молекулы. Таким образом, эти факторы способствуют ускорению регенерации тканей [3].

В связи с тем, что повреждения кожного покрова у лошадей встречаются довольно часто, нами было проведено исследование влияния тромбоцитарной аутоплазмы на лечение экспериментальных ран у лошадей.

Цели: Сравнить лечение экспериментальных ран у лошадей обычными методами и применением тромбоцитарной аутоплазмы. Оценить воздействие тромбоцитарной аутоплазмы на раневую процесс у лошадей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опыте использовали две группы лошадей: подопытную и контрольную, в каждой группе по 3 лошади. Раны наносили в средней трети шеи.

Кровь брали в пробирки «Плазмолифтинг тм» (Россия) в объеме 8 мл для приготовления тромбоцитарной аутоплазмы. Пробирки «Плазмолифтинг тм» центрифугировали на центрифуге СМ-6 со скоростью 1500 об./мин 5 минут. Тромбоцитарную аутоплазму сразу после получения вводили под дно раны, в объё-



Рис. 1. Лошадь с нанесённой раной на латеральной стороне шеи (А – открытая рана. В – закрытая салфеткой).

ме 3 мл. Лошадям подопытной группы тромбоцитарную аутоплазму вводили 4 раза с интервалом в трое суток: на 1-е, 4-е, 7-е, 10-е сутки. Состояние ран оценивали через сутки после введения тромбоцитарной аутоплазмы: на 2-е, 5-е, 8-е, 11-е сутки, а также дополнительно на 24-е и 32-е сутки лечения. Дополнительно животным на раны ежедневно наносили мазь «Левомеколь». У животных контрольной группы на раны ежедневно наносили мазь «Левомеколь».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изменения диаметра ран у контрольной и подопытной групп лошадей представлены на нижеследующих рисунках.

У подопытной группы лошадей отмечено уплотнение струпа, струп плотно прилегает по всей поверхности раны. Консистенция струпа очень плотная. В то время как у контрольной группы лошадей заметно прогрессирование стадии гидратации: струп влажный, легко отсоединяется в центре и по периферии. Под стру-

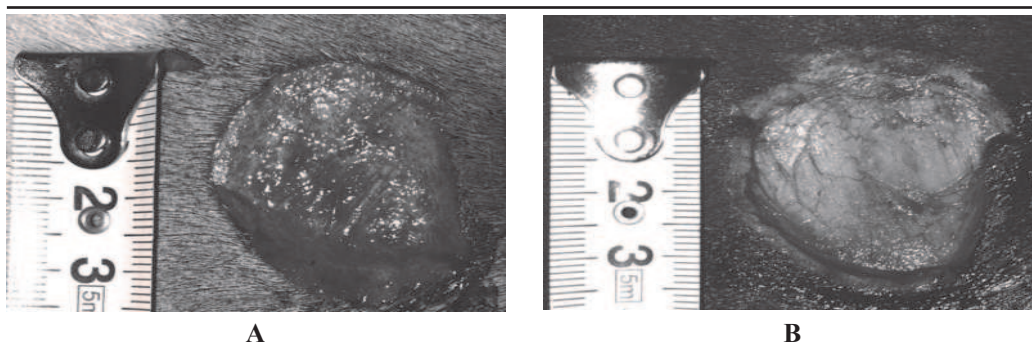


Рис. 2. Первые сутки. Раны лошадей до обработок. Вид ран после иссечения кожи и остановки кровотечения. Диаметр ран составляет 3,5 – 3,7 см у всех лошадей подопытной и контрольной группы (А – опыт, В - контроль)

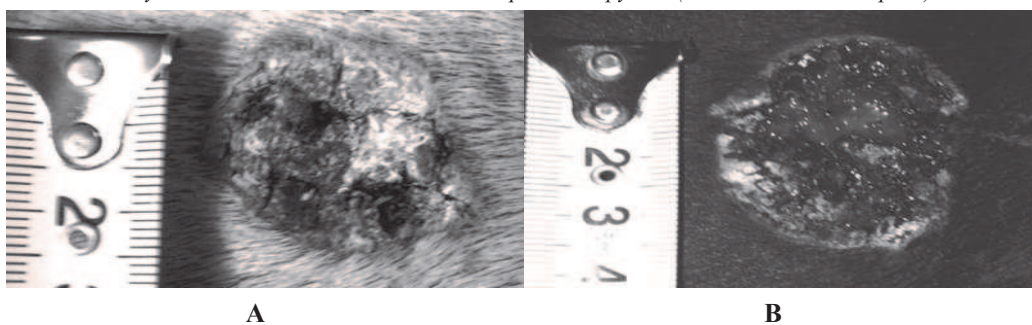


Рис. 3. 8-е сутки лечения (через 24 часа после третьей инъекции тромбоцитарной аутоплазмы) А – опыт, В - контроль

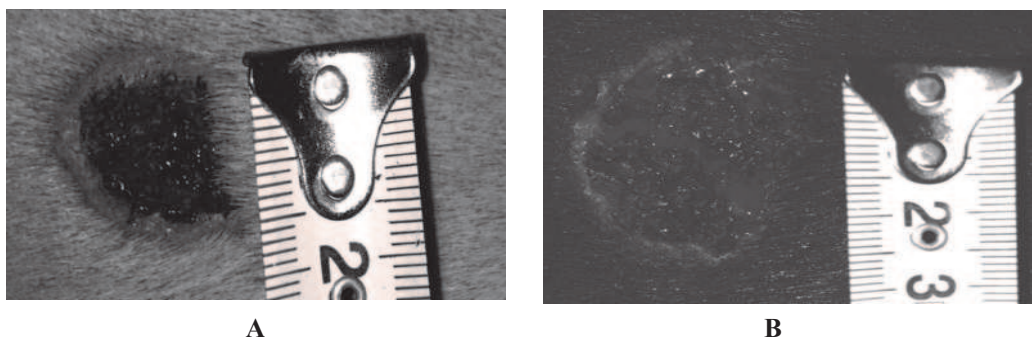


Рис. 5. 11-е сутки лечения (через 24 часа после четвёртой инъекции тромбоцитарной аутоплазмы). А – опыт, В– контроль

пом находился гнойный экссудат. Струп легко разрушается, крошится. У подопытной группы лошадей ярко заметно начало краевой эпителизации и уменьшение диаметра ран. Струп плотный, сухой. У контрольной группы лошадей заметно умень-

шение ран в диаметре, прогрессирование стадии гидратации: струп более «рыхлый», местами отслаивается и крошится. Отмечено начало краевой эпителизации. Но у подопытной группы лошадей визуальна площадь краевой эпители-

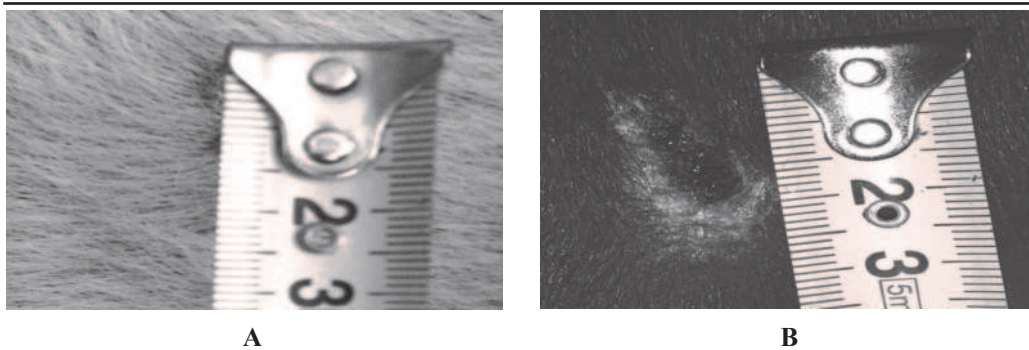


Рис. 8. 32-е сутки лечения; А – опыт, В - контроль

Таблица 1

Динамика изменения диаметра ран лошадей на этапах лечения

Номер инъекции	Сутки лечения	Диаметр ран в контрольной группе, см	Диаметр ран в подопытной группе, см
	До лечения	3,5±0,2	3,5±0,2
1	2	3,5±0,2	2,5±0,1*
2	5	3,5±0,2	2,4 ±0,1*
3	8	2,7 ±0,2	1,5 ±0,2*
4	11	2,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1*

Примечание: * различия статистически значимы, $p \leq 0,05$

зации значительно больше, чем у контрольной группы животных.

Раны подопытной группы лошадей зажили. По большей части поверхности выразен рост шерсти. У контрольной группы лошадей краевая эпителизация занимала 50% площади от всей раны. Струп плотный и сухой.

Применение для лечения ран тромбоцитарной аутоплазмы совместно с мазью «Левомеколь» в подопытной группе лошадей способствовало более быстрому заживлению ран по сравнению с группой лошадей, где применялась только мазь «Левомеколь». Данные измерения диаметра ран у лошадей на этапах лечения представлены в таблице 1.

Согласно данным в таблице 1 до лечения различия в диаметре ран у лошадей контрольной и подопытной групп статистически не значимы. На 2-е, 5-е, 8-е и 11-е сутки лечения тромбоцитарной аутоплазмой установили, что диаметр ран был

достоверно ($p \leq 0,05$) меньше у лошадей подопытной группы по сравнению с контрольной группой лошадей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заживление ран у лошадей происходит по гнойно-ферментативному типу. Характеризуется оно гнойно-экссудативными явлениями, протекающими при выраженной гидратации в виде воспалительного отёка. На этом фоне развивается гнойно-ферментативный процесс, в результате которого происходит ферментативное разжижение мертвых тканей, подавление роста микробов, выведение во внешнюю среду инородных предметов и других загрязнений вместе с гнойным экссудатом [2]. Такую картину мы наблюдали у лошадей контрольной группы. У лошадей подопытной группы заживление ран происходило нетипично: стадия гидратации и формирования гнойного экссудата носили невыраженный характер.

На наш взгляд, применение тромбоцитарной аутоплазмы совместно с традиционным лечением способствовало снижению воспалительного процесса и более раннему по времени заживлению ран у лошадей. Важно отметить, что в случаях задержки гноя в ране у лошадей гнойно-резорбтивная лихорадка при гнойно-экссудативном типе очищения, оказывается более выражена, по сравнению с протеканием раневого процесса у других видов животных[2]. Следовательно, применение тромбоцитарной аутоплазмы может быть рекомендовано для использования практикующими ветеринарными врачами не только как стимулятор регенерации ран, но и как профилактическое средство, недопускающее развитие гнойного процесса и возникновение гнойно-резорбтивной лихорадки у лошадей.

Выводы: 1) Применение тромбоцитарной аутоплазмы способствовало заживлению экспериментальных ран у лошадей. Через сутки после четвертой инъекции тромбоцитарной аутоплазмы диаметр ран у лошадей подопытной группы был меньше чем диаметр ран лошадей контрольной группы на 54 %.

2.) Лечение ран лошадей тромбоцитарной аутоплазмой практически исключило стадию гидратации из раневого процесса, что может служить профилактикой появления гноя в ране.

Treatment of skin experimental wounds in horses using Thrombocytic autoplasm.

B. Semenov, T. Kuznetzova, V. Guseva.

ABSTRACT

Our investigation describes autological platelets plasma influencing on horses wound healing in complex treating. We took blood into special tubes called as «Plasmolifting tm» (RUSSIA) and centrifuged it. Furthermore we took autological platelets plasma and injected into damaged area 1 time in 3 days. In addition, we made

application for wounds with ointment. In other horses group we applied ointment only. And we concluded that autological platelets plasma improves wound healing process. Wounds heal more rapidly. And autological platelets plasma excludes purulent process development. Therefore autological platelets plasma is a very efficient method for wound healing in equine veterinary medicine. And this method is recommended in veterinary practice.

Key words: platelet autoplasm "Plasmolifting tm" platelets, growth factors, horses, wound, wound process.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахмеров Р.Р., Зарудий Р.Ф. Плазмолифтинг – новый метод современной косметологии, XIV международный конгресс по прикладной эстетике, Москва, Крокус-Экспо, 14-16.04. 2011.
2. Семёнов Б.С., Виденин В.Н., Оперативная хирургия у животных. Учебное пособие МСХ М. Колосс 2012.
3. Foster T.E., Puskas B.L., Mandelbaum B.R., Gerhardt M.B., Rodeo S.A. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. Am J Sports Med. 2009, vol.37, №11, pp.2259-2272.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ КОПЫТЕЦ ПРИ ГЛУБОКИХ НЕКРОЗАХ

Симонов Ю.И.

Брянская государственная сельскохозяйственная академия

РЕФЕРАТ

Прогнозирование развития воспалительных процессов в области копыт коров остается актуальным в практике ветеринаров и ветеринарных врачей. В работе представлены сравнительные данные структуру тканей, и здоровые, и больные ткани копытами коров. Описание структурных изменений в тканях копыт с фокусным некроза.

Исследования показали, что в хозяйствах с завязанными содержания в зимний стойловый период обильного помета, состоящей из опилок, корова болезнь ног в среднем на 11%, в основном имеет дело с такими условиями, как заболевания, такие как ламинита, язва Rusterholz, деформация копыт, ран подошвы, глубоко некроза в сфере крючком и подошв, ламинат.

Коровы с глубокой некроза в области крючка составляет 0,5% от общего количества коров. В хозяйствах с содержанием коробки круглогодичного с незначительной помета и только в зоне отдыха, коровы с заболеваниями копыт размере до в среднем на 32%. Во многом происходят в таких заболеваний копыт, как болезни, таких как ламинита, ламинат, язвенной Rusterholz, болезни, Montellano, деформации копыта, ран подошв, глубокий некроз в области крючка, подошв и каблуков.

Ключевые слова: копытца, глубокий некроз, хромота, морфометрия, изменения, структура.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из серьезнейших проблем животноводства, является хромота коров. Актуальность данной темы преувеличить невозможно.

Значительная распространенность болезней дистального отдела конечностей у крупного рогатого скота, вызвана появлением новых этиологических факторов способствующих развитию ортопедической патологии, являющейся следствием не только различного травматизма, но и многих других причин производственно-технологического, экологического и организационного характера.

В связи с этим, важное значение имеет своевременная диагностика, изучение патогенеза и прогнозирование течения патологических процессов. Для этого необходимо использовать традиционные

и современные методы диагностики, которые позволяют выявить патологические процессы на раннем этапе и предпринять адекватные меры.

В настоящее время известно 18 заболеваний копытец крупного рогатого скота. Нередко у коров в дойных стадах одновременно регистрируют по 5-10 разных болезней пальцев.

Цель исследований: изучить особенность клинических признаков и структурные изменения тканей копытец у коров при глубоких некротических процессах в области зацепа.

Задачи:

- а) изучить характер поражений копытец у коров;
- б) определить особенности клинических признаков поражений копытец в области зацепа;
- в) провести сегментальное сравнение

тканей здоровых и пораженных копытца.

Материалом для исследования послужили данные ортопедической диспансеризации и лечебно-профилактических мероприятий.

Для анализа и проведения исследований, выбраны коровы в животноводческих хозяйствах Брянской области с удоем 4,5 - 6 тыс. кг. с похожим типом кормления, но с разными условиями содержания.

К первой группе относятся хозяйства с привязным содержанием в зимний стойловый период, подстилка обильная состоящая из опилок. В летний период коровы содержатся на пастбищах в летних лагерях.

К второй группе относятся хозяйства с круглогодичным беспривязным боксовым содержанием с незначительной подстилкой только в зоне отдыха.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диспансеризации подвергнуто 1450 голов коров. Проведена профилактическая и лечебная расчистка и обрезка копытца у 850 коров. Применялись клинические, морфологические, морфометрические методы исследований и криоподготовка боенского материала.

В доступной нам литературе мы не нашли описания глубоких некротических процессов в области зацепа копытца, а они встречаются довольно часто, особенно при беспривязном боксовом содержании.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате исследований было выявлено, что в хозяйствах с привязным содержанием в зимний стойловый период обильной подстилкой состоящей из опилок, коровы с заболеванием копытца составляют в среднем 11%, в основном встречаются такие заболевания как пододерматит, язва Рустергольца, деформация копытного рога, раны подошвы, глубокие некрозы в области зацепа и подошвы, ламинит.

Коровы с глубокими некрозами в области зацепа составляют 0,5% от всего поголовья коров.

В хозяйствах с круглогодичным боксовым содержанием с незначительной подстилкой и только в зоне отдыха, коровы с заболеваниями копытца составляют в среднем 32%. Встречаются в основном такие заболевания копытца как: пододерматит, ламинит, язва Рустергольца, болезнь Монтелларо, деформация копытного рога, раны подошвы, глубокие некрозы в области зацепа, подошвы и пятки.

Коровы с глубокими некрозами в области зацепа составляют 11% от всего поголовья.

Особенности клинических признаков при глубоких поражениях в области зацепа заключаются в том, что коровы хромают, при ходьбе не опираются на зацеп, при стоянии или ходьбе опора производится на пяточную часть, зацеп завернут вверх, копытце остроугольное. Длина копытцевого рога по зацепу составляет 9 - 12 см. При некротических процессах распространяющихся под копытной стенкой с зацепной стороны наблюдается ограниченное плотное припухание венчика, каймы, подкожной клетчатки и кожи на пораженном пальце.

Местная температура, симметричных участков, на пораженном пальце выше чем на здоровом на один градус.

Пяточные части подошвы имеют незначительные очаги мацерации. Подошва пораженного копытца в 1,5-2 раза шире чем у здорового.

При расчистке подошвы, в области зацепа, обнаруживается отверстие круглой или овальной формы, диаметром от 1,5 до 3 см. Из отверстия выделяется серо-бурого цвета гнилоостный экссудат. При обследовании патологического очага раневым щупом, устанавливали, что он без сопротивления проходит вдоль зацепной части роговой стенки копыта в

сторону венчика. Глубину некротического очага определяли по глубине проникновения раневого щупа и расстоянию до венчика. Щуп до венчика не доходил на 1,5-3 см.

При обрезке роговой стенки копыльца и подошвы обнаруживали поражения внутренних слоев копыльца, при этом длина роговой стенки по зацепу, без значительного кровотечения, укорачивалась до 4-5 см.

Для определения характера структурных изменений тканей пораженных копылец, нами проведен сравнительный анализ сегментальных срезов здоровых и пораженных пальцев на разных уровнях. Срезы производили после убоя на замороженной конечности циркулярной пилой поперек костей фалангов по анатомически симметричным участкам.

При срезе зацепов на расстоянии 8 см. от венчика, установлено, что на здоровом копыльце четко просматривается хорошо сформированная белая линия и подошва. На пораженном пальце, копытцевая стенка толще в четыре раза по сравнению с аналогичным участком здорового копыльца. Под белой линией находится полость овальной формы с неровными краями, которая имеет выход, в виде трещины, между зацепной и межпальцевой стенками. Подошва двойная и утолщенная.

После срезания копылец на расстоянии 7 см. от венчика, мы наблюдаем, что боковая наружная стенка пораженного копыльца толще в два раза по сравнению с аналогичным участком на здоровом пальце. Под белой линией некротизированная полость овальной формы с неровными краями. Подошва в два раза толще по сравнению со здоровым копыльцем.

На сегментальном срезе копылец на расстоянии пяти см. от венчика площадь пораженного копыльца в два раза больше

чем у здорового. Некротизированная полость, по размеру и состоянию, в сравнении с предыдущим срезом, не изменилась. Толщина подошвы на отдельных участках в три раза толще. Копытцевая кость не просматривается.

Срез копылец на расстоянии 3 см. от венчика выявил, что на пораженном пальце некротизированная полость расположена между белой линией и копытцевой костью. Подошва в три раза толще чем на здоровом копыльце.

Срез копылец на расстоянии 1 см. от венчика, показывает, что на здоровом копыльце с дорсальной стороны, между копытцевой стенкой и копытцевой костью хорошо просматривается основа кожи венчика. Копытцевая кость имеет правильную форму с хорошо выраженной надкостницей и сосудистыми отверстиями. Под копытцевой костью виден мякиш. Подкожный слой и подошва сформированы отчетливо.

На пораженном копыльце основа кожи венчика наблюдается только между зацепной копытцевой стенкой и копытцевой костью. Под боковой наружной копытцевой стенкой заметны две некротизированные полости. Копытцевая кость имеет явно выраженные застойные явления. Под копытцевой костью просматривается мякиш. Толщина подошвы на пораженном копыльце в два раза больше, чем на здоровом.

Срез на уровне венчика показывает, что на пораженном копыльце основа кожи венчика отечна, копытцевая кость с застойными явлениями, мякиш по структуре резко отличается от здорового. Некротизированная полость расположена на нижней части под наружной боковой стенкой копыльца.

На срезе выше венчика на 2 см. все ткани здорового пальца имеют четкие границы и естественный цвет. На пораженном пальце вокруг костей

наблюдается отечность, при этом размер пораженного пальца в полтора раза больше здорового.

На последующих срезах, состояние тканей аналогичное описанному в предыдущем срезе. Такая картина наблюдается до середины путовой кости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований позволяют утверждать, что глубокие некротические процессы в области зацепа имеют широкое распространение у коров при беспривязном боксовом круглогодичном содержании. Пораженное копытце в два раза больше здорового. В пораженном пальце изменена структура листочкового и сосудистого слоев. В копытцевой кости и надкостнице происходят застойные сосудистые процессы. Воспалительный процесс носит хронический характер.

Struktural changes in the tissues of the hoofs with deep necrosis.

U. Simonov.

ABSTRACT

Forecasting the development of inflammatory processes in the area of the hoofs of cows remains relevant in practicing veterinarians and veterinary surgeons. The paper presents comparative data the structure of tissues, both healthy and diseased tissues of the hoofs of cows. The description of structural changes in the tissues of the hoofs with focal necrosis.

The studies found that the farms with the fastened content in winter stall period abundant litter consisting of sawdust, cow disease of the legs are on average 11%, mainly deals with such conditions as the disease such as laminitis, ulcer Rusterholz, deformation hoof, wounds soles, deep necrosis in the sphere of a hook and soles, laminated flooring.

Cows with deep necrosis in the field of a hook is 0.5% of the total number of cows. In the farms with a year-round box content with minor litter and only in the recreation area, cows with diseases of hooves amount to an

average of 32%. Largely occur in such diseases of hooves as a disease such as laminitis, laminated flooring, ulcer Rusterholz, illness, Montellano, deformation hoof, wounds soles, deep necrosis in the field of a hook, soles and heels.

Key words: hoof, deep necrosis, limp, morphometry, changes the structure.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колганова Г.А. Морфология заживления травматических ран. Вопросы лечения и профилактики / Г.А.Колганова, Е.А.Дуракова, Р.А.Толдинова, Е.А.Воробьева // Повышение эффективности функционирования АПК: Тез. докл. науч.- практ. конф.(март, 1995). – Курск.- 1995. – С. 30 – 31.
2. Молоканов В.А. Особенности этиопатогенеза заболеваний копытцев у коров и первотелок / В.А.Молоканов, П.Э.Вольф // Актуальные проблемы ветеринарной хирургии. – Воронеж. - 1999. – С. 178 – 179.
3. Гимранов В.В. Распространение язвенных процессов в области пальцев у крупного рогатого скота. // Ветеринария. – 2005. - №5. – С. 54-55.
4. Гимранов В.В. Классификация болезней в области пальцев у крупного рогатого скота. Ветеринария -2006.- №2. С. 48-49.
5. Авроров В.Н. Сущность и классификация травматизма в промышленном животноводстве / В.Н. Авроров // Ветеринария. -1992.- № 5. -С. 48-50.
6. Веремей Э.И. Лечение коров при гнойно-некротических процессах в области копытцев и пальцев / Э.И. Веремей, В.А. Журба, В.А. Лапина // Ветеринария. – 2004. - №3. – С. 39-41.

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ БИОДЕГРАДИРУЕМОГО ПОКРЫТИЯ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ПРОТЕЗИРОВАНИЯ ЗУБОВ У СОБАК

Красников А.В.¹ - к.в.н., доцент кафедры паразитологии, эпизоотологии и ВСЭ;
Анников В.В.¹ - д.в.н., профессор кафедры паразитологии, эпизоотологии и ВСЭ;
Морозова Д.Д.¹ - студентка 3 курса факультета ветеринарной медицины и биотехнологии;
Фомин А.А.² - к.т.н., доцент кафедры сварка и металлургия;
Заярский Д.А.³ – ведущий инженер отдела клеточной инженерии;
Петрова Н.В.³ - м.н.с. отдела клеточной инженерии;

¹Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова;

²Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина;

³Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского.



РЕФЕРАТ

Авторами установлено, что для формирования биоразлагаемого покрытия на поверхности титановых имплантатов, которые используются для протезирования зубов у собак может быть использован в качестве функционального вещества - Полиазиридин аммоний модифицированный гидратов-ионов галогена в концентрации не более 0,0001%, а в качестве биологически активного вещества - водной дисперсии субмикронных агрегатов флавоноидов в концентрации 1,25 мг / мл.

Состоялось изучение взаимодействия отдельных функциональных и биологически активных веществ в пробирке, чтобы определить оптимальную дозировку составных компонентов, с клетками мезенхимального происхождения - фибробластов, что позволило авторам утверждать, что с данной концентрации веществ имплантатов Bio resistant и не цитотоксический эффект не происходит. Доказательства нетоксичных веществ не было повреждение клеток в культуре клеток с возможностью сцепления фибробластов в экспериментальных образцов.

Ключевые слова: имплантаты, дермальные фибробласты, адгезия, пролиферация, собаки, протезирование зубов, биоинтеграция.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие ветеринарной медицины привело к пониманию важности лечения болезней ротовой полости и зубочелюстного аппарата, поскольку они оказывают непосредственное влияние на состояние пищеварительной системы и, следовательно на гомеостаз животного в целом [1].

Имплантация в ткани организма любого чужеродного материала вызывает воспалительно-репаративную реакцию, которая явля-

ется выражением защитно-компенсаторной функцией соединительной ткани. Воспалительный процесс в окружающей ткани ведет к пролиферации фибробластов, которые продуцируют коллагеновые волокна и другие компоненты экстрацеллюлярного матрикса. Формируется соединительнотканная капсула, изолирующая инородное тело. Исключением являются только материалы, подвергающиеся быстрой биодеградации или полной резорбции без формирования капсу-

лы [4,5].

Дентальная имплантация предполагает введение в ткани организма чужеродных тел. Соответственно, главным условием успеха является приживание имплантируемого материала. Поэтому к нему предъявляются жесткие требования. Он не должен вызывать общей или местной негативной реакции организма, в частности, не быть токсичным, канцерогенным, аллергенным, радиоактивным и быть биоинтегрируемым [2,6,7].

Интенсивность и наличие воспалительного процесса воспаления зависят от степени биосовместимости имплантируемых материалов. Поэтому биоматериалы, предназначенные для медицинской и ветеринарной практики, обязательно должны проходить токсикологические и морфологические исследования в условиях, максимально приближающихся к их конкретному использованию [4,5].

Выбор наиболее подходящего материала для эндопротезирования - весьма сложная задача, для решения которой используют исследования *in vitro* и *in vivo*.

Необходимо учитывать, что созданное вещество или изделие должно удовлетворять регламентированным показателям по токсичности (отсутствие), либо иметь преимущества в степени активизации взаимодействия клеток в процессах репарации, изделиям, уже существующим на рынке. Тестирование, как один из этапов по созданию вещества с заданными свойствами, позволит перейти к разработке технологии производства, удовлетворяющей потребностям качества.

Для практического использования биоинтегрируемого композитного материала, включающего функциональное вещество – полиазолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами галогенов, а в качестве биологически активного вещества – водную дисперсию субмикронных агрегатов флавоноидов в качестве покрытия на внутрикостных имплантатах провели его

апробацию *in vitro* с клетками мезенхимного происхождения – фибробластами. Очевидна целесообразность изучения взаимодействия отдельно функционального и биологически активного веществ на функциональные характеристики культуры фибробластов. Культура этой клеточной популяции относительно доступна, особенности роста фибробластов *in vitro* хорошо изучены и позволяют получить достаточный для исследования на начальном этапе результат в короткие сроки.

Исходя из этого мы определили цели работы:

1. Проанализировать функциональное состояние дермальных фибробластов, культивируемых на титановых заготовках для имплантатов с нанесённой на их поверхность полимерной плёнкой и прополисом в различных концентрациях.

2. Определить концентрацию полимера и прополиса, способствующую необходимой адгезивной и пролиферативной возможностям клеточной культуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили дермальные фибробласты человека, выделенные из здоровой донорской кожи, которая была предоставлена клиниками пластической хирургии г. Саратова.

Для получения клеточной культуры дермальных фибробластов использовали метод тканевых эксплантатов [3]. Исходным материалом в работе были биоптаты нормальной кожи взрослых доноров, полученные после косметических операций, при этом пациенты были обследованы на RW, гепатиты, ВИЧ.

Биоптаты кожи забирали в условиях операционной в транспортные флаконы со стерильной ростовой средой.

Дальнейшая работа с исходным материалом и культурами клеток проводилась в стерильных условиях, в специально оборудованной для этого комплексов «чистых» ламинаров (2-й класс защиты («Nuair», USA)) лаборатории.

Полученную для экспериментов кожу тщательно промывали в растворе PBS, содержащем в своём составе антибиотик и антимикотик. Биоптат нарезали на мелкие кусочки и инкубировали в чашке Петри, в среде DMEM с 18%-ным содержанием фетальной бычьей сыворотки до образования фибробластами, мигрировавшими из экспланта, монослоя. Жизнеспособность и пролиферативную активность культуры оценивали с помощью автоматического счетчика клеток в 1 мл среды.

Перед началом экспериментов изучаемые образцы титановых заготовок стерилизовали в сухожаровом шкафу («Экрос», Россия), затем помещали в 24-луночные планшеты («Costar», USA), после чего высевали клеточную культуру (концентрация составила $1 \cdot 10^5$ клеток на образец в 2-х мл среды). Для культивирования использовали питательную среду DMEM («Биолот», Россия) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (Fetal Bovine Serum, HyClone UK) и смеси антибиотика-антимикотика. Планшеты помещались в CO₂ инкубатор Sanyo MCO - 18 M («Sanyo», Япония) с температурой 37° C и 5% содержанием углекислоты. Оценку состояния клеток, культивируемых на экспериментальных материалах, проводи-

ли с помощью методов световой микроскопии. За изменением формы и количеством клеток в процессе культивирования, наблюдали под инвертируемым микроскопом («МИБ-Р», Россия).

В качестве субстрата для экспериментов использовали титановые заготовки с нанесенной на их поверхность полимерной плёнкой (полиэзолидинаммоний, модифицированный гидрат-ионами галогенов) и прополисом в различных концентрациях: образец №1 – контроль, образец №2 – БАВ 10мг/мл, образец №3 – БАВ 5 мг/мл, образец №4 – БАВ 2,5 мг/мл, образец №5 – БАВ 1,25 мг/мл, образец №6 – ФВ 1%, образец №7 – ФВ 0,1%, образец №8 – ФВ 0,01%, образец №9 – ФВ 0,001%, образец №10 – ФВ 0,0001%. Концентрация клеток составила $1 \cdot 10^5$ на образец. Жизнеспособность культуры составила 94%.

Показатели адгезии и пролиферации клеточной культуры на имплантатах изучали с помощью электронного микроскопа (MIRA\LMU, “Tescan”).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе эксперимента на фибробластах определялись оптимальные дозировки компонентов композита, не оказывающие угнетающего влияния на данные клетки.

Таблица 1
Оценка воздействия разных концентраций функционального и биологически активного веществ на функциональные характеристики культуры фибробластов

1 сутки			2 сутки		
№	Образец	Оценка	№	Образец	Оценка
1	Контроль	+	1	Контроль	+
2	БАВ 10 мг/мл	+	2	БАВ 10 мг/мл	+/-
3	БАВ 5 мг/мл	+	3	БАВ 10 мг/мл	+/-
4	БАВ 2,5 мг/мл	+	4	БАВ 2,5 мг/мл	+/-
5	БАВ 1,25 мг/мл	+	5	БАВ 1,25 мг/мл	+
6	ФВ 1 %	---	6	ФВ 1 %	--
7	ФВ 0,1 %	---	7	ФВ 0,1 %	--
8	ФВ 0,01 %	--	8	ФВ 0,01 %	+/-
9	ФВ 0,001 %	-/+	9	ФВ 0,001 %	+/-
10	ФВ 0,0001 %	+	10	ФВ 0,0001 %	+/-

+ норма, ++ хорошо, - частичная гибель, -- преимущественная гибель, --- полная гибель, +/- в наличии и живые и мертвые фибробласты

Проведенные исследования показали, что клетки хорошо адгезировали на образцах под номерами 1,2,3,4,5. Также вблизи представленных образцов наблюдалась высокая пролиферативная активность.

На образцах 6 и 7 наблюдалось угнетение роста клеток, а затем и их последующая гибель. Об этом свидетельствует изменение формы (округление) и отсутствие роста клеток.

На образцах 8, 9, 10, где концентрация полимера последовательно уменьшалась, наблюдалось улучшение адгезивной и пролиферативной способностей клеточной культуры. О чем свидетельствует наличие вблизи образца клеток характерной формы.

Наилучшие результаты получены на образце №10. При проведении контрольной микроскопии через 24 часа наблюдали следующее: культура в хорошем состоянии, форма клеток преимущественно веретеновидная, отростки выражены, ядра отчетливо контурируются.

В таблице 1 представлены результаты эксперимента по воздействию разных концентраций функционального и биологически активного веществ на функциональные характеристики культуры фибробластов в первые и вторые сутки эксперимента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, анализ функционального состояния дермальных фибробластов, культивируемых на титановых заготовках с нанесенной на их поверхность полимерной пленкой и прополисом в различных концентрациях, показал, что для формирования биodeградируемого покрытия на поверхности имплантационных материалов необходимо использовать следующие концентрации веществ: прополиса - 1,25 мг в мл по ДВ, полимера – не более 0,0001 %. Свидетельством нейтральности образцов является отсутствие повреждения клеток в культуре с возмож-

ностью адгезии клеток на экспериментальных веществах.

Justification of use of biodegradable coatings on titanium implants, used for dental prosthetics for dogs. A.V. Krasnikov,

V. Annikov, D. Morozova, A. Fomin, D. Zayarsky, N. Petrova.

ABSTRACT

The authors found that for the formation of the biodegradable coating on the surface of titanium implants, that are used for prosthetic teeth in dogs can be used as a functional substance - poliazolidinammonium modified by hydrate-ions of halogen in a concentration of not more than 0.0001%, and as the biologically active ingredient - an aqueous dispersion of submicron aggregates of flavonoids in concentration of 1.25 mg / ml. A study of the interaction of separate functional and bioactive substances *in vitro* was held, to determine the optimal dosage of composite components, with cells of mesenchymal origin - fibroblasts, which allowed the authors to assert that with the given concentration of substances implants are bioresistant and no cytotoxic effect takes place. Evidence of non-toxic substances was no damage to the cells in the cells culture with the possibility of adhesion of fibroblasts in experimental samples.

Key words: implants, dermal fibroblasts, adhesion, proliferation, dogs, dental prosthetics, biointegration.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков А.А. Клинико-морфологическая классификация гастритов у собак // Ветеринария Кубани. -2009. - №6. - С. 23-28.
2. Лясников В.Н. Внутрикостные стоматологические имплантаты. – Саратов. 1997. – 87 с.
3. Пинаев Г.П. Методы культивирования клеток // Культивирование клеток кожи человека. – СПб.: Изд-во Политехнического университета, 2008. – С.174-188.
4. Шехтер А.Б. Воспаление и регенера-

ция // Воспаление. - М.: Медицина, 1995. - С. 200 - 219.
5. Шехтер А.Б. Биосовместимость / под ред. В.И. Севастьянова. - М.: ГУП «Информационный центр ВНИИ геосистем», 1999. - 368 с.
6. Jarcho M. Retrospective analysis of hy-

droxyapatite development for oral implant application // Dent. Clin. North Amer. – 1992. – Vol. 36. – P. 19-26.
7. Steinemann S., Perren S. Titanium alloys as metallic biomaterials / Proc. of the fifth World conference on titanium. – 1984. – Vol. 2. – P. 1327-1334.



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК: 616-003.96:616.33-008:636.2

ВЛИЯНИЕ СТРЕСС-ФАКТОРОВ НА ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ТЕЛЯТ ДИСПЕПСИЕЙ

Винникова С.В. - доцент, Донская Т.К. - доцент,
Батраков А.Я. - профессор, Кириллов А.А. - ассистент
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Стрессовые факторы у коров, возникающие из-за нарушения режима стойлового содержания, грубого обращения, отсутствия активного движения, переохлаждение, сильных производственных шумов, оказывают отрицательное влияние на рост и развитие плода. Воздействие внешних факторов на организм новорожденных телят, нарушение режима их кормления и другие факторы способствуют возникновению диспепсии телят, что и является самой актуальной проблемой на сегодняшний день [2,4,6,7,8]. Диспепсия новорожденных телят возникает у животных со слабой резистентностью организма, гипотрофией, подверженных воздействию стресс-факторами [1,7,8].

Ключевые слова: стресс, диспепсия, телята, эритроциты.

ВВЕДЕНИЕ

Диспепсия – острое заболевание новорожденных телят, проявляющееся функциональным расстройством пищеварения и интоксикацией организма. Возникновению данного заболевания предшествует взаимодействие многих факторов. Одним из факторов и является стресс [2,3,4,5,8]. Стрессовые факторы являются пусковым началом болезни, на фоне которых создаются условия для расстройства функционирования мембранного пищеварения и возникающего в результате этого дисбактериоза в микро-

флоре пищеварительного тракта, за счёт размножения гнилостной токсигенной группы [1,2,4,7,8].

Болеет диспепсией молодняк во все сезоны года, заболевание иногда носит массовый характер, что приводит к большому экономическому ущербу и большим затратам на организацию мер борьбы и восстановления поголовья стада.

Развитие кишечных заболеваний молодняка взаимосвязано снижением резистентности организма животных, возникающее от воздействия комплекса неблагоприятных факторов внешней среды, к

которым относятся нарушение санитарно-гигиенических условий (принципа «свободно — занято») и других факторов рефлекторно-стрессового характера. Это не соблюдение основ промышленной технологии, низкий уровень организации работ по выращиванию молодняка, неполноценное кормление с использованием недоброкачественных кормов, несоблюдение оптимальных режимов микроклимата, нарушения требований поточно-цеховой системы, слабая подготовка обслуживающего персонала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Цель данной работы - изучение некоторых гематологических показателей крови при диспепсии у новорожденных телят.

Исследование проводилось на животноводческом комплексе ЗАО «Тайцы» Гатчинского района Ленинградской области в период 2013 года на телятах в количестве 10 голов черно-пестрой породы в возрасте от 1 до 10 дней с диагнозом диспепсия. Новорожденные телята содержались в индивидуальных клетках находящихся в родильном отделении, температура в помещении отклонялась от нормы (16–20°C) в пределах $\pm 10^\circ\text{C}$, при недостаточной вентиляции.

При гематологическом исследовании крови у больных телят определяли уровень гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов. Контролем послужили клинически здоровые телята (5 голов) не имеющих отклонений в объективном статусе (в возрасте от 1 до 10 дней). Отбор проб крови производили утром из яремной вены натошак у новорожденных телят больных и клинически здоровых (контроль) животных до выпойки молозивом, от каждого животного в объёме 10мл в пробирки с цитратом Na^+ .

Экспериментальные данные обработаны статистически с использованием t – критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В процессе исследования было установлено, что 5 телят по клиническому проявлению имели легкую форму, остальные 5 телят - тяжелую форму диспепсии. Результаты гематологических исследований представлены в таблице №1 и №2. У всех телят больных диспепсией наблюдали повышение в крови уровня гемоглобина и количества эритроцитов.

При легкой форме у животных отмечали понижение аппетита, угнетение общего состояния, шерстный покров был грязный и взъерошенный, в области хвоста запачкан зловонными фекальными массами жидкой консистенции, серо-желтого цвета с содержанием слизи.

При легкой форме диспепсии уровень гемоглобина имел тенденцию к повышению до $12,2 \pm 0,80$ г% (при норме 7,5 – 10 г%), а количества в крови животных эритроцитов до $10,29 \pm 0,40$ млн/мкл (при норме 6-8 млн/мкл).

При тяжелой форме диспепсии клинические признаки проявлялись отсутствием аппетита, частым актом дефекации жидкими фекальными массами с большим количеством слизи серого цвета зловонного запаха, сильное обезвоживание организма, телята чаще лежали. Кончики ушей и носовое зеркало были холодными.

Уровень гемоглобина при тяжелой форме диспепсии больных новорожденных телят доходил до $15,5 \pm 0,22$ г% ($p < 0,01$) по сравнению больными новорожденными телятами с легкой формой диспепсии (при норме 7,5 – 10 г%). Количество эритроцитов в крови животных также повышался у больных тяжелой формой диспепсии и доходил до $14,15 \pm 0,70$ млн/мкл ($p < 0,0027$) по сравнению с легкой формой диспепсии (при норме 6-8 млн/мкл). Отмечалось, также повышение и лейкоцитов у больных новорожденных телят диспепсией.

Полученные данные при гематологическом исследовании не зависимо от легкой или тяжелой формы заболевания

Таблица №1
Гематологическое исследование крови телят больных диспепсией (лёгкая форма)

№ группы	Кол-во эритроцитов $10^{12}/л$	Кол-во лейкоцитов $10^9/л$	Hb г%	Лейкограмма %							клетки Тюрка
				Б	М	Э	Ю	П	С	Лимф.	
Контроль	6-8	5,5-10	7,5-10	0,5	0	6,3	0,2	3,5	27	62,5	0
1.	11,5	11,5	11	1	-	1	-	24	27	47	-
2.	10,4	13,8	10	-	-	6	2	9	38	45	-
3.	9,1	5,9	14	-	-	4	3	9	36	48	-
4.	10,2	13,8	14	1	-	2	-	18	40	39	-
5.	10,4	10,6	12	-	-	4	2	20	36	38	-
	10,3±0,4	11,1±1,5	12,2±0,8	0,4±0,2	-	3,4±0,9	1,4±0,6	16,0±3,0	35,4±2,2	43,4±2,1	-

Таблица №2
Гематологическое исследование крови телят больных диспепсией (тяжёлая форма)

№ группы	Кол-во эритроцитов $10^{12}/л$	Кол-во лейкоцитов $10^9/л$	Hb г%	Лейкограмма %							клетки Тюрка
				Б	М	Э	Ю	П	С	Лимф.	
Контроль	6-8	5,5-10	7,5-10	0,5	0	6,3	0,2	3,5	27	62,5	0
1.	12,0	12,3	15	1	-	1	-	13	35	50	-
2.	15,2	15,6	16	-	-	5	1	11	38	45	-
3.	16,0	13,1	15	-	-	4	3	10	30	53	-
4.	14,2	13,9	16	1	-	2	-	9	29	59	-
5.	13,4	17,2	16	1	-	4	2	8	39	46	-
	14,2±0,7	14,4±0,9	15,5±0,2	0,6±0,2	-	3,2±0,7	1,2±0,6	10,2±0,9	34,2±2,0	50,6±2,5	-

говорят о сгущении крови больных диспепсией телят (альгидное состояние).

ВЫВОДЫ

Оценивая результаты гематологии крови, следует отметить повышение уровня гемоглобина и количества эритроцитов, что достоверно подтверждено.

При легкой форме диспепсии уровень гемоглобина имел тенденцию к повышению и незначительному повышению количества эритроцитов в крови животных.

При тяжелой форме диспепсии значительно повышался уровень гемоглобина и количество эритроцитов в крови новорожденных животных по сравнению с легкой формой диспепсии.

При сочетании высокой температуры с высокой влажностью и недостаточным движением воздуха в помещении отрицательно сказывается на состоянии животных. Отклонение норм параметров микроклимата в родильном отделении, как стресс-факторы способствуют развитию диспепсии у новорожденных телят с понижением резистентности их организма.

Influence a stress factors on incidence of calves of a dispepsiya

S. Vinnikova, T. Donskaya, A. Batrakov, A. Kirillov.

ABSTRACT

Stressful factors at the cows, arising because of violation of a mode of the stall contents, ill-treatment, lack of active physical exercise, overcooling, strong production noise, have negative impact on growth and fruit developments impact of external factors on an organism of new born calves, violation of a mode of their feeding, etc. promote dispepsiya emergence at calves.

Dispepsiya of newborn calves arises at animals with weak resistance of an organism, a hypotrophy, subject to influence a stress factors .

Stressful factors are a starting onset of the illness against which conditions for disorder of functioning of membrane and resulting this dysbacteriosis in microflora of a

digestive tract, at the expense of reproduction of putrefactive toksigenny group are created the principle ("it is free — it is occupied") and other factors reflex – stressful character. It not observance of bases of industrial technology, low level of the organization of works on reproduction of herd and to young growth cultivation, defective feeding with use of substandard forages, and also non-compliance with optimum modes of a microclimate, violation of requirements of line and shop system, weak preparation of the service personnel.

All listed a stress factors also cause a dispepsiya in newborn calves with fall of resistance of their organism.

Key words: stress, dispepsiya, calves, erythrocyte

ЛИТЕРАТУРА

1. Джамбулатов М.М. Гематологические показатели телят при диспепсии в хозяйствах Дагистана. -АСХИ. -1986.-С.56-90.
2. Зуев А.В. Проблемы и решения создания высокопродуктивных молочных стад. -М. -2006.- 265с.
3. Иваненко И.Г. Методы профилактики диспепсии новорожденных телят с учётом результатов диспансеризации маточного поголовья и приплода. -Рязанский СХИ. 1971. -20с.
4. Медведев И.Н. Плазменный гемостаз у новорожденных телят и роль корректоров при его нарушении // Зоотехния.- 2009. - №2. С 9-11.
5. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. - М.: Колос, 2004.-520с.
6. Соколов В.Д. Фармакологическая коррекция патологических синдромов «Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки» // Экспресс-инфо. СПб. 2002. Вып. 12. С. 3-4.
7. Щербаков Г.Г. Внутренние болезни животных. – СПб. -2002.- 736с.
8. Goldstein D.S., Kopin I.J. Evolution of concepts of stress / Stress. 2007. V. 10. № 2. P. 109-120.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ФУРАРГЕНТА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

Лунегов А.М. - к.вет.н., доцент кафедры фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Соединения серебра широко используются как эффективные антибактериальные агенты для борьбы с патогенами. В течение последних двадцати лет противомикробные свойства серебра стали привлекать к себе внимание. Это связано с ростом аллергических осложнений антибактериальной терапии, токсическим действием антибиотиков на внутренние органы и подавлением иммунитета, а также появлением устойчивых штаммов возбудителей к используемым антибиотикам. 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. Так на кафедре фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины был разработан антисептический препарат фураргент на основе серебра. Фураргент эффективен при обработке кожи и тканей при различных повреждениях у сельскохозяйственных и мелких домашних животных, а также для обработки инъекционного, послеоперационного поля и свежих ран, для промывания полостей при гнойных процессах, лечения гнойных ран, остаточных послеоперационных поверхностных ран, заживающих под струпом. Провели серию опытов по определению антимикробной активности антисептического средства фураргента, сроком хранения 6 лет, методом серийных разведений на мясо-пептонном бульоне. В результате проведенных опытов было доказано антимикробное действие препарата. Фураргент в 50%-ной концентрации обладает бактерицидными свойствами по отношению протей, золотистого стафилококка и кишечной палочки и не потерял своей антимикробной активности при хранении в темном сухом месте во флаконах из темного стекла в течение шести лет.

Ключевые слова: антисептические средства, серебро, антимикробное действие, стафилококк, кишечная палочка, протей.

ВВЕДЕНИЕ

Соединения серебра широко используются как эффективные антибактериальные агенты для борьбы с патогенами (бактерии, вирусы и эукариотные микроорганизмы) в клинике и для гигиены в быту. Катионы серебра (Ag^+) микробоцидны при низких концентрациях и обычно используются для обработки ожоговых инфекций, ран и язв. Серебро использует-

ся для покрытия катетеров с целью предотвращения образования биологических пленок, в изделиях гигиены, включая кремы для лица и зубные пасты, в супермаркетах для мытья овощей, в фильтрах для очистки воды, воздуха и даже для приготовления «антимикробной жевательной резинки» [9].

В течение последних двадцати лет противомикробные свойства серебра стали привлекать к себе внимание. Это свя-

зано с ростом аллергических осложнений антибактериальной терапии, токсическим действием антибиотиков на внутренние органы и подавлением иммунитета, возникновением грибкового поражения дыхательных путей и дисбактериоза после длительной антибактериальной терапии, а также появлением устойчивых штаммов возбудителей к используемым антибиотикам [2,6].

Доктор Н.И. Соловьев впервые в истории Сибири в 1913 году применил препарат коллоидного серебра электраргол для борьбы с сепсисом и показал его высокую эффективность в лечении тяжелых септических осложнений [7].

В конце XIX века внимание исследователей привлекают ценные дезинфицирующие свойства некоторых металлов. В литературе появляются сообщения о способности металлов (меди, серебра) при контакте с водой убивать находящиеся в ней микроорганизмы. Это открытие, принадлежащее швейцарскому ботанику К. Негели, было опубликовано в его известном труде в 1893 году [3].

Значительный вклад в решение проблемы антимикробного эффекта серебра внесли С.Г. Brander, D.M. Pugh и R.J. Wywater, которые объяснили олигодинамическое действие серебра выведением из строя ферментов, содержащих SH- и COOH-группы. Нарушение одного из таких ферментов приводит к выключению функций всей системы клетки [10].

О локализации серебра в микробной клетке наиболее подробно описано в работе В.Н. Голубовича (1975). Изучение влияния серебра на активность бактериальных ферментов, которые, как известно, локализуются в цитоплазматической мембране, показало, что серебро угнетает дегидрогеназы сахаров и глютаминовой кислоты [1].

Механизм действия серебра на микробную клетку в свете современных данных заключается в том, что ионы серебра

сорбируются клеточной оболочкой, при этом клеточная оболочка выполняет защитную функцию и сама клетка остается жизнеспособной, хотя нарушаются некоторые её функции, например деление (бактериостатический эффект). Как только на поверхности клетки сорбируется избыточное количество серебра, последнее проникает внутрь клетки и задерживается цитоплазматической мембраной. В цитоплазматической мембране расположены основные ферментные системы клетки. Серебро блокирует бактериальные ферменты, в результате чего клетка гибнет.

В.Д. Соколов (1984), в своих исследованиях установил, что растворы ионного серебра обладают выраженным бактерицидным действием по отношению к микоплазмам, кишечной палочке и сальмонеллам (минимальная подавляющая концентрация в пределах 12,5 мкг/мл). Им установлено, что с многими антибиотиками (олеоморфоциклин, неомицин, ампициллин) ионное серебро обладает выраженным синергидным действием и, что особенно важно, к сочетанию антибиотик+ионное серебро в 2-3 раза медленнее вырабатывается устойчивость у кишечной палочки и сальмонелл [8].

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

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 (Биатен АГ, Сульфадиазин серебра и др.) [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины на кафедре фармакологии и токсикологии.

Антисептический препарат фурагент на основе ионов серебра был разработан на кафедре фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины. Фурагент эффективен при обработке кожи и тканей при различных повреждениях у сельскохозяйственных и мелких домашних животных, а также для обработки инъекционного, послеоперационного поля и свежих кусаных ран, для промывания полостей при гнойных процессах, лечения гнойных ран, остаточных послеоперационных поверхностных ран, заживающих под струпом [4].

Испытуемый фурагент был изготовлен в 2007 году и хранился в темном сухом месте во флаконах из темного стекла в течение 6 лет. Из фармакологических свойств фурагента учитывали антимикробную активность на музейных штаммах микроорганизмов кишечной палочки (*E.coli*), золотистого стафилококка (*St. aureus*), синегнойной палочки (*Pseudomonas*) и протей (*Proteus*).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Провели серию опытов по определению антимикробной активности антисептического средства фурагента, сроком хранения 6 лет, методом серийных разведений на мясопептонном бульоне (МПБ).

Исследование проводили методом серийных разведений раствора фурагента на МПБ, добавляя в каждую пробирку исследуемые микроорганизмы. Для обеспечения оптимальной температуры 36-37° С в течение 24 часов использовали лабораторный термостат.

Серию опытов проводили трижды.

В первом серийном разведении на МПБ рост всех микроорганизмов наблюдался в разведении фурагента в 12,5%-

ной концентрации, в 25%-ном разведении рост был у золотистого стафилококка и синегнойной палочки, в 50%-ном - рост был только у синегнойной палочки.

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

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

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных опытов определения антимикробного действия антисептического раствора фурагента, сроком хранения 6 лет можно сделать вывод, что фурагент в 50%-ной концентрации обладает бактерицидными свойствами по отношению протей, золотистого стафилококка и кишечной палочки и не потерял своей антимикробной активности при хранении в темном сухом месте во флаконах из темного стекла в течение шести лет.

Determination of antimicrobial activity furargent during prolonged storage.

A. Lunegov.

ABSTRACT

Silver compounds are widely used as effective antibacterial agents to combat pathogens. During the last twenty years the antimicrobial properties of silver began to attract attention. This is due to the growth of allergic complications of antibiotic therapy, the toxic effect of antibiotics on the internal organs and immune suppression, as well as the emergence of resistant strains of pathogens to antibiotics used. In recent years increasingly silver nanoparticles comprise the composition of many drugs and drug forms, increasing their antibacterial activity, as well as create new drugs based on silver. So at the Department of Pharmacology and Toxicol-

ogy at the St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine was developed antiseptic drug furargent based on silver. Furargent effective in the treatment of skin and tissues at various injuries in livestock and domestic animals as well as for the treatment of injection, postoperative field and fresh wounds, to wash the cavity with purulent processes, treatment of purulent wounds, postoperative residual surface wounds healing under a scab. Conducted a series of experiments to determine the antimicrobial activity of antiseptic furargent, shelf life of 6 years, the serial dilution method on meat-peptone broth. As a result of experiments, it was demonstrated antimicrobial activity of the drug. Furargent 50% concentration has antibacterial properties against *Proteus*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and has not lost its antimicrobial activity when stored in a dark, dry place in dark glass bottles for six years.

Key words: antiseptics, silver, antimicrobial action, *Staphylococcus*, *E. coli*, *Proteus*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голубович В.Н. Ингибирующее действие серебра на *Candida utilis* / В.Н. Голубович // Автореф. канд. дис. – М., 1975.
2. Иванов В.Н. Некоторые экспериментальные и клинические результаты применения катионов серебра в борьбе с лекарственно-устойчивыми микроорганизмами / В.Н. Иванов, Г.М. Ларионов, Н.И. Кулиш // Препринт №4, Институт клинической иммунологии СО РАМН. – Новосибирск, 1995. – С. 53-62.
3. Кульский Л.А. Серебряная вода. изд. 7-е перераб и доп./ Л.А. Кульский. – Киев: Науковая думка, 1977. – 163 с.
4. Лунегов А.М. Фармакологическая характеристика антисептического препарата фурагент // Международный вестник ветеринарии. – 2008. – № 1. – С. 33 – 38.
5. Лунегов А.М. Материалы III международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов. – 2014 – С. 165-

166.

6. Раджабов А. Новые средства антисептики / А. Раджабов. // Врач. – 1995. – №3. – С. 23-25.
7. Родионов П.П. Сто лет – от начала широкого использования препаратов серебра в практической медицине / П.П. Родионов, В.В. Третьяков/ Применение препаратов серебра в медицине. Вып. 3. – Новосибирск : Институт клинической иммунологии СО РАМН, 1994. – С. 13-21.
8. Соколов В.Д. Антимикробные средства в птицеводстве/ В.Д. Соколов. – М. : Колос, 1984. – 174 с.
9. Щербаков А.Б. Препараты серебра: вчера, сегодня и завтра/ А.Б. Щербаков// Фармацевтический журнал. – 2006. – №5. – С. 45-57.
10. Brander, C.G. Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics / C.G. Brander, D.M. Pugh, R.J. Bywater // 4th ed. London: Bailliere Tindall. – 1982. – 582 p.

ЭФФЕКТИВНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ТКАНЕЙ

Фисенков Н.Н. - к.в.н., Горветуправление СПб



РЕФЕРАТ

Обобщен многолетний опыт по эффективному лечению ран у плотоядных с использованием разработанных в НИИВФ «Эврика» при нашем участии комбинированных лекарственных препаратов: мазь диметол и заживляющая антисептическая присыпка ЗАП, что подтверждено и новыми опытами с дополнительным назначением иммуностимуляторов (ИС) при использовании мазей. Более быстрое заживление ран от применения мази диметол на 2-2,5 дня по сравнению с другими мазями объясняется ее удачной рецептурой: в состав кроме антимикробного средства входит метилурацил, активирующий репаративные свойства поврежденных тканей. Кроме того, сама мазевая основа – песцовый жир обладает активирующими и регенерирующими свойствами. Дополнительное назначение животным ИС тимогена также ускоряло заживление ран при использовании всех мазей, в том числе и диметола, что объясняется активацией репаративных процессов тканей.

По сравнению с существующими присыпками ЗАП значительно эффективнее при лечении косметических и свежих кусаных ран, что проявляется их более быстрым заживлением и отсутствием нагноения. Позитивное влияние ЗАП на общую реакцию организма при ранении можно объяснить тем, что эта присыпка «снимает» травматическую боль, которая как раз и вызывает стрессовую реакцию, а также предохраняет организм от чрезмерного образования перекисных соединений за счет антиоксидантных свойств метилурацила и анестезирующего средства (анестезин). Кроме того, в присыпке ЗАП содержится более активный химиопрепарат с широким спектром антимикробного действия.

Ключевые слова: собаки, кошки, раны, мази, присыпки, иммуностимуляторы.

ВВЕДЕНИЕ

Установлено, что эффективность лечения повреждений тканей организма, к которым относятся и раны, кроме обоснованного своевременного хирургического и медикаментозного вмешательства во многом зависит от иммунного статуса организма вообще и от состояния иммунокомпетентных клеток, в частности, ответственных за течение репаративно-пластических процессов в пораженных тканях [5]. По данным Н.Л. [1,2,3]. при иммунодефицитных состояниях (ИДС) нарушаются защитные барьеры эпителия слизистых оболочек и кожных покровов и организм уже не в состоянии противосто-

ять чужеродным биологическим агентам, что и способствует проявлению болезни и тяжести ее течения. Подобные ИДС установлены и нами у собак, при их лечении в осенне-весенние периоды [8]. Кроме того, было установлено, что дополнительное назначение иммуностимуляторов (ИС) повышает эффективность лечения гнойных ран [4]. Изложенное указывает на то, что при лечении травматических повреждений кроме эффективных антимикробных средств, желателно использовать и иммуностимуляторы (ИС). О значении ИС при лечении ран также говорит и наш опыт использования заживляющей антисептической присыпки

(ЗАП). Сравнение эффективности различных присыпок при лечении ран показало, что ЗАП выгодно отличается от многих официальных присыпок, применяемых в этих целях. Это отличие проявлялось в уменьшении болевого стресса, появления нагноения и ускорения сроков заживления, что объяснялось наличием в препарате анестезирующих и иммуностимулирующих средств [10].

Кроме того, большинство исследователей отмечают, что при лечении различных ран, необходимо учитывать фазы раневого процесса [5]. Одновременно с этим следует отметить, что в хирургии давно установлена так называемая «триада» обязательных лекарственных средств, используемых при лечении ран: антимикробные, противовоспалительные и стимулирующие репаративные процессы средства – ИС, применяемые в различных лекарственных формах.

Поэтому, для лечения ран, язв, ожогов, экзем и других повреждений тканей предложены и применяются различные фармакологические средства: антисептики в форме растворов и присыпок, антибиотики при наружной и инъекционной аппликации, мази, пасты, линименты и лекарственные препараты в аэрозольных упаковках, в том числе и ИС. Правда, последние средства используются далеко не всегда. К сожалению, этот набор медикаментозных средств, нередко применяется раздельно, тогда как практически при любом патологическом состоянии организма, как указывает В.Д. Соколов [6] наилучший эффект от применения лекарственных средств достигается при комплексном воздействии на большинство мишеней патологического процесса.

В данной публикации, обобщен наш многолетний опыт по лечению ран у плотоядных с использованием разработанных в НИИВФ «Эврика» при нашем участии комбинированных лекарственных препаратов, что подтверждено новыми

опытами с дополнительным назначением при использовании мазей ИС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В течение ряда лет на значительном количестве собак (более 250 голов) и кошек (более 100 голов) мы с успехом применяли мазь диметол (диоксидин, метилурацил, анестетик, песцовый жир) и заживляющую антисептическую присыпку ЗАП (диоксидин, ИС, противовоспалительное средство, анестетик) для лечения ран различного генеза и тяжести, сравнивая с существующими препаратами подобного рода [9]. В данной серии опытов, проведенных на 57 собаках и 32 кошках мазь диметол сравнивали с мазями: диоксидиновая мазь, «ЯМ» и др. а также как и ранее, назначали при гнойных ранах, с дополнительными инъекциями ИС, тогда как присыпку использовали при косметических и свежих кусаных ранах. Опыты показали, что во всех случаях сравнение было в пользу наших препаратов [10]. В недавней серии опытов присыпку ЗАП также использовали при лечении косметических ран. При этом сравнили несколько антисептиков, применяемых перед операцией: 3% перекись водорода, активированная 3% перекись водорода, растворы калия перманганата и хлоргексидина 0,1 и 0,2% концентрации. Перед применением мази диметол предварительно проводили хирургическую обработку раны с использованием указанных антисептиков. В качестве сравнения для мази диметол применяли импортные или отечественные мази и эмульсии, используемые в тот период; для присыпки ЗАП назначали официальную присыпку СКТ (стрептоцид, ксероформ, тальк), а также другие присыпки, содержащие ксероформ, антибиотик (левомецетин или неомидин) и тальк. При оценке заживляющего действия препаратов учитывали следующие показатели: истечение из раны и его характер, время прекращения зуда (или болевой реакции), начало и ха-

раक्टर регенерации, время заживления.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При сравнительной оценке эффективности мазей подтвердили ранее полученные данные, что течение раневого процесса зависит от примененного препарата. Так, например, при назначении животным только одной мази диметол гнойные истечения из раны наблюдались в среднем по группе от 1,5 до 2,5 суток (2,2), тогда как при совместном применении мази с ИС этот срок не превышал 1,5 суток. В контрольных группах собак (мази ЯМ и др. без ИС) этот показатель растягивался до 2,5-3,5 суток. В аналогичной последовательности происходил переход первой фазы раневого процесса в стадию пролиферации (появление грануляций). Быстрее этот процесс происходил при назначении мази диметол (7суток), тогда как при назначении других мазей процесс растягивался до 9-11 суток. При назначении с мазями ИС тимогена, данный процесс сокращался при использовании всех мазей на 1-1,5 суток. Одновременно с этим, при совместном назначении мазей с ИС у животных раньше наступала эпителизация в ране, как и само заживление раны – 13,5 – 16,3 суток. При использовании только одной мази диметол эти показатели затягивались и составляли 14,7 – 17,9 суток, а при назначении других мазей эти процессы еще больше затягивались они еще больше и составляли 17,5 и 22,3 суток. В тоже время назначение с этими мазями тимогена также ускоряло заживление ран, хотя и в меньшей степени. Кроме того, при назначении мази диметол с тимогеном регистрировали лишь один случай (0,7%) гнойного осложнения, тогда как, при использовании одной, такие осложнения наблюдались у 2,5% животных. Для сравнения, при использовании других мазей этот процент доходил до 20% и более. Назначение при лечении этими мазями ИС снижало этот показатель до 11,5%.

Следовательно, при лечении гнойно-некротических повреждений тканей весьма целесообразно кроме более эффективной мази назначать иммуностимуляторы, например, тимоген.

Установили, что ЗАП при лечении животных с косметическими и свежими кусаными ранами оказалась значительно эффективнее других присыпок. Прежде всего при аппликации ЗАП истечение из ран прекращалось почти у всех животных в первые 2-4 ч, ни у одного животного не было гнойного экссудата, значительно быстрее, тоже в первые 2-4 ч исчезал зуд (болевая реакция), видимое появление грануляции началось через 2,5-3,5 суток, тогда как при назначении присыпок сравнения – через 3,5-4,5 суток и, наконец, полное заживление ран наступало через 11,7 суток (при назначении присыпок сравнения - через 13,3 суток, в контроле через 15,7 суток).

При сравнении антисептиков нам не удалось достоверно выяснить, какая из них является, более предпочтительной, при хирургической обработке ран. В то же время, по предварительным данным, при гнойно-некротических ранах целесообразнее применять перекись водорода активированную, однако это положение предстоит уточнить на большем количестве животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Более быстрое заживление ран от применения мази диметол по сравнению с другими мазями объясняется ее удачной рецептурой: в состав кроме антимикробного средства входит метилурацил, активирующий репаративные свойства поврежденных тканей. Кроме того, сама мазевая основа – песочный жир обладает активирующими и регенерирующими свойствами. Дополнительное назначение животным ИС тимогена также ускоряло заживление ран при использовании всех мазей, в том числе и диметола, что объясняется активацией репаративных процес-

сов тканей.

Позитивное влияние ЗАП на общую реакцию организма при ранении можно объяснить тем, что эта присыпка «снимает» травматическую боль, которая как раз и вызывает стрессовую реакцию [7], а также предохраняет организм от чрезмерного образования перекисных соединений за счет антиоксидантных свойств метилурацила) и анестезирующего средства (анестезин). Кроме того, в присыпке ЗАП содержится более активный химиопрепарат с широким спектром антимикробного действия.

Effective medicines at treatment of damages of fabrics.

N. Fisenkov.

ABSTRACT

Long-term experiment on effective treatment of wounds at carnivorous with use developed in NIIVF "Eureka" is generalized with our participation of the combined medicines: ointment диметол and the healing ZAP antiseptic powder that is confirmed also with new experiments with additional purpose of immunostimulators (IS) when using ointments. Faster healing of wounds from ointment application диметол for 2-2,5 days in comparison with other ointments is explained by its successful compounding: the structure except antimicrobic means includes the methyluracil activating reparativny properties of damaged fabrics. Besides, the mazevy basis – pestsovy fat possesses activating and regenerating properties. Additional appointment as animal IS тимогена also accelerated healing of wounds when using all ointments including диметола that is explained by activation of reparativny processes of fabrics.

In comparison with existing ZAP powders is much more effective at treatment of cosmetic and fresh kusany wounds that is shown by their faster healing and absence of suppuration. Positive influence of ZAP on the general reaction of an organism at wound can be explained to that this powder "kills"

traumatic pain which just and causes stressful reaction, and also protects an organism from excessive formation of perекисny connections due to antioxidant properties of methyluracil and anesthetic (benzocaine). Besides, ZAP powder contains more active химиопрепарат with a wide range of antimicrobic action.

Key words: dogs, cats, wounds, ointments, powders, immunostimulators.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Н.Л., Шутов Э.Е., Шутов Е.Э. Иммуностимулирующие средства в общем комплексе лечебных мероприятий при диареях молодняка с-х животных // Мат. 10-й междунар. науч.-пр. конф. «Новые фармакологические средства в ветеринарии». СПб. – 1998. – С. 73-74.
2. Андреева Н.Л. Иммуностимуляторы в ветеринарии // Мат. XVIII междунар. науч.- пр. конф. «Новые фармакологические средства в ветеринарии». СПб., 2006. – С. 87-88.
3. Войтенко В.Д. Необходимость и возможность повышения эффективности химиотерапевтических средств // Международный вестник ветеринарии. -2009. – №2. – С.14-16.
4. Войтенко В.Д., Фисенков Н.Н. Повышение эффективности мазей при лечении животных с гнойными ранами // Международный вестник ветеринарии. 2013. – №1. – С.36-38.
5. Долгушин И.И., Эберт Л.Я., Лифшиц Р.И. Иммунология травмы // Свердловск: Изд-во Уральского унив., 1989.- 188 с.
6. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Соколов А.В., Войтенко В.Д. Уточненная классификация иммуностимуляторов и их использование в ветеринарии // Матер.8-й межгос. науч.-пр. конф. «Новые фармакологические средства в ветеринарии» СПб., 2006. – С. 87-88.
7. Соколов В.Д., Фисенков Н.Н. Фармакокоррекция болевого стресса // Международный вестник ветеринарии. СПб., 2014. – №2. – С.36-38.

8. Фисенков Н.Н. Иммуностимуляторы при лечении ран // Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки: Экспресс-информация. СПб., 2007. № 18. – С.30-31.

9. Фисенков Н.Н. К вопросу о механизме действия заживляющей антисепти-

ческой присыпки (ЗАП) // Международный вестник ветеринарии. СПб., 2011. №1. – С.37-40.

10. Фисенков Н.Н. Сравнительная оценка диоксициновых мазей // Международный вестник ветеринарии. СПб., 2013. №3. – С.35-37.

УДК 619.615.

АДАПТОГЕННЫЕ И РОСТОСТИМУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ

Войтенко В.Д. - к.в.н., соискатель,
Андреева Н.Л. - д.б.н., проф., зав. кафедрой фармакологии и токсикологии
Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Многообразие позитивных фармакологических эффектов иммуностимуляторов (ИС) побудило нас сравнить некоторые из них у разных ИС, наиболее широко используемых в ветеринарии, в том числе и внедренных в последнее время (timoген, фоспренил, маримикс 5:0). В данном опыте на лабораторных животных изучили их ростостимулирующее и адаптогенное действие. Ростостимулирующее действие ИС изучали на белых мышах живой массой 23-29 г, разделенных на 4 группы (10 мышей в каждой группе). Препараты инъецировали на протяжении 10 дней подряд в следующих дозах: тимоген – 5 мкг/кг, фоспренил и маримикс 5:0 по 0,1 мл/кг. Животных взвешивали до и после окончания введения препаратов. Адаптогенное действие ИС изучили на белых крысах, живой массой по 250-265 г, разделенных на 6 групп. Трех группам подопытных крыс инъецировали ИС в тех же дозах, что и мышам, на протяжении трех дней подряд перед стрессом. Одной контрольной группе крыс инъецировали раствор аминазина (антистрессовый препарат), второй контрольной группе препараты не вводили. Стресс у животных вызывали с применением шуттель-аппарата, имитирующего транспортный стресс. Установили, что все три изученных ИС – тимоген, фоспренил и маримикс 5:0 проявляли выраженное ростостимулирующее действие на организм белых мышей и корректировали последствия транспортного стресса у белых крыс. Наиболее активное действие проявлял маримикс 5:0.

Ключевые слова: иммуностимуляторы, маримикс, фоспренил, тимоген, мыши, крысы, ростостимулирующее и адаптогенное действие.

ВВЕДЕНИЕ

Иммуностимуляторы (ИС), внедренные в ветеринарию [9], благодаря своим уникальным позитивным фармакологическим свойствам, все шире и шире, с разными целями, используются в лечебной практике. В тоже время до сих пор у не-

которых врачей, да и у исследователей нередко возникает путаница в принятой терминологии и часто их называют иммуномодуляторами. На первый взгляд ошибка небольшая, поскольку ИС входят в эту группу. Однако в эту же группу входят и иммуносупрессоры, угнетающие

иммунные процессы в организме. Кроме того, в эту же группу входят и препараты двойного действия, проявляющие одновременно иммуностимулирующее и иммуносупрессорное действие, например, препарат анандин. Поэтому целесообразно называть их своими именами, отвечающими присущим им фармакологическими эффектами. Из иммуномодуляторов большим количеством позитивных фармакологических свойств обладают именно ИС. Это: иммуностимулирующее, адаптогенное, ростостимулирующее, ранозаживляющее (репаративное), и, наконец, гериатрическое [1,5]. Поэтому их не случайно применяют для повышения эффективности химиотерапии, вакцинации и в качестве антистрессовых средств [1,3,10]. Сравнительно шире, однако еще далеко не достаточно, в этом плане изучены ИС: тимоген, эраконд, стимаден, а в последнее время фоспренил [4] и маримикс 5:0 [11]. К сожалению, эраконд и стимаден в настоящее время по ряду причин, практически исчезли с ветеринарного рынка (очень надеемся, что не навсегда). Учитывая, что эффективность ИС в проявлении вышеперечисленных эффектов у разных препаратов будет не одинаковой, в эксперименте изучили адаптогенное и ростостимулирующее действие тимогена, фоспренила и маримикса 5:0. Эти показатели вызывают определенный интерес, поскольку в основном, для этих целей в настоящее время используются различные БАВ, среди которых на первое место выходят органические кислоты и антиоксиданты [2,8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Маримикс 5:0 – препарат из мидий, активирует гуморальные и клеточные факторы иммунитета, межклеточный обмен, регенерацию тканей, является «пластическим материалом» для клеток организма. Проявляет иммуностимулирующее, адаптогенное и ростостимулирующее действие. Совместная разработка

ООО «Маримикс» и кафедры фармакологии и токсикологии СПбГАВМ [7,11].

Тимоген – синтетический аналог тимуса. Стимулирует процессы регенерации, активирует процессы клеточного метаболизма, усиливает регенерацию тканей, интенсивность роста животных и птицы. Разработан Санкт-Петербургской Военно-медицинской академией и внедрен в ветеринарию Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины (кафедры фармакологии и токсикологии и патологической физиологии) [6].

Фоспренил – препарат из фосфорилированных полипренолов хвои сосны, активирует естественную резистентность организма, гуморальные и клеточные факторы иммунитета, межклеточный обмен, стимулирует гемопоэз, является «пластическим материалом» для клеток организма. Разработан в ЗАО «Микроплюс» при НИИЭМ им. И.Ф.Гамалеи. Кафедрой фармакологии и токсикологии СПбГАВМ широко апробирован на сельскохозяйственных и мелких домашних животных [4].

Ростостимулирующее действие ИС изучали на растущих, белых мышках (наиболее удобная модель для данной цели) живой массой по 23-29 г, разделенных на 4 группы (по 10 мышей в каждой группе). Препараты инъецировали на протяжении 10 дней подряд в следующих дозах: тимоген – 5 мкг/кг, фоспренил и маримикс 5:0 по 0,1 мл/кг. Животных взвешивали до и после окончания введения препаратов.

Адаптогенное действие ИС изучили на белых крысах, живой массой по 250-265 г, разделенных на 6 групп. Трех группам подопытных крыс инъецировали ИС в тех же дозах, что и мышам, но уже на протяжении только трех дней подряд перед стрессированием. Одной группе крыс подопытного контроля инъецировали раствор аминазина (антистрессовый пре-

парат), второй группе препараты не вводили. Стресс у животных вызывали с применением шуттель-аппарата, имитирующего транспортный стресс. Для этого коробки с крысами помещали на работающий шуттель-аппарат на 2 ч. Кровь для исследования брали до и через 1 и 24 ч после стресса. Опыты повторены дважды, материалы обработаны статистически. Оценку действия ИС проводили по учету прироста массы мышцей и проявлению стрессовых реакций организма, определяя в крови существующими методами исследований информативные показатели гипоталамо-кортикального воздействия стресса на организм: количество лейкоцитов, глюкозы, общего белка и ионов калия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установили, что все три ИС достоверно стимулировали рост и развитие белых

мышей, однако это их действие было не одинаковым (табл.1).

Из таблицы 1 видно, что все ИС достоверно повышали темпы роста подопытных животных, в тоже время, наибольший прирост массы наблюдался у мышцей, которым применяли маримикс 5:0.

Адаптогенное действие иммуностимуляторов на организм белых крыс представлено в табл.2, 3.

Результаты таблицы 2 показывают, что практически все ИС проявляли антистрессовое (адаптогенное) действие на организм белых крыс во время их стрессирования, что проявлялось в уменьшении содержания глюкозы, количества лейкоцитов и ионов калия по сравнению с контрольной группой животных группой, которым препараты не назначались. Однако наблюдались некоторые отличия в проявлении антистрессовой активности

Таблица 1
Ростостимулирующие свойства иммуностимуляторов n=10 (M±m)

Группы животных	Масса, до опыта (г)	Масса, в конце опыта (г)	Прирост массы за 10 сут. (г)	Прирост массы по отношению к контролю (%)
Маримикс	23,7±0,8	31,1±0,3	7,4±0,5*	114,1
Фоспренил	29,5±0,9	36,8±0,5	7,3±0,7*	112,5
Тимоген	25,1±0,7	32,3±0,8	7,2±0,8*	110,7
Контроль	26,3±0,6	32,8±0,2	6,5±0,4	100,0

Примечание: * P < 0,05 достоверно по сравнению с контролем

Таблица 2
Показатели стрессовой реакции организма через 1 ч после стресса n=10 (M±m)

Группа	Глюкоза, ммоль/л	Общий белок, г%	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{мм}^3$	Калий, ммоль/л
Маримикс	5,7±0,5*	67,7±0,4*	7,8±0,5*	1,9±0,3*
Фоспренил	6,4±0,4	66,3±0,5*	8,1±0,4	1,9±0,2*
Тимоген	5,9±0,3	67,5±0,5*	8,3±0,7	2,1±0,3
Аминазин	6,1±0,4	69,5±0,3*	7,9±0,4	1,8±0,3*
Контроль без препаратов	7,7±0,4	51,5±0,4	9,8±0,5	3,2±0,3
Интактные животные	4,7±0,4	70,1±0,5	7,1±0,5	1,8±0,1

Примечание: * P < 0,05, достоверно по сравнению с контролем без препаратов

Таблица 3
Показатели стрессовой реакции организма через 24 ч после стресса n=10 (M±m)

Группа	Глюкоза, ммоль/л	Общий белок, г%	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{мм}^3$	Калий, ммоль/л
Маримикс	5,1±0,3	67,5±0,5	7,5±0,5	2,0±0,1
Фоспренил	6,4±0,5	66,9±0,7	7,9±0,5	1,7±0,2
Тимоген	5,2±0,3	65,9±0,5	8,0±0,5	2,3±0,1
Аминазин	5,1±0,5	69,3±0,4	7,1±0,3	1,9±0,3
Контроль без препаратов	6,7±0,3	58,5±0,4	9,0±0,7	2,9±0,2
Интактные животные	4,7±0,4	70,1±0,5	7,1±0,7	1,8±0,1

изучаемых препаратов. Так, например, если уменьшение концентрации общего белка при использовании всех препаратов было статистически достоверным, то достоверное уменьшение ионов калия наблюдалось при назначении маримикса 5:0, фоспренила и аминазина, хотя тенденция подобного снижения проявлялась и при использовании тимогена. А уменьшение количества глюкозы и лейкоцитов статистически достоверным было только при назначении маримикса 5:0.

Через 24 ч общая тенденция анти-стрессового действия препаратов сохранялась, хотя разница не была статистически достоверной. Все изучаемые показатели стрессовой реакции организма белых крыс восстанавливались у большинства животных на 6-7сутки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установили, что все три изученных ИС – тимоген, фоспренил и маримикс 5:0 проявляют выраженное ростостимулирующее действие на организм белых мышей и корректируют последствия транспортногo стресса в организме белых крыс. При этом, наиболее активным оказался маримикс 5:0.

Adaptogenic and growth-promoting properties of some immunostimulators.

V. Voytenko, N. Andreeva.

ABSTRACT

Multiplicity of positive pharmacological

effects immunostimulators (IS) prompted us to compare some of them have different IS, the most widely used in veterinary medicine, including embedded lately (timgen, fosprenil, marimiks 5: 0). This experience in laboratory animals studied their growth-promoting and adaptogenic effect. Growth-promoting effects of IS studied on white mice live weight of 23-29, 2011, divided into 4 groups (10 rats in each group). Population having injected drugs for 10 days in a row in the following doses: timgen-5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, fosprenil and marimiks 5: 0 to 0.1 ml/kg. Animals are weighed before and after the end of the administration of medicines. Adaptogenic effects of IS studied on white rats, live weight of 250-265 g, divided into 6 groups. Three groups of experimental rat population having injected in the same doses as mice, for three consecutive days before stress. One control group rats population having injected solution of chlorpromazine (anti-stress medication), the second control group of drugs are not injected. Stress in animals caused by šuttel' machine, simulating the transport stress. Determined that all three studied IP timgen, fosprenil and marimiks 5: 0 have been expressed by the growth-promoting effect of white mice and adjust the effects of transport stress in white rats. The most active action showed marimiks 5:0.

Key words: immunostimulants, ma-

rimiks, fosprenil, timogen, mice, rats, growth-promoting and adaptogenic effect.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Н.Л., Войтенко В.Д. Иммуностимуляторы, повышающие эффективность химиопрепаратов // Международный вестник ветеринарии. – 2010. – № 1. – С.41-44.
2. Зоткин Г.В., Косорлукова З.Я., Яшин И.В., Блохин П.И. Влияние биологически активных веществ на показатели неспецифической резистентности у коров // Международный вестник ветеринарии. – 2014.-.№2. – С.67-71.
3. Войтенко В.Д. Необходимость и возможность повышения эффективности химиотерапевтических средств // Международный вестник ветеринарии. – 2009. – №2 – С.14-16.
4. Деева А.В., Мехдиханов Г.Г., Соколов В.Д., Белоусова Р.В. Применение иммуномодуляторов продуктивным животным // Ветеринария . – 2008. - № 6, - С. 8-12.
5. Иванова-Сальникова В.Г. Гигиеническая оценка использование селирана для молодняка свиней // Международный вестник ветеринарии. – 2014.-.№1. – С.37-40.
6. Наставление по применению тимогена в ветеринарии. 1989. – ГУВ, МСХ. СССР. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Лютинский С.И.
7. Рекомендации по применению Маримикса 5:0 в ветеринарии. 2010. Управление ветеринарии, МСХ РФ. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Попова О.С., Соловьев Н.В.
8. Скалкина О.А., Андреева Н.Л. Влияние премикса на иммунологическую реактивность поросят // Международный вестник ветеринарии. – 2014.-.№2. – С.26-29.
9. Соколов В.Д., Шорников В.В., Киржаев Ф.С. Применение аэрозолей неомицина и продигиозана при пуллорозе-тифе цыплят // Материалы конф. по аэрозолям. Одесса, 1977. – С.37-38.

10. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Соколов А.В. Иммуностимуляторы в ветеринарии // Ветеринария. – 1992. – № 7-8. – С.49-50.

11. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Попова О.С. Новый биологически активный препарат Маримикс 5:0 // Международный вестник ветеринарии. – 2011.-.№1. – С.6-10.

НОВИНКА

Маримикс 5:0 – препарат из мидий, активизирует гуморальные и клеточные факторы иммунитета, межклеточный обмен, регенерацию тканей, является «пластическим материалом» для клеток организма. Проявляет иммуностимулирующее, адаптогенное и ростостимулирующее действие.

Совместная разработка:

ООО «Маримикс» и кафедры фармакологии и токсикологии СПбГАВМ.

Вводится п/к, в/м.

Дозы 0,1-0,2 мл/кг, однократно, 3-5 дней.

Форма выпуска флаконы по 100 мл.

Тел. (812)387 11.58.



ПРИМЕНЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ МЕТАБОЛИТОВ В РАЦИОНАХ СВИНОМАТОК

Лунегова И.В. – зав.кафедрой кормления животных
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

В статье изложены результаты исследования по влиянию естественных метаболитов на организм супоросных и лактирующих свиноматок. В качестве естественного метаболита была изучена кормовая смесь «Энерджи», основным компонентом которой является янтарная кислота, обладающая широким спектром действия. Активизирует обменные процессы в организме, способствует повышению использования питательных веществ рациона, улучшает воспроизводительную способность животных. Исследования были проведены на свиноматках породы ландрас, в течение двух месяцев им скармливали испытываемую кормосмесь в количестве 250 мг/кг массы тела за 30 дней до опороса и 30 дней после него. При опоросе свиноматок существенных различий по многоплодию и массы тела поросят при рождении не выявлено, в то же время количество мертворожденных поросят в первой подопытной группе было на 1,03% меньше против контрольной группы, что говорит о благоприятном течении последних двух недель супоросности на фоне применения «Энерджи». Динамика роста поросят, а также молочность свиноматок, получавших «Энерджи», показала, что в возрасте 21 день поросята, рожденные от свиноматок первой подопытной группы, превосходили аналогичных поросят в контроле по массе тела на 8,86% (6,02 кг). К отъёму (26 дней) данная закономерность сохранилась и составила 7,6 кг в первой подопытной группе, против контроля 7,0 кг. Количество поросят при отъёме в первой подопытной группе составило 10,88 голов, что на 6,25% выше, по сравнению с контролем (10,24 гол.). Воспроизводительные качества оценивали по приходу свиноматок в охоту. В первой подопытной группе этот показатель составил 91,1% на 4-6 день и более 8,9% на 7 день, в контрольной группе 86,5% на 4-6 день и 13,5% на 7 день и далее. В результате проведенных экспериментов установлено, что включение в состав рациона свиноматок естественных метаболитов на основе янтарной кислоты способствует активизации обменных процессов в организме, в результате чего улучшается усвоение питательных веществ, повышается молочная продуктивность свиноматок и, как следствие, увеличивается масса тела и сохранность поросят при отъеме.

Ключевые слова: янтарная кислота, свиноматки, поросята, молочность, среднесуточные приросты.

ВВЕДЕНИЕ

Основная задача свиноводства состоит в том, чтобы получить от маток как можно больше высококачественных поросят.

В состоянии супоросности организм матки способен к усиленной ассимиляции питательных веществ, столь необходимых не только для нормального роста и

развития плода, но и для создания резерва питательных веществ на период лактации. Одним из важнейших факторов нормальной воспроизводительной способности организма является биологически полноценное кормление, которое положительно сказывается на работе желёз внутренней секреции, активности половых гормонов и иммунологических функций организма [7, 11].

Поэтому поиск экологически безопасных, природных кормовых средств, естественных метаболитов, обеспечивающих активизацию функциональных резервов организма, способствующих повышению использования питательных веществ рациона, а также улучшению воспроизводительной способности свиноматок и лучшей сохранности поросят является на сегодняшний день актуальной задачей АПК.

Одними из экологически безопасных продуктов, естественных метаболитов, активно влияющих на энергетический обмен в организме, являются органические кислоты. Они обладают антистрессовым и адаптогенным действием, оказывают благоприятное влияние на морфо-биохимические показатели крови, переваримость и усвояемость питательных веществ. [2,3,6,8].

Кафедрой кормления животных ФГБОУ ВПО СПбГАВМ совместно с НПК «Велес» была разработана кормовая смесь «Энерджи», в состав которой входят: органические кислоты (янтарная и лимонная), являющиеся основными метаболитами цикла Кребса, комплекс ферментов, аминокислоты, улучшающие пищеварение и биодоступность нутриентов.

Уникальные свойства янтарной кислоты известны давно и широко применяются как в медицинской практике, так и в ветеринарии в качестве биогенного стимулятора. Янтарная кислота принимает участие в важнейших метаболических процессах – потреблении кислорода, со-

пряженное с пополнением энергетических запасов АТФ, синтез гемоглобина, проинсулина, белков. В комплексе с L-карнитином, регулирует процессы клеточного метаболизма (энергетический, минеральный, белковый, жировой) и выводит из организма продукты жизнедеятельности, улучшает транспорт кислорода и питательных веществ.

Янтарная кислота активно вырабатывается в клетках живого организма. Здоровому организму хватает сукцинатов, которые он синтезирует или усваивает из пищи. Однако, в результате влияния неблагоприятных факторов, в частности при интенсивной нагрузке, стрессах, появляется напряжение в метаболических процессах, затраты янтарной кислоты увеличиваются, развивается ее дефицит. Как известно, устойчивость организма к воздействию различных неблагоприятных факторов во многом зависит от скорости и своевременности образования митохондриями АТФ. В таких случаях дополнительное (экзогенное) поступление янтарной кислоты может существенно помочь восстановлению жизнедеятельности организма [4, 10].

Ивницкий Ю. Ю. (1994), в своих исследованиях доказывает стимулирующее действие янтарной кислоты на синтез белка. Ананенко А.А. с соавторами (1997), проводя исследования на крысах, доказали положительный эффект применения янтарной кислоты при гипервитаминозе D. В исследованиях К.Х. Папуниди, М.Г. Зурабова, Р.Г. Кадыровой (1996) показано положительное влияние янтарной кислоты на состояние минерального обмена и продуктивность подсвинков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть работы была выполнена в промышленных условиях ООО «Свинокомплекс Пригородный» г. Мурманска. Объектами наших исследований являлись супоросные и лактирующие свиноматки породы ландрас. По принци-

Таблица №1

Производственные показатели применения «Энерджи»

Показатели	1-я подопытная группа	2-я контрольная группа
Кол-во свиноматок, голов	128	128
Масса свиноматки за 30 дней до опороса, кг	207,5±5,4	206,2±6,1
Масса свиноматок за 3-5 дней до опороса, кг	239,7±7,5	242,5±8,0
Кол-во поросят при рождении, гол.	11,8±0,18	11,3±0,2
Кол-во мертворожденных поросят, гол.	0,4±0,0	0,5±0,0
Масса гнезда при рождении, кг	17,0±0,5*	16,3±0,4
Масса гнезда на 21 день, кг	68,6±2,4**	59,8±2,0
Масса поросенка при отъеме, кг	7,6±0,1*	7,0±0,17
Кол-во поросят при отъеме, гол.	10,9±0,1*	10,2±0,1
Масса свиноматок при отъеме поросят, кг	199,6±5,8	206,8±5,8
Приход свиноматки в охоту после отъема поросят, дни	на 4-6 день - 91,1% на 7 день и более - 8,9%	на 4-6 день - 86,5% на 7 день и более - 13,5%

пу аналогов были сформированы 2 подопытные группы супоросных свиноматок по 128 голов в каждой. Условия содержания были одинаковы для всех групп. Кормление осуществляли по принятым в хозяйстве рационам, сбалансированным во всем питательным веществам.

Источником естественных метаболитов являлась кормовая смесь «Энерджи», которую скармливали супоросным свиноматкам первой подопытной группы в смеси с комбикормами в количестве 250 мг на 1 кг массы тела, за 30 дней до опороса и в течение 30 дней после него. Вторая подопытная группа служила контролем и получала стандартный рацион, принятый в хозяйстве.

Критериями оценки эффективного действия «Энерджи» служили такие показатели, как масса тела поросят при рождении, количество мертворожденных, молочность свиноматок, сохранность поросят при отъеме, а также дни прихода свиноматки в охоту после отъема поросят.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия

Стьюдента и компьютерной программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При опоросе свиноматок существенных различий по многоплодию и массы тела поросят при рождении не выявлено, в то же время количество мертворожденных поросят в первой подопытной группе было на 1,03% меньше, против контрольной группы, что говорит о благоприятном течении последних двух недель супоросности на фоне применения «Энерджи».

Динамика роста поросят, а также молочность свиноматок получавших «Энерджи», показала, что в возрасте 21 день поросята, рожденные от свиноматок первой подопытной группы, превосходили аналогичных поросят в контроле по массе тела на 8,86% (6,02 кг).

К отъему (26 дней) данная закономерность сохранилась и составила 7,6 кг в первой подопытной группе, против контроля 7,0 кг. Количество поросят при отъеме в первой подопытной группе составило 10,88 голов, что на 6,25% выше, по сравнению с контролем (10,24 гол.).

Перед опоросом масса свиноматок в первой подопытной группе была ниже на 2,08% (4,1 кг), по сравнению с контролем. Это можно объяснить тем, что количество поросят и их масса тела у свиноматок первой подопытной группы была выше и, в силу физиологической особенности, свиноматка потребляла меньший объем кормов. Такая же закономерность прослеживается и к моменту отъема поросят, масса тела свиноматок первой подопытной группы снизилась на 16,73% (40,1 кг), второй подопытной группе на 14,72% (35,7 кг). Мы полагаем, что снижение массы тела свиноматок первой подопытной группы произошло в результате наибольших затрат питательных веществ на образования молока, о чём свидетельствует масса тела поросят при отъеме и молочность свиноматки.

Воспроизводительные качества оценивали по приходу свиноматок в охоту. В первой подопытной группе этот показатель составил 91,1% на 4-6 день и более 8,9% на 7 день, в контрольной группе 86,5% на 4-6 дней и 13,5% на 7 день и более.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, включение в состав рациона свиноматок естественных метаболитов на основе янтарной кислоты, способствует активизации обменных процессов в организме, в результате чего улучшается усвоение питательных веществ, повышается молочная продуктивность свиноматок, и как следствие, увеличивается масса тела и сохранность поросят при отъеме.

The use of natural metabolites in the diets of sows

I. Lunegova.

ABSTRACTS

In the article the results of research on the impact of natural metabolites in the body pregnant and lactating sows. As a natural metabolite was studied feed mixture "energy", the main component of which is

amber acid, which has a wide spectrum of action. Activates metabolic processes in the organism, promotes the use of nutrients of the diet, improves the reproductive abilities of animals. Studies were conducted on the basis of Landrace, within two months they fed the test of forage in the amount of 250 mg/kg of body weight in 30 days before farrowing, and 30 days after it. When farrowing sows significant difference by multiple pregnancy and weight of the piglets at birth is not revealed, at the same time, the number of stillborn piglets in the first experimental group was to 1,03% less against the control group that says about favorable for the last 2 weeks of the pregnancy on a background of application of "energy". Dynamics of growth of pigs and milking sows treated "energy", showed that at the age of 21 days piglets born from sows the first experimental group, exceeded similar pigs in the control of body weight on 8,86% (6,02 kg). To weaning (26 days) this pattern continued amounted to 7.6 kg in the first experimental group, against control 7,0 kg Number of piglets at weaning in the first experimental group was 10,88 heads, that 6,25% higher compared to the control (10,24 goal). Reproduction quality was assessed by the arrival of sows in the hunt. In the first experimental group this indicator amounted to 91.1% for 4-6 day and more 8.9% on the 7th day, in the control group 86,5% for 4-6 days and 13.5% on the 7th day and more. In the result of the experiments that the inclusion in the composition of the diet sows natural metabolites based succinic acid, helps to activate metabolic processes in the body, resulting in better absorption of nutrients, increases milk production sows and as a result increases the body weight and safety of piglets at weaning.

Key words: succinic acid, sows, piglets, milking, average daily gain.

ЛИТЕРАТУРА

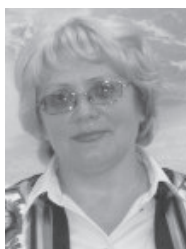
1. Ананенко А.А. Эффективность применения янтарной кислоты при гипервита-

- минозе D у экспериментальных животных // Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве: сб. науч. статей / Под ред. М.Н. Кондрашовой. - Пушино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1997. - С.79-83.
2. Андреева Н.Л. Альтернатива антибиотикам // Международный вестник ветеринарии. -2009. - № 2. -С. 10–13.
3. Бузлама В.С., Агеева Т.И., Рецкий М.И. Фармакологическая характеристика фумаровой кислоты // Ветеринария. 1986. № 3. С. 44-53.
4. Евглевский А.А. Биологическая роль и метаболическая активность янтарной кислоты // Вестник Курской гос. с.-х. академии. -2013. -№9. -С.67-69.
5. Ивницкий, Ю.Ю. Янтарная кислота в системе средств метаболической коррекции функционального состояния и резистентности организма. – СПб.: Лань, 1998. – 82 с.
6. Кондрашова М.Н. Янтарная кислота источник энергии в организме. //Норматив. 1991. №9. С. 17-18.
7. Лунегова И.В. Испытание новой кормовой смеси в рационах поросят на откорме // Международный вестник ветеринарии. 2012. №2. С. 44-47.
8. Найденский М. С. Янтарная кислота универсальный стимулятор и антистрессовый препарат широкого спектра действия. // Ветеринарная га зета.1996. №3.
9. Папуниди К.Х. Обоснование применения янтарной кислоты в качестве кормовой добавки для свиней / К.Х. Папуниди, М.Г. Зухрабов, Р.Г. Кадырова //Сб. тр. первого съезда ветеринарных врачей Республики Татарстан. - Казань, 1996. С. 272-275.
10. Скалкина О.А., Андреева Н.Л. Влияние премикса на иммунологическую реактивность поросят // Международный вестник ветеринарии. 2014. № 2. С. 26–29.
11. Hertel В. ErgebnissevertiefterUntersuchungenzurBausubstanz von Ställen der Schweineproduktion und Schlubfolgerungenfür die Rationalisierung// Tierzucht.1987. № 12. P.537-539.

УДК552.542:591.134.5:636.5.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЖИВОЙ МАССЫ И СОХРАННОСТИ КУР ПРИ ДОБАВЛЕНИИ В КОРМ КРЕМНЕЗЕМИСТОГО МЕРГЕЛЯ

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



РЕФЕРАТ

Представлены результаты исследования показателей живой массы и сохранности кур родительского стада при добавлении в корм кремнеземистого мергеля. Целью работы являлось изучение эффективности применения различных доз данной цеолитсодержащей добавки. Опыт проводился в течение 400 дней в условиях производства на птицефабрике «Ульяновская». По принципу аналогов было сформировано четыре группы цыплят по 1000 голов в каждой. Во всех группах кормление птицы соответствовало возрастному рациону, но во второй группе в корм добавлялся кремнеземистый мергель в количестве 2%, в третьей – 4% и в четвёртой – 6% от количества корма. Живая масса определялась контрольным взвешиванием два раза в месяц кур с каждой опытной группы. Сохранность изучалась путем ежедневной регистрации павшей

птицы. В результате длительного применения кремнеземистого мергеля в качестве добавки к рациону отмечено положительное влияние его на изменение живой массы и сохранности кур родительского стада. Показана зависимость возраста и дозы цеолитсодержащей добавки. Так, в период роста в опытных группах лучшие показатели живой массы и сохранности отмечены во второй группе кур, получавшей 2%, а в продуктивный период 4% от количества корма.

Ключевые слова: цеолиты, сорбенты, живая масса, сохранность, куры.

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение продуктов животноводства тесно связано с эффективностью использования кормов. С этой целью, все чаще стали применяться в качестве кормовых добавок, цеолиты, которые являются наиболее дешевым и экологически чистым сырьем. Они обладают ионообменными свойствами, активизируют ферменты, благоприятно влияют на процессы пищеварения, повышают сохранность, интенсивность роста, что даёт значительный экономический эффект. [5,4,2]. В природе встречается более 40 разновидностей цеолитов, объединённых в три основных геолого-промышленных типа: вулканогенный, вулканогенно-осадочный и осадочный. В Майнском районе Ульяновской области разведаны залежи цеолитсодержащей кремнистокарбонатной породы – кремнеземистого мергеля Сиуч-Юшанского месторождения. Установлено, что эта порода содержит около 12 окислов металлов и более 30 микроэлементов. Кремний оказывает положительное влияние на многие жизненно важные процессы в организме животных и птиц [1,3]. Учитывая адсорбционные свойства цеолитов, а так же более высокое содержание кремния и кальция в кремнеземистом мергеле по сравнению с цеолитами других месторождений, были проведены исследования, направленные на установление оптимальных доз и их влияния на эффективность скармливания репродуктивному молодняку птицы и курам-несушкам родительского стада [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть состоит из

научно-хозяйственного и трех физиологических опытов и проводились в производственных условиях птицефабрики «Ульяновская» Чердаклинского района Ульяновской области, в течении 400 дней. Для исследования, по принципу аналогов было сформировано 4 группы цыплят суточного возраста, по 1000 голов в каждой, с учетом пола, живой массы и физиологического развития. Технология их содержания соответствовала отраслевому стандарту ГОСТ 10105-88. Кормление проводилось одним и тем же полнорационным комбикормом, сбалансированным по основным питательным веществам и обменной энергии. Различия заключались в том, что в рационы второй группы вводилась цеолитсодержащая добавка в количестве 2%, третьей - 4%, четвертой - 6% (от количества смеси).

Живая масса является важным показателем состояния птицы. При недостатке питательных веществ в рационах, у кур-несушек сначала снижается масса тела, а затем продуктивность. В связи с этим изыскание и добавление в корм веществ, стимулирующих обменные процессы, являются актуальными. Живая масса и интенсивность роста птицы определялась путем ежемесячного индивидуального взвешивания контрольного поголовья (по 30 голов) до кормления два дня подряд во всех четырёх группах с вычислением абсолютных и среднесуточных приростов и относительной скорости роста. Сохранность поголовья является немаловажным фактором в перечне производственных показателей. На этот показатель влияют условия содержания, кормление, возраст птицы, кросс, резистентность организма.

Учет сохранности при проведении научно-производственного опыта является ещё одним из критериев оценки влияния кремнеземистого мергеля на жизнедеятельности птицы. *Сохранность* учитывалась путем ежедневной регистрации павшей птицы. Установлено, что цеолитовые добавки замедляют прохождение корма по желудочно-кишечному тракту, что способствует лучшему перевариванию и усвоению питательных веществ. Исходя из этого, необходимо было изучить влияние цеолитсодержащего сырья на данный показатель.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании массы кур в разные возрастные периоды, по опытным группам отмечены изменения в сравнении с показателями птиц контрольной группы (табл.1) Согласно полученным данным, отмечается, что цыплята всех групп развивались хорошо, но к 9-недельному возрасту среднесуточные приросты во II, III, IV группах, получавших минеральную добавку, имели показатели выше в сравнении с контролем на 8,31...5,62...3,61% соответственно. В возрасте 17 недель наибольший прирост - 13,08 г, получен в III группе, получавшей 4% цеолита. При этом абсолютный прирост живой массы за этот период выращивания в опытных

группах на 6,25, ..10,28...6,87% больше, чем в контрольной группе. В разгар продуктивного периода, к 42 неделям, птица почти перестала прибавлять в весе, но, тем не менее, у кур II, III, IV групп живая масса продолжала оставаться выше в сравнении с массой кур контрольной группы на 8,92...9,73...5,48% соответственно. Сохранность птицы является одним из её важных показателей. Учет сохранности проводился ежедневным подсчётом павшей птицы. В первую неделю после приёма цыплят из инкубатора в цех, по всем группам наблюдался инкубационный падеж. В это время, в группах, существенных различий по количеству падежа не наблюдалось. Однако, к возрасту 9 недель сохранность во II, III и IV группах, относительно контрольной оказалась выше на 1,90;1,30;0,30%. Лучшая сохранность отмечается у кур второй группы, получавшей 2% цеолитовой добавки. В возрасте 17 недель отмечается улучшение данного показателя во второй, третьей и четвертой группах на 1,60; 2,50;0,50% относительно контроля, причем более высокая сохранность отмечена у кур третьей группы, получавшей 4% цеолитовой добавки.

Первые яйца у кур опытных групп

Таблица 2

Сохранность птицы за период опыта

Возраст, Дней	Группы							
	I - К		II - О		III - О		IV - О	
	гол.	%	гол.	%	гол.	%	гол.	%
Сутки	1000	100	1000	100	1000	100	1000	100
К 9 неделям	936	94	955	96	949	95	939	94
К 17 неделям	889	59	905	91	914	91	894	89
К 42 неделям	810	81	845	85	863	86	826	83
В конце опыта	773	77	819	82	832	83	791	79
Всего пало	227	23	179	18	168	17	209	21

Таблица 1

Изменение живой массы кур

Показатели	Группы			
	I - К	II - О	III - О	IV - О
При постановке на опыт				
Живая масса, г	35,5±0,3	35,0±0,4	35,0±0,2	36,0±0,1
9 недель				
Живая масса, г	786,0±12,6	848,1±15,0	828,1±15,1	814,0±16,8
Прирост (за9 нед.):				
-абсолютный, г	750,5	813,0	793,1	778,0
-в % к контролю	-	108,3	105,7	103,7
- среднесуточный, г	11,9	12,9	12,6	12,3
- относительный, %	182,7	184,1	183,8	183,0
17 недель				
Живая масса, г	1450,4±25,2	1554,0±20,1	1560,8±18,0	1524,0±21,7
Прирост (9-17нед.):				
-абсолютный, г	664,4	706,0	732,7	710,0
-в % к контролю	-	106,3	110,3	106,9
- среднесуточный, г	11,9	12,6	13,1	12,7
- относительный, %	59, 4	58,8	61,3	60,8
42 недели				
Живая масса, г	1768,0±12,2	1924,0±14,9**	1940,1±9,0**	1904,01±21,88*
Прирост (17-42нед.):				
-абсолютный, г	317,6	370,0	379,2	380,0
-в % к контролю	-	116,5	119,4	119,6
- среднесуточный, г	1,8	2,1	2,2	2,2
- относительный, %	19,7	21,3	21,7	22,2
За опыт				
Живая масса,г	1852,0±17,4	2055,1±14,0**	2004,0±12,8*	1952,0±16,8
Прирост за опыт:				
-абсолютный, г	1826,5	2020,1	1969,0	1916,0
-в % к контролю		110,6	107,0	104,9
- среднесуточный, г	6,2	6,9	6,7	6,5
- относительный, %	192,5	193,3	193,1	192,8

*P<0,05; **P<0,01;

стали появляться в возрасте 19 недель. С началом яйцекладки обмен веществ у кур усиливается. В это время птица особенно чувствительна к нарушениям кормления, недостатку минеральных веществ, условиям содержания. В возрасте 42 недель в показателях сохранности в опытных группах, получавших кремнеземистый мергель, по сравнению с контролем отмечается повышение на 3,50;5,30;1,60%. По данным таблицы 2 видно, что в целом, за весь период эксперимента сохранность птицы в опытных группах в сравнении с контрольной выше на 4,60;5,90;1,80%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований свидетельствуют о том, что включение в рацион птицы местного цеолитсодержащего сырья, повлияло на её энергию роста, повышая среднесуточные приросты и соответственно живую массу. При этом, в период роста, наилучшее стимулирующее действие оказала доза 2%, а в продуктивный период доза 4% от массы корма. Анализ результатов, полученных за период с суточного до 42-недельного возраста показывает, что кремнеземистый мергель так же оказывает положительное влияние на сохранность кур. Так, в период роста и развития лучшая сохранность отмечается у птиц II группы, получавшей 2 % кремнеземистого мергеля, а в период продуктивности у птиц III группы, получавшей 4% цеолитовой добавки.

Change indicators of live weight and safety when added to chicken feed siliceous marl.

T. Zhilochkina.

ABSTRACTS

The results of research performance and safety of live weight breeder hens when added to feed siliceous marl . The purpose was to study the efficacy of different doses of the zeolite supplements. The experiment was conducted for 400 days in a production environment at the poultry farm "Ulyanovsk". By analogy was formed four

groups of chickens 1,000 animals each . In all the groups corresponds to the feeding of poultry ration of age , but the second group was added to the feed in an amount of siliceous marl 2% in the third - 4%, and in the fourth - 6 % of the total feed . Live weight was determined by weighing the control twice a month chickens each experimental group. Preservation was studied by daily log of dead birds . As a result of the prolonged use of siliceous marl as dietary supplements noted a positive impact on its live weight change and preservation breeder hens . Shows the age and dose of zeolite supplements. Thus, in a period of growth in the experimental groups, the best performance and safety of live weight marked in the second group of chickens receiving 2 % and 4% of the productive period of the amount of feed .

Key words: zeolite, sorbents , live weight , safety , chickens.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронков М.Г. Кремний и жизнь. Рига: Зинатне, 1978.-С.588.
2. Идиатуллин Ф.И. Влияние цеолитсодержащего кремнисто-карбонатного сырья Татарско-Шатрашанского месторождения на обмен веществ и продуктивность цыплят-бройлеров. – Казань, 1996. – С. 16-28.
3. Матюшкин В.Г. Влияние разных уровней кремния на рост и гематологические показания у свиней // Новые способы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. -Саранск, 1992. – С.123-126.
4. Мухина Н.В. Ветеринарно-гигиеническое обоснование использования природных минералов. -1993. – С.8-36.
5. Таланов Г.А. Испытание цеолитов Орловского месторождения на курах-несушках и кроликах // Ветеринария, 1996, №12. – 12. – С.47-51.
6. Шадрин А.М. Влияние цеолитовых туфов на сохранность и продуктивность кур. – Тбилиси, 1984.-С.168-170.



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 636.7:612.017

КОРРЕКЦИЯ ИММУННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У СОБАК

Бобрицкая О.Н. - к.в.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии животных; Харьковская государственная зооветеринарная академия.



РЕФЕРАТ

Сравнительное изучение иммунной эффективности стимулирующее действие физиологических и терапевтической частоте резонанса "ПАРКЕС-Л" оборудование с тимуса подготовки - тумоген были цель расследования. Собаки с иммунной гипофункции стали объектом изучения. Животные были выбраны и разделены на две экспериментальные группы - с иммунной гипофункции группы и контролируется один - клинически здоровой, за 5 голов в каждой. Тумоген было уделено первой группы, и оборудование "ПАРКЕС-Л" было уделено животных второй в течение 10 дней. Зонды крови для поиска были приняты в собак на 15-й и 30-й дни исследования. Количество клеток крови, лейкоцитов формулы, содержания гемоглобина, фагоцитарной активности neutrophils, числа фагоцитов, индекс фагоцитов, индекс усвояемости, антибактериальное и лизоцима активности сыворотки крови, концентрации иммуноглобулина были найдены в крови. Обе группы собак были рассмотрены в ходе экспериментального периода (30 дней). Морфологическое содержание в крови была улучшена на 15-й день у собак обеих групп. У животных тумоген лечение и комплекс "ПАРКЕС-Л" лечение, содержание эритроцитов и концентрации гемоглобина были приобретены. Количество лейкоцитов в крови собак первой группы была увеличена за счет neutrophils под тумоген влияния. Почти все показатели естественной резистентности организма под действием тумоген и комплекса "ПАРКЕС-Л" были увеличены. И на 15-ой и 30-й дни исследования, антибактериальным и лизоцима деятельность индексов в сыворотке крови были остался без изменений. У собак с низким естественной резистентности расстройств кроветворения и биосинтетических процессов были зарегистрированы. Функциональная активность защиты клеток организма у собак были увеличены в тумоген и "ПАРКЕС-Л" комплексное воздействие. Под тумоген действия и физиологических и лечебного оборудования комплекса «ПАРКЕС-Л» стала доступна для коррекции нарушений функционального иммунной системы организма.

Ключевые слова: иммунная система, иммунодефицит, исследования крови, тимоген, "ПАРКЕС-Л".

ВВЕДЕНИЕ

Среди множеств функциональных систем организма особое место занимает иммунная, которая определяет устойчивость и сопротивляемость организма при

воздействии неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды.

Иммунная система организма человека и животных включает центральный орган иммунитета – тимус, лимфоидные

органы (красный костный мозг, селезёнку, лимфатические узлы), а также иммунокомпетентные клетки крови и внутренних органов. При этом, как и все функции организма, иммунная система находится под контролем регуляторных систем: нервной, гуморальной и энергоинформационной [1,4].

Известно, что большинство факторов внешней среды воздействуют на организм через рецептивные поля и по принципу рефлекторной реакции центральная нервная система регулирует функциональную активность всех органов и систем организма, включая и эндокринную [9,11].

В последние десятилетия стали реально ощутимыми воздействия на организм человека и животных электромагнитных излучений (ЭМИ) как природного (естественного), так и искусственного (технического) происхождения.

Экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют, что электромагнитные колебания влияют, прежде всего, на функциональное состояние нервной, эндокринной, иммунной, системы кроветворения, половой и других систем, воздействуя на все уровни организации живой материи (субклеточный, молекулярный, клеточный, органный и организменный) [2,3,6].

На современном этапе изучения влияния различных видов излучений на организм человека и животных, остаются неизвестными многие стороны механизмов действия их на биообъекты. При этом, нет единого мнения о механизмах действия ЭМИ, хотя получает признание роль ЭМИ низкой интенсивности в механизмах передачи информации с внешней среды на целостный организм, а также на органы и системы целостного организма [3,6].

Сегодня признаётся наличие в организме человека и животных функциональной энергоинформационной (ФЭИ) системы со своими морфологическими

структурами – биологически активными точками (БАТ), энергетическими каналами, по которым энергия распространяется к клеткам, органам и тканям организма; энергетической оболочкой тела и энергетическими центрами. Многочисленными исследованиями установлено, что БАТ отличаются по своим свойствам от окружающих тканей (низкой электропроводностью, повышенным уровнем окислительно-восстановительных реакций, обменом веществ, местной температурой, высокой возбудимостью и другими свойствами) [5,6,8,9].

Современные технологии повышения продуктивных качеств животных и эффективности профилактических и лечебных мероприятий должны базироваться на основе глубокого изучения морфологических, физиолого-биохимических и биофизических процессов в организме, а также адаптационных возможностей и естественной резистентности организма. При этом, научные поиски эффективных методов коррекции функционального состояния иммунной системы организма следует вести не только среди иммуномодуляторов, нейротропных и гормональных препаратов, обладающих широким спектром действия, но и среди неинвазивных современных методов нормализации функционального состояния. [5,7,10,11].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью наших исследований было сравнительное изучение эффективности иммуностимулирующего воздействия физиотерапевтическим частотно-резонансным прибором "ПАРКЕС-Л" и препарата вилочковой железы тимогена у собак.

Объектом для изучения служили собаки, у которых в предыдущих исследованиях было выявлена гипофункция иммунной системы по клиническим признакам, биорезонансному тестированию с помощью диагностического комплекса

”ПАРКЕС-Д” и результатам исследования крови.

Животные были подобраны по принципу парных аналогов и распределены на две опытные группы – с гипофункцией иммунной системы и одну контрольную – клинически здоровые, – по 5 голов в каждой. Собакам первой опытной группы внутримышечно вводили тимоген, из расчёта 5,0 мл на голову в виде 0,01% раствора раз в сутки в течение 10 дней, а у животных второй опытной группы применяли прибор физиотерапевтический комплекс «ПАРКЕС-Л», рабочий диапазон частот электромагнитного излучения которого составляет от 0,1 Гц до 30 Гц (фото 1). Эффект прибора достигается за счет излучения электромагнитных импульсов инфракрасными светодиодами, находящимися с тыльной и торцевой сторон прибора. Это позволяет применять прибор, поместив его на теле собак (чехол входит в комплектацию прибора), а также дистанционно, расположив прибор на расстоянии не более 50 см от тела животных. Комплекс ”ПАРКЕС-Л” имеет 7 программ. Мы использовали 2-ю программу, которая улучшает трофические процессы. Эта программа применялась утром и вечером, 10 дней подряд, а также 7-ю программу на протяжении 10 дней – днём и вечером, которая генерируя электромагнитные волны определённой частоты, способствует укреплению иммунной системы, оказывает адаптогенное, детоксикационное действие.



Пробы крови для исследований извлекали у собак на 15 и 30 день исследования. Принимая во внимание то, что снижение иммунных свойств организма вызывает целый ряд изменений в органах и

тканях, что непосредственно отражается на составе и свойствах крови животных, мы определяли количество форменных элементов крови, лейкоцитарную формулу, содержание гемоглобина. Из показателей естественной резистентности определяли: фагоцитарную активность нейтрофилов (ФА), фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ), индекс переваривания (ИП), бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови, концентрацию иммуноглобулинов.

Цифровой материал статистически обрабатывали с помощью компьютерной программы Excel из пакета "Microsoft Office 2007".

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Собаки обеих групп подвергались клиническому осмотру в течение всего опытного периода (30 дней).

Установлено, что у собак второй опытной группы, обработанных комплексом ”ПАРКЕС-Л”, улучшилось общее состояние. Лишь шерстный покров у 3-х собак опытной группы оставался более взъерошенным, тусклым без особого блеска.

На 15-й день у собак опытных групп улучшился и морфологический состав крови – увеличилось количество лейкоцитов, концентрация гемоглобина, а также иммунологические показатели. У животных, обработанных тимогеном, а также комплексом ”ПАРКЕС-Л”, содержание эритроцитов стало больше, соответственно на 6,6 и 5,0%, а концентрация гемоглобина увеличилась на 9,6 и 8,0%. Количество лейкоцитов в крови собак первой опытной группы на 15 день исследования незначительно увеличилось, в основном, за счёт нейтрофилов, причём более значимым – под влиянием тимогена.

При этом возросли почти все показатели естественной резистентности организма, под действием тимогена и комплекса ”ПАРКЕС-Л”. Так, фагоцитарная активность возросла соответственно, на

9,9% и 3,8%; фагоцитарный индекс – на 6,8 и 4,6%; индекс переваримости – соответственно, на 6,1 и 7,5%. Концентрация иммуноглобулинов увеличилась на 91мг% под влиянием тимогена и на 85мг% – после обработки собак прибором "ПАРКЕС-Л".

На 30-й день исследования общее состояние собак обеих групп было удовлетворительным и у собак опытной группы исчезли тусклость шёрстного покрова и аллопеции на отдельных участках кожи. По всем клиническим показателям и поведенческим реакциям собаки обеих опытных групп существенно не отличались от контрольной.

Интерьерные показатели собак опытной группы улучшились и по некоторым показателям достигли контроля и даже стали лучше. Так, количество эритроцитов у собак, обработанных тимогеном и прибором "ПАРКЕС-Л", увеличилось соответственно до 7,8 и 6,8 $\times 10^{12}$ /л при 6,1 $\times 10^{12}$ /л – в начале опыта, а концентрация гемоглобина повысилась до 148 \pm 4,0 и 140 \pm 3,8 г/л, при 124 \pm 3,1 г/л в начале эксперимента.

Количество лейкоцитов также увеличилось в крови собак, обработанных тимогеном до 12,8 $\times 10^9$ /л, а применение комплекса "ПАРКЕС-Л" – до 13,0 $\times 10^9$ /л, при 10,4 $\times 10^9$ /л – в начале опыта. Следовательно, под действием тимогена, а также при применении комплекса "ПАРКЕС-Л" в организме собак улучшаются процессы гемопоэза, восстанавливаясь до физиологических норм.

При этом улучшаются и все показатели естественной резистентности организма. Увеличивается количество нейтрофилов с 60 до 70-74%, фагоцитарная активность нейтрофилов с 28,6 \pm 2,7 до 48,2 \pm 4,1% – под действием тимогена и 46,0 \pm 3,0% – комплекса "ПАРКЕС-Л". Соответственно повысился фагоцитарный индекс – с 51,4 \pm 4,2% до 78,4 \pm 3,6 и 78,0 \pm 3,4%, а также индекс переваривания

– с 62,5 \pm 4,1% до 82,4 \pm 4,6% и 78,2 \pm 4,0%. Концентрация иммуноглобулинов возросла с 585 \pm 18,8мг% до 804 \pm 20,4 и 786 \pm 20,8мг% ($p \leq 0,01$) соответственно.

И на 15-й и на 30-й дни исследования остались без изменений показатели бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови.

Таким образом, под влиянием тимогена и применения комплекса "ПАРКЕС-Л" в организме собак повышается функциональная активность преимущественно клеточной защиты организма.

На основании полученных результатов исследований можно сделать следующие выводы:

1. У собак с пониженной естественной резистентностью регистрируются нарушения гемопоэза, снижение биосинтетических процессов.

2. Под действием тимогена и физиотерапевтического прибора комплекса "ПАРКЕС-Л" можно корректировать нарушение иммунной функциональной системы организма. При этом комплекс "ПАРКЕС-Л" по своей эффективности не уступает биологическому действию иммуностимулятора тимогена.

3. Более полное восстановление нарушенных функций в организме собак с пониженной естественной резистентностью регистрируется к 30-му дню применения изученных способов коррекции функциональных систем.

Correction of immune deficiency in dogs.

O. Bobritskaya.

ABSTRACT

Comparative studying of immune stimulating action efficiency of physiologic and therapeutic resonance frequency "PARKES-L" equipment with thymus gland preparation – tymogen have been the purpose of investigation. Dogs with immune hypofunction have been the object of studying. Animals have been chosen and divided into two experimental groups – with immune hypofunc-

tion group and controlled one – clinically healthy, per 5 heads in each. Tymogen has been given to the first group, and “PARKES-L” equipment has been given to animals of second one during 10 days. Blood probes for search have been taken in dogs on the 15-th and the 30-th days of investigation. The quantity of blood cells, leucocytes formula, hemoglobin content, phagocyte activity of neutrophils, phagocyte number, phagocyte index, digestibility index, antibacterial and lysocim activity of blood serum, immunoglobulin concentration have been searched in blood. Both dog groups have been examined during experimental period (30 days). Morphological blood content has been improved on the 15-th day in dogs of both groups. In animals tymogen treated and “PARKES-L” complex treated, erythrocyte content and hemoglobin concentration have been gained. Quantity of leucocytes in dogs’ blood of the first group has been increased on account of neutrophils under the tymogen influence. Almost all indices of natural organism resistance under the action of tymogen and “PARKES-L” complex have been increased. Both on the 15-th and the 30-th days of research, antibacterial and lysocim activity of blood serum indices have been stayed without any changes. In dogs with low natural resistance hemopoiesis disorders and biosynthetic processes have been registered. Functional activity of cell organism protection in dogs have been increased under tymogen and “PARKES-L” complex influence. Under tymogen action and physiologic and therapeutic equipment of “PARKES-L” complex has been available to correct disorders of functional immune system of organism.

Key words: immune system, immune deficiency, blood search, tymogen, “PARKES-L”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамов В. В. Интеграция иммунной и нервной систем. - Новосибирск. -1991. - 168 с.

2. Архипов М. Е. Биофизические аспекты воздействия на живой организм право- и лево-вращающихся электромагнитных полей - дис. канд. биол. наук. - Тула, 2004. – 284 с.

3. Гапеев А. Б. Физико-химические механизмы действия электромагнитного излучения крайне высоких частот (КВЧ) на клеточном и организменном уровнях : дис. д-ра физико-мат. наук. - Пушкино, 2006. – 285 с.

4. Гизатуллина Ф. Г. Иммунобиологический статус животных при различных патологических состояниях в условиях экологического неблагополучия Южного Урала: дис. д-ра биол. наук. - Троицк, 2006. – 315 с.

5. Готовский М. Ю. Биорезонансная терапия. - М. : ИМЕДИС. -2008. – 170 с.

6. Дейнекина Т. А. Влияние электромагнитных полей на цитофизиологические параметры клеток и животных человека : дис. канд. биол. наук. - Ростов-на-Дону. - 2002. – 133 с.

7. Павлусенко И. И. Физиотерапевтическая аппаратура «Паркес-Л» // Сучасні методи біорезонансної діагностики та електромагнітна терапія : мат. наук.-пр. конф. - Київ. -2013. – С. 9-13.

8. Полетаев А. И. Биофизические принципы функциональной системы меридианов // Фундаментальные методы донозологической диагностики и коррекции здоровья человека : мат. науч.-кон., 3-4 марта 2012. -Киев. -2013. - С. 79-80.

9. Пряхин Е. А. Адаптационные реакции на субклеточном, клеточном системном и органическом уровнях при воздействии ЭМП : дис. д-ра биол. наук. - Челябинск, - 2007. – 345 с.

10. Топурия Л. Ю. Структурно-функциональная и клиническая оценка влияния иммуномодуляторов природного происхождения на организм животных : дис. д-ра биол. наук. - Оренбург. -2008. – 343 с.

11. Шарова Л. В. Биоинформационные подходы к оценке и восстановлению

адаптационных резервов организма : дис.
д-ра биол. наук. - М. -2007. - 304 с.

УДК: 611/60-018:636.39

УЛЬТРАМОРФОЛОГИЯ ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КОЗ ЗААНЕНСКОЙ ПОРОДЫ

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



РЕФЕРАТ

Проведены ультраморфологические исследования гемомикроциркуляторного русла молочной железы коз зааненской породы. Установлены морфофункциональные структурные компоненты гемомикроциркуляторного русла молочной железы у коз зааненской породы. Материалом для электронно-микроскопического исследований служили небольшие по объему (2-4 мм³) образцы молочной железы козы. Образцы взяты из глубоких областей паренхимы органа. Материал был отобран и зафиксирован непосредственно после убоя животных. Электронно-микроскопическое исследование выполнено на микроскопе JEOL JEM 1011. Электронные микрофотографии были получены с использованием камеры Morada (Digital Imaging Solutions Inc.). Установили, что звенья микроциркуляторного русла в молочной железе коз зааненской породы отличается четко определенными синтопическими закономерностями пространственной организации и характерными особенностями строения их стенки. Ультраструктура эндотелиоцитов артериального и венозного отделов кровеносных капилляров имеет существенные различия. Ядра эндотелиоцитов венозного отдела характеризуются длинной осью поперек оси капилляра, а ядра артериального отдела вдоль его оси. В венозном русле больше митохондрий, по-сравнению с артериальным. Это связано с тем, что в венах меньше парциальное давление кислорода и митохондрии компенсируют низкий процент окислительно-восстановительных реакций и образуют как можно больше юных органелл с гиперосмированным матриксом. В процессе исследования обнаружено, что поверхность эндотелиоцитов артериального русла по базальному краю абсолютно ровная и гладкая. Поверхность венозного русла по люминальному краю неровная, бугристая и имеет не одинаковой длины отростки, также образуются инвагинации и везикулы, все эти образования говорят об увеличении поверхности клетки и повышению скорости обмена веществ и выделению продуктов метаболизма из ткани молочной железы коз зааненской породы.

Ключевые слова: коза, молочная железа, ультраструктура, артерия, русло, капилляр, оболочка, тип.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы разведение молочных коз стало интенсивно развиваться во всем мире. Производство различных молочных продуктов из козьего молока –

масло сыр, различные йогурты – становятся все более популярными во многих странах. Козье молоко является не только диетическим продуктом, но и обладает лечебными и антиинфекционными свой-

ствами. В настоящее время племенная база молочного козоводства представлена лишь одной породой – зааненской, так как лишь эта порода официально зарегистрирована и имеет допуск к использованию на территории Российской Федерации [3]. Разведение зааненской породы коз способствует развитию молочной продуктивности. Для более успешной работы в этом направлении, а именно качество приплода и сохранность его необходимо создать качественную организацию племенного дела; разработать современные зооветеринарные мероприятия, направленные на профилактику и лечение поголовья; изучения породных, морфофункциональных особенностей организма данных животных [4,5]. Молочная железа коз, как сложная органоспецифическая система, вызывает определенный интерес среди отечественных и зарубежных ученых в связи с перспективным развитием молочного козоводства и повышающимся спросом на козье молоко, которое является естественной пищей для новорожденных козлят и диетическим продуктом питания для людей. [2].

Целью нашего исследования является, установить ультраморфологию гемомикроциркуляторного русла молочной железы коз зааненской породы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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

ли небольшие по объему (2-4 мм³) образцы молочной железы козы. Образцы взяты из глубоких областей паренхимы органа. Материал был отобран и зафиксирован непосредственно после убоя животных. Отобранные образцы зафиксированы в 2,5%-м растворе глутарового альдегида на 0,1М фосфатном буфере в течение 1 часа при комнатной температуре, после чего промыты в 3-х сменах фосфатного буфера. Далее была выполнена постфиксация кусочков в 1%-м растворе тетроксид осмия на том же буфере, при той же температуре в течение 1 часа. После фиксации образцы обезвожены в серии растворов этанола возрастающей концентрации (30%, 50%, 70%, 96%, 100%), пропитаны ацетоном и заключены в эпоксидную смолу Эпон. Для гистологического исследования на ультрамикротоме Leica UC7 получены полутонкие срезы изучаемых объектов толщиной 1,0 - 1,5 мкм. Срезы окрашены толлуидиновым синим и исследованы в световом микроскопе Leica DM2500, снабженном цифровой камерой Leica DFC290. Для электронномикроскопического исследования на ультрамикротоме Leica UC7 получены ультратонкие срезы толщиной 50 - 70 нм. Срезы собирали на медные сетки для электронной микроскопии. Контрастирование ультрасрезов проводили в спиртовом растворе уранил-ацетата и водном растворе цитрата свинца. Электронномикроскопическое исследование выполнено на микроскопе JEOL JEM 1011. Электронные микрофотографии были получены с использованием камеры Morgana (Digital Imaging Solutions Inc.) [1,6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Впервые проведенные нами ультраструктурные исследования показали, что началом микроциркуляторного русла являются артериолы, их стенка представлена тремя оболочками, в которых клетки расположены в один ряд. Калибр артериол колеблется в среднем от 20 до 100

мкм. Внутренняя оболочка (интима) выстлана эндотелиоцитами, лежащими на хорошо развитой базальной мембране. Внутренняя оболочка отделена от средней участками внутренней эластической мембраны; средняя оболочка сформирована спирально расположенными пучками гладких миоцитов, ориентированных по крутой спирали или продольно. Благодаря мышечным клеткам артериолы сокращаются, поддерживая тонус и создавая периферическое сопротивление кровотоку. С уменьшением диаметра в артериолах понижается число миоцитов и в дальнейшем они располагаются в один слой. Наружная оболочка – адвентициальная, представлена элементами соединительной ткани: основное вещество пронизано обилием коллагеновых волокон и эластических пластин, среди которых изредка встречаются соединительнотканые клетки. Более мелкие артериолы под прямым углом делятся на прекапилляры. Калибр прекапилляров в среднем колеблется от 12 до 20 мкм. Стенка прекапилляров состоит из двух оболочек – эндотелиальной и мышечной. Адвентициальная оболочка с соединительно-ткаными элементами отсутствует. Прекапиллярные оболочки имеют особенности структуризации, которые определяются отсутствием внутренней эластической мембраны и прерывистым моноцеллюлярным слоем гладких миоцитов. На границе артериол с прекапиллярами и прекапилляров с капиллярами обнаруживаются сфинктеры, которые образуются из гладкой мышечной ткани. Мышечные клетки располагаются на большом расстоянии друг от друга и часто в виде спирали, а также могут встречаться участки, где стенка представлена только эндотелиальными клетками. Данный факт, подтверждает, что прекапилляр помимо транспортной и распределительной функции участвует в обмене веществ.

Прекапилляры переходят в следую-

щие звено микроциркуляторного русла молочной железы коз зааненской породы – капилляр, основной функцией которого является обмен веществ. Они обеспечивают процесс обмена между кровью и клетками молочной железы. Калибр капилляров в среднем колеблется от 2 до 10 мкм. Анатомически капилляр представляет собой вид микротрубочки, имеющую тонкую стенку и состоящую из одного слоя эндотелиальных клеток и базальной мембраны. Обнаружено, что в капиллярах с диаметром от 2 до 5 мкм имеются эндотелиальные клетки, в них наряду с участками утолщения клетки располагаются безъядерные зоны, а также зоны сильного уплощения цитоплазмы небольшие по диаметру. При попадании в срезы ядер эндотелиальной клетки, обнаруживаются капилляры двух типов: с открытым и закрытым просветами. В капиллярах с закрытым просветом расположены эндотелиоциты продолговатой формы с гладкими контурами цитоплазмы с округло-овальными ядрами. В матриксе ядра расположен мелкозернистый хроматин по всей площади. Калибр перинуклеарного пространства достигает 30-45 нм, в определенных участках до 10-15 нм. У такого типа капилляров в цитоплазме встречаются везикулы с большим диаметром у свободного конца, а с меньшим у базального края цитоплазмы. Митохондрии встречаются редко, но местами обнаружены цистерны гранулярного ретикулума. У капилляров с открытым просветом ядро имеет неровные поверхности, а диаметр ядер в разы меньше предыдущих капилляров. Форма ядра овальная, хроматин расположен компактно, особенно по периферии ядра. У свободного края цитоплазмы эндотелиоцитов встречаются небольшие цитоплазматические отростки. Размеры перинуклеарного пространства варьируют от 10 до 25 нм. На ультратонких срезах, прошедших через стенку капилляров, с диаметром 5 до 10 мкм обна-

ружены эндотелиоциты двух видов: первые – с большими набухшими ядрами и расширенным перинуклеарным пространством, хроматин расположен рыхло, а цитоплазма имеет отростки длиной до 5 мкм; вторые – округлые, большие эндотелиоциты, хроматин ядра расположен компактно, поверхности имеют неровности. Оба вида клеток содержат обычные клеточные органеллы: митохондрии, аппарат Гольджи, гранулярную цитоплазматическую сеть. В стенке капилляра присутствуют перicyты, которые выполняют защитную функцию за счет выхода из состава сосудистой стенки и превращения в фагоциты, также они способны участвовать в двигательной иннервации стенки капилляров. Капилляры не имеют способности ветвиться, поэтому они разделяются на новые капилляры и, соединяясь между собой, образуют капиллярную сеть. Капилляры в основном сосредоточены в местах максимальной фильтрации жидкости и белка, такое расположение обеспечивает эффективное поступление содержимого интерстициального пространства в их просвет. Интенсивная резорбция жидкости из соединительно-тканного пространства поддерживается относительно большой площадью обмена капилляров, которые погружены в интерстициальный матрикс. Вместе с лимфатической системой кровеносная система создает оптимальные условия, в которых клетки и ткани живого организма способны выполнять свои функции. Все кровеносные и лимфатические капилляры и сосуды связаны между собой с транспортом крови или лимфы, через них поддерживается нормальное обновление тканевых жидкостей, которые способны вместе со структурными элементами стромы формировать окружающую среду клетки. Равновесие между тканевыми жидкостями и стромой находится в постоянном отношении. Благодаря этому клеткам доставляются питательные вещества и кислород, кото-

рые необходимы для жизнедеятельности. Необходимо учитывать, что при ослаблении кровотока местный гематокрит в крови начинает понижаться, это приводит к выключению капилляров из кровообращения. До закрытия происходит превращение капилляра в плазматический сосуд, по которому движется только плазма, а форменные элементы крови в нем отсутствуют. Выделены и магистральные капилляры, они являются основными путями кровотока, а их диаметр достигает до 20 мкм.

Капилляры, сливаясь в единую систему, образуют посткапиллярные венулы (посткапилляры). Калибр их в среднем колеблется от 15 до 25 мкм. Стенка посткапилляров состоит из одного слоя эндотелиоцитов и базальной мембраны, мышечные элементы отсутствуют. Также встречаются в наружной оболочке посткапилляров соединительно-тканые элементы. Основным отличием посткапилляров от капилляров является более частое расположение эндотелиальных клеток. Просвет посткапилляров ограничивается четвертью-шестью эндотелиальными клетками, а отношение диаметра просвета к толщине стенки составляет 10:1. В толще базальной мембраны посткапилляров располагаются перicyты. Основная функция этого звена является обменная.

Посткапилляры, сливаются и образуют собирательные венулы. Калибр венул в среднем колеблется от 25 до 50 мкм. Стенка венул состоит из двух слоев – адвентициальной, которая представлена элементами соединительной ткани: основное вещество богато коллагеновыми волокнами и эластическими пластинами, среди которых изредка встречаются соединительнотканые клетки; и эндотелиальной, которая выстлана эндотелиоцитами, лежащими на хорошо развитой базальной мембране. Внутренняя оболочка отделена от средней участками слабо обо-

значенной внутренней эластической мембраны.

В стенке венул, по мере увеличения диаметра сосуда перициты замещаются сначала незрелыми гладкомышечными клетками, а затем сплошным слоем типичных гладкомышечных элементов. Эти венулы считают мышечными, а при слиянии их образуются вены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Следовательно, звенья микроциркуляторного русла в молочной железе коз зааненской породы отличается четко определенными синтопическими закономерностями пространственной организации и характерными особенностями строения их стенки. Ультраструктура эндотелиоцитов артериального и венозного отделов кровеносных капилляров имеет существенные различия. Ядра эндотелиоцитов венозного отдела характеризуются длинной осью поперек оси капилляра, а ядра артериального отдела вдоль его оси. В венозном русле больше митохондрий, по сравнению с артериальным. Это связано с тем, что в венулах меньше парциальное давление кислорода и митохондрии компенсируют низкий процент окислительно-восстановительных реакций и образуют как можно больше юных органелл с гиперосмированным матриксом. В процессе исследования обнаружено, что поверхность эндотелиоцитов артериального русла по базальному краю абсолютно ровная и гладкая. Поверхность венозного русла по люминальному краю неровная, бугристая и имеет не одинаковой длины отростки, также образуются инвагинации и везикулы, все эти образования говорят об увеличении поверхности клетки и повышению скорости обмена веществ и выделению продуктов метаболизма из ткани молочной железы коз зааненской породы.

Ultramorphology of the haemo-microcirculatory course of the mammary gland of goats of Zaanenskaya breed.

M. Shchipakin.

ABSTRACT

Ultra morphological researches of the haemo microcirculatory course of a mammary gland of goats of zaanensky breed are conducted. Morphofunctionally structural components of the haemo microcirculatory course of a mammary gland at goats of zaanensky breed are established. As material for electronic and microscopic researches samples of a mammary gland of a goat served small on volume (2-4 mm³). Samples are taken from deep areas of a parenchyma of body. The material was selected and recorded directly after slaughter of animals. Electronic and microscopic research is executed on JEOL JEM 1011 microscope. Electronic micro photos were received with Morada chamber use (Digital Imaging Solutions Inc.). Established that links of the microcirculatory course in a mammary gland of goats of zaanensky breed differs accurately certain sintopichesky regularities of the spatial organization and characteristics of a structure of their wall. The ultra structure endotelio-cytis arterial and venous departments of blood capillaries has essential distinctions. Kernels endotelio-cytis venous department are characterized by a long axis across a capillary axis, and a kernel of arterial department along its axis. In the venous course there are more than mitochondrion, in comparison with the arterial. It is connected with that in the venulakh less partially pressure of oxygen and a mitochondrion compensates low interest of oxidation-reduction reactions and form as much as possible young organelles with giperosmirovanny the matriksy. In the course of research it is revealed that a surface endotelio-cytis the arterial course on bazalny edge absolutely equal and smooth. The surface of the venous course on lyuminalny edge rough, hilly also has not identical length shoots, invagination and vesiculy also are formed, all these educations speak about increase in a surface of a cage and to increase of metabolic rate and allocation of

products of a metabolism from tissue of a mammary gland of goats of zaanensky breed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кудряшов А.А. Патологоанатомическое вскрытие трупов животных. – Ч.2. – Ветеринарная практика. 2005, 1(28). – С. 33-37.
2. Ремизова, Е.В. Микроструктура молочной железы коз в зависимости от физиологического состояния организма // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе: Сборник статей 64-й междунауч. пр. конф. -Кострома. -2013. – Т.2. – С. 207-210.
3. Григорян Л.Н., Хататаев С.А. состоя-

ние племенной базы молочного козоводства России // Farm Animals. -2014. №1.– С. 48-52.

4. Москаленко Л.П., Филинская О.В. Козоводство: учебное пособие – СПб: «Лань». -2012. – 272с.
5. Новопашина, С.И. Молочное козоводство в России // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2009. - №2. – С. 1-4.
6. Щипакин М.В. Анализ гистогенеза молочной железы коз зааненской породы при смене функциональных состояний // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. -2013 - №4. – С. 84-90.

УДК: 611.137.83-073.75:599.742.75

ВОЗРАСТНАЯ МОРФОДИНАМИКА АРТЕРИЙ ОБЛАСТИ БЕДРА РЫСИ ЕВРАЗИЙСКОЙ (LYNX EUROASIAN)

Былинская Д.С. - аспирант кафедры анатомии животных
Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины



РЕФЕРАТ

Проведено исследование основных артериальных магистралей области бедра рыси евразийской в возрастном аспекте и установлены их основные морфометрические показатели. Материалом для исследования послужили 74 тазовые конечности рыси евразийской разных возрастных групп. Материал исследовали, используя комплекс морфологических методов, включающий тонкое анатомическое препарирование, вазорентгенографию, изготовление коррозионных препаратов. Морфометрию артерий проводили под стереоскопическим микроскопом МБС-10 и при помощи штанген-циркуля с ценой делений 0,05 мм. В результате исследования было установлено, что основным магистральным сосудом тазовой конечности у рыси евразийской является наружная подвздошная артерия, отходящая от брюшной аорты на уровне пятого поясничного позвонка. До входа в бедренный канал она отдает глубокую артерию бедра, после чего следует в области бедра как бедренная артерия. Бедренная артерия отдает краниальную бедренную и проксимальную каудальную бедренную артерии, а также нисходящую артерию колена. Краниальная бедренная артерия в основном снабжает кровью четырёхглавую мышцу бедра. Проксимальная каудальная бедренная артерия питает заднебедренную группу разгибателей тазобедренного сустава и мышцы аддукторы тазовой конечности. Нисходящая артерия колена участвует в образовании артериальной сети коленного сустава. Проведя морфометрический анализ полученных данных можно установить, что диаметр наружной подвздошной артерии и нисходящей артерии

колена у взрослых особей рыси евразийской, по сравнению с новорожденными, увеличивается примерно в 6,5 раз. Калибр бедренной артерии увеличивается в среднем в 5,3 раза. Диаметр краниальной бедренной артерии увеличивается у взрослых особей примерно в 5,7 раза. У взрослых особей диаметр каудальной бедренной и глубокой бедренной артерий в среднем увеличивается в 5,5 раза, по сравнению с новорожденными.

Ключевые слова: артерии, бедро, рысь евразийская.

ВВЕДЕНИЕ

Евразийская рысь принадлежит к отряду хищных, к семейству кошачьих. Когда-то она обитала во всех лесных массивах Северного полушария. Однако ее, как опасного хищника, немилосердно истребляли. Сегодня евразийская рысь занесена в Международную красную книгу. [8] В нашей стране никогда не было специального промысла на этого зверя. В первую очередь это связано с его невысокой численностью в дикой природе. Однако рысь евразийская всегда относилась к пушным видам животных и стоимость ее шкур на пушных аукционах неизменно остается высокой.

С точки зрения звероводства рысь евразийская является уникальным объектом для разведения, благодаря ряду присущих ей биологических особенностей. Так рысь евразийская является самым крупным представителем рода рысей. Она достигает до 70 см в холке. Репродуктивный период у этого животного достаточно длительный – 10-12 лет, а продолжительность жизни составляет 20-25 лет. Половая зрелость у самок наступает ко второму, иногда третьему году жизни, а самцов – на третий-четвертый год. В среднем рождается три-шесть котят. [3]

Примером наиболее рационального разведения рыси евразийской в условиях зверокомплекса может служить зверосовхоз «Салтыковский», расположенный в Московской области. Доместикация животных, в особенности при условиях гиподинамии, оказывает существенный отпечаток на строение сердечно-сосудистой системы. В особенности это связано с изменениями в строении сосу-

дов конечностей [6,7,8].

Целью нашего исследования является, установить возрастную морфодинамику артерий области бедра у рыси евразийской. Проанализировав доступные источники литературы можно встретить данные по этой проблеме, касающиеся только одного представителя кошачьих - кошки домашней [1,5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили 74 трупа рысей (новорожденные рысята - 17; молодняк 1,5-3 месяцев – 32; взрослые особи – 25), доставленные на кафедру анатомии животных с зверосовхоза «Салтыковский» Московской области.

Для изучения морфологических особенностей васкуляризации органов тазовой конечности рыси евразийской, топографии их магистральных кровеносных сосудов использовали комплекс морфологических методов исследования: тонкое анатомическое препарирование, вазорентгенографию, изготовление коррозионных препаратов.

Рентгенографическое исследование проводилось с применением инъекционной массы по прописи К.И. Кульчицкого и др. (1983) в нашей модификации: взвесь свинцового сурика в скипидаре с добавлением спирта этилового ректификата, для предотвращения расслаивания инъекционной массы (сурик железный 10%, скипидар – 30-60%, спирт этиловый до 100%). При изготовлении коррозионных препаратов для инъекции сосудистого русла применяли двухкомпонентную (порошок - жидкость) самотвердеющую пластмассу на основе сополимера акриловой группы "Редонт-03» и «Редонт-

Колир» [4]. Морфометрию артерий области бедра рыси проводили под стереоскопическим микроскопом МБС-10 и при помощи штанген-циркуля с ценой делений 0,05 мм. Все анатомические термины, приведенные в данной статье соответствуют пятой редакции международной ветеринарной анатомической номенклатуры [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Нами было установлено, что основной кровеносной магистралью тазовой конечности рыси является наружная подвздошная артерия - *a. iliaca externa*. Она отходит от брюшной аорты на уровне пятого поясничного позвонка, опускается дистально в область тазобедренного сустава и у лонной кости погружается в бедренный канал. Диаметр наружной подвздошной артерии у новорожденных рысят изменяется от 0,77 мм до 0,87 мм, в среднем равняется $0,81 \pm 0,04$ мм. У молодняка полутора месяцев ее калибр в среднем составил $1,44 \pm 0,11$ мм, а к трехмесячному возрасту, он в среднем увеличивается до $2,98 \pm 0,24$ мм. У взрослых особей рыси евразийской данная величина варьирует от 5,24 мм до 5,39 мм, в среднем составляет $5,30 \pm 0,50$ мм. Морфометрические данные показывают, что к полуторамесячному возрасту диаметр наружной подвздошной артерии увеличивается в среднем в 1,78 раза, к трехмесячному возрасту в 3,68 раза, у взрослых животных в 6,54 раз по сравнению с новорожденными.

До входа в бедренный канал наружная подвздошная артерия отдает глубокую артерию бедра - *a. profunda femoris*. Последняя представляет собой сильно развитый сосуд, который начинается от наружной подвздошной артерии на уровне лонной кости и направляется каудовентрально, проходя между подвздошно-поясничной и гребешковой мышцами. У каудального края бедренной кости от нее отходит медиальная окружная артерия бедра, а ее конечные ветви ветвятся в

длинных разгибателях тазобедренного сустава, приводящих и запирающих мышц. Диаметр глубокой бедренной артерии у новорожденных рысят колеблется от 0,33 мм до 0,43 мм, в среднем равняется $0,39 \pm 0,02$ мм. У молодняка полутора месяцев диаметр этого сосуда в среднем составляет $0,62 \pm 0,04$ мм, к трехмесячному возрасту, он в среднем увеличивается до $1,05 \pm 0,08$ мм. У взрослых особей рыси евразийской данная величина варьирует от 2,11 мм до 2,19 мм и в среднем составляет $2,15 \pm 0,21$ мм.

Отдав глубокую бедренную артерию, наружная подвздошная артерия у рыси евразийской продолжается как бедренная артерия. Бедренная артерия - *a. femoralis* является продолжением наружной подвздошной артерии после отхождения от нее глубокой бедренной артерии. Бедренная артерия проникает в бедренный канал, переходит на медиальную поверхность дистальной части бедра, а затем и на ее плантарную поверхность, затем она переходит в подколенную область, под икроножную мышцу образуя подколенную артерию. Диаметр бедренной артерии у новорожденных рысят колеблется от 0,68 мм до 0,77 мм и в среднем равняется $0,74 \pm 0,05$ мм. У молодняка полутора месяцев диаметр данной артерии в среднем составляет $1,48 \pm 0,11$ мм, к трехмесячному возрасту, он в среднем увеличивается до $1,74 \pm 0,14$ мм. У взрослых особей рыси евразийской данная величина варьирует от 3,89 мм до 3,40 мм и в среднем составляет $3,95 \pm 0,35$ мм. На своем пути бедренная артерия отдает крупные артерии области бедра: краниальную бедренную артерию и проксимальную каудальную бедренную, и более мелкую по калибру нисходящую артерию колена.

Краниальная бедренная артерия - *a. femoris cranialis* - проходит между прямой и латеральной головками четырехглавой мышцы бедра, в которой и разветвляется вместе с бедренным нервом.

Диаметр краниальной бедренной артерии у новорожденных рысят колеблется от 0,31 мм до 0,42 мм и в среднем равняется $0,36\pm 0,02$ мм. У молодняка полутора месяцев диаметр данного сосуда в среднем составляет $0,56\pm 0,03$ мм, а к трехмесячному возрасту, он в среднем увеличивается до $0,71\pm 0,05$ мм. У взрослых особей рыси евразийской данная величина варьирует от 1,99 мм до 2,08 мм, в среднем составляет $2,05\pm 0,19$ мм.

Проксимальная каудальная бедренная артерия - *a. femoris caudalis proximalis* отходит от бедренной артерии в каудальном направлении и питает заднебедренную группу разгибателей тазобедренного сустава и мышцы аддукторы тазовой конечности. Диаметр проксимальной каудальной бедренной артерии у новорожденных рысят колеблется от 0,26 мм до 0,37 мм и в среднем составляет $0,31\pm 0,02$ мм. У молодняка полутора месяцев диаметр этой артерии в среднем составляет $0,44\pm 0,03$ мм, к трехмесячному возрасту, он в среднем увеличивается до $0,63\pm 0,04$ мм. У взрослых особей рыси евразийской данная величина варьирует от 1,63 мм до 1,74 мм и в среднем составляет $1,70\pm 0,16$ мм.

Нисходящая артерия колена – *a. genus descendens* – отходит от бедренной артерии и у рыси евразийской участвует в образовании артериальной сети коленного сустава. Диаметр нисходящей артерии колена у новорожденных рысят колеблется от 0,11 мм до 0,19 мм и в среднем равняется $0,15\pm 0,01$ мм. У молодняка полутора месяцев диаметр данного сосуда в среднем составляет $0,22\pm 0,01$ мм, а к трехмесячному возрасту, он в среднем увеличивается до $0,35\pm 0,02$ мм. У взрослых особей рыси евразийской данная величина варьирует от 1,63 мм до 1,74 мм и в среднем составляет $0,98\pm 0,07$ мм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основным магистральным сосудом тазовой конечности у рыси евразийской

является наружная подвздошная артерия, отходящая от брюшной аорты на уровне пятого поясничного позвонка. До входа в бедренный канал она отдает глубокую артерию бедра, после чего следует в области бедра как бедренная артерия. Бедренная артерия в данной отдает краниальную бедренную и проксимальную каудальную бедренную артерии, а также нисходящую артерию колена. Краниальная бедренная артерия в основном снабжает кровью четырехглавую мышцу бедра. Проксимальная каудальная бедренная артерия питает заднебедренную группу разгибателей тазобедренного сустава и мышцы аддукторы тазовой конечности. Нисходящая артерия колена у рыси евразийской участвует в образовании артериальной сети коленного сустава. Проведя морфометрический анализ полученных данных можно установить, что диаметр наружной подвздошной артерии и нисходящей артерии колена у взрослых особей рыси евразийской, по сравнению с новорожденными, увеличивается примерно в 6,5 раз. Калибр бедренной артерии увеличивается в среднем в 5,3 раза. Диаметр краниальной бедренной артерии увеличивается у взрослых особей примерно в 5,7 раза. У взрослых особей диаметр каудальной бедренной и глубокой бедренной артерий в среднем увеличивается в 5,5 раза, по сравнению с новорожденными.

Age-river rift morph dynamics arteries hip area of the Eurasian lynx (LYNX EUROASIAN)

D. Bylinskaya.

ABSTRACT

The study of the main arterial roads of the thigh area of the Eurasian lynx in age aspect, and set their basic morphometric characteristics. The research material was 74 pelvic limbs of the Eurasian lynx in various age groups. The material was studied using a complex of morphological methods, including subtle anatomical dissection, waterintensive, manufacture of the corrosion products.

Morphometry of the arteries was performed under a stereoscopic microscope MBS-10 and using stangen compass with graduation 0,05 mm The study found that the main vessel pelvic limbs of the Eurasian lynx is the external iliac artery, the exhaust from the abdominal aorta at the level of the fifth lumbar vertebra. Before entering into the femoral canal, she gives deep artery hips, followed by the hips as the femoral artery. Femoral artery gives cranial proximal femoral and caudal femoral artery, and the descending artery knee. Cranial femoral artery mainly supplies blood to the quadriceps muscle of the thigh. Proximal caudal femoral artery nourishes force group extensor of the hip joint and muscle adductor pelvic limbs. Descending artery of the tribe involved in the formation of arterial network of the knee joint. After a morphometric analysis of the received data we can establish that the diameter of the external iliac artery and descending artery knee adult Eurasian lynx, compared with infants, increases approximately 6.5 times. Caliber femoral artery increases on average by 5.3 times. The diameter of the cranial femoral artery increases in adults about 5.7 times. Adult diameter caudal and deep femoral femoral artery on average increased by 5,5 times in comparison with newborn babies.

Key words: artery, femur, Eurasian lynx.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зеленовский Н.В., Хонин Г.А. Анатомия собаки и кошки. – СПб.: Периферия, 2009. – 198 с.
2. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура. Четвертая редакция. Перевод и русская терминология проф. Зеленовский Н.В. – М.: «Мир», 2003. – 352 с.
3. Найденко С.В. Особенности размножения и постнатального развития евразийской рыси. Москва: Т-во научных изданий КМК. 2005. - 111 с.
4. Прусаков А.В. Морфология основных источников кровоснабжения большого

мозга таксы. – Иппология и ветеринария, 2014, 1(11). – СПб. –104-109.

5. Фольмерхаус Б., Фревейн Й. Анатомия собаки и кошки – М.: Аквариум 2003
6. Щипакин М.В. Рентгеноанатомия артерий области бедра хоря золотистого// Актуальные проблемы ветеринарии. Сборник научных трудов СПбГАВМ № 136, СПб, 2004. - С. 135-136.
7. Щипакин М.В. Рентгеноанатомия артерий стопы хоря золотистого //Материалы научной международной конференции профессорско-преподавательского состава, на-уч.сотр, аспирантов СПбГАВМ.– СПб, 2005. - С. 100-101
8. Юдина Е.В., Юдин В.Г. Аспекты биологии и разведения енотовидной собаки, барсука, рыси и дальневосточного кота. Владивосток: ДВО АН СССР. -1991.

ЭФФЕКТИВНОЕ

АНТИДИАРЕЙНОЕ СРЕДСТВО

Диарин – одно из лучших антидиарейных средств для всех видов животных. Компоненты препарата воздействуют на большинство мишеней патологического процесса. Обладает ростостимулирующим действием. Щадит полезную микрофлору кишечника. Разработка кафедры фармакологии и токсикологии СПбГАВМ. Применяется внутрь в дозе 0,3 мл/кг на протяжении 3-5 дней. Форма выпуска флаконы различной емкости. Тел. (812)387 11.58.

Метрин - средство для профилактики и лечения послеродовых эндометритов. Проявляет антимикробное, противовоспалительное, иммуностимулирующее и др. виды действия. Разработка кафедры фармакологии и токсикологии СПбГАВМ. Коровам применяется внутриматочно по 70 мл на протяжении до-5 дней. Форма выпуска – порошок в коробке для растворения в 1 л прокипяченной воды. Тел. (812)387 11 58.



ПРИНЦИПЫ РАБОТЫ СЛУЖБЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ С УЧАСТИЕМ ЖИВОТНЫХ

Селезнева А.И. – к.м.н., научный сотрудник, Макарова М.Н. - д.м.н., профессор,
зам. ген. директора по науке, Ходько С.В. - контролер службы качества,
Шиков А.Н. - д.фарм.н., руководитель службы качества
Санкт-Петербургский институт фармации.



РЕФЕРАТ

Служба управления качеством (служба контроля качества, СК) – важнейшее административное подразделение любой организации. Функции службы качества в организации, выполняющей исследования на животных, чрезвычайно широки и специфичны. Служба качества проводит непрерывный мониторинг всех исследований и осуществляет непосредственное наблюдение за состоянием животных. Для наиболее эффективной работы СК руководствуется принципами, изложенными в документах, регламентирующих правила обращения с животными и надлежащей лабораторной практики, а также внутренними административными документами, составленными с учетом специфики деятельности конкретной организации. Особую важность в работе СК представляет также разработка стандартных планов исследования (Current Protocols), СОП, позволяющих стандартизировать работу организации, а также взаимодействие СК с БЭК и ветеринарной службой.

Таким образом, соблюдение принципов работы СК биомедицинских исследований с участием животных, непрерывное взаимодействие всех служб организации, разработка внутреннего плана контроля качества и собственных регламентирующих документов является исключительно важным как для обеспечения качества и достижения целей исследований, так и для гармонизации интересов и потребностей научного и ветеринарного общества всего мира.

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

ВВЕДЕНИЕ

Любая деятельность, будь то производство автомобилей, приготовление пищи в ресторане, медицинская помощь, ветеринария или научные исследования требует контроля качества работ. Для этого в организациях разного профиля существуют подразделения, осуществляющие непрерывную оценку каждого этапа работы. Согласно ГОСТ Р ИСО

9001- 2008 «Системы менеджмента качества. Требования» любая организация должна разработать, задокументировать, внедрить и поддерживать в рабочем состоянии систему менеджмента качества, постоянно улучшать ее результативность в соответствии с требованиями данного стандарта [1]. Система управления качеством позволяет не только поддерживать эффективность организации, производя-

шей продукт или услуги, но и учитывать интересы всех сторон, тем или иным образом участвующих в процессе деятельности этой организации. Службы контроля качества ведут активную деятельность во всех успешных предприятиях. Так, например, в легендарной компании «Ford Motor» существует мощная сертифицированная система менеджмента качества, основоположником которой был сам Генри Форд, создавший одну из концепций управления качеством. Очевидно, что активная работа службы контроля качества с первого дня существования позволила компании стать лидером автомобильной промышленности 20 века и до сих пор удерживать ведущие позиции в своей отрасли.

Биомедицинские исследования как клинические, так и экспериментальные (с применением животных) неизменно должны соответствовать целому ряду требований, выполнение которых непрерывно контролирует система обеспечения качества. Ведущие фармацевтические компании, такие как Pfizer, Bayer, Novartis и др. непрерывно осуществляют контроль качества биомедицинских исследований в соответствии с Хельсинской декларацией [2], GLP (Good Laboratory Practice) [3], Международными гармонизированными трехсторонними правилами GCP [4] и рядом других документов.

За последние десятилетия объемы биомедицинских исследований, в том числе с применением животных, увеличились в сотни раз. Принципы проведения исследований на животных – вопрос тонкий, зачастую вызывающий большое количество споров и критики. Не секрет, что одним из центральных принципов качества экспериментальных исследований является соблюдение этических принципов и концепции 3R (Refinement, Reduction, Replacement - усовершенствование, сокращение, замена) [5]. Оценкой соответствия условий содержания, про-

цесса проведения исследования и многими другими вопросами занимается служба контроля качества (СКК) биомедицинских исследований.

Что же такое «Служба контроля качества»? Что является целью деятельности этого подразделения, и какие функции оно выполняет в рамках организации, осуществляющей экспериментальные исследования с применением животных? Какими принципами руководствуется СКК для наиболее эффективной работы? Ответы на эти и некоторые другие вопросы мы постарались раскрыть в настоящей статье.

Согласно определению стандарта ИСО 9000:2005 [6] «система менеджмента качества — это система мероприятий руководства и управления организацией применительно к качеству». Система контроля качества (гарантия качества) в биомедицинских исследованиях является одним из основных положений надлежащей лабораторной практики (GLP) [3], в соответствии с которой должны проводиться все лабораторные исследования, в том числе с использованием животных.

Модель Всеобщего контроля качества (Total Quality Control) была предложена Армандом Фейгенбаумом в начале 50-х годов [7]. Фейгенбаум предложил рассматривать качество не как конечный результат производства изделия, а на каждом этапе его создания. Согласно данной концепции, модель Всеобщего контроля качества выглядела следующим образом (рисунок 1).

Созданная Фейгенбаумом система Всеобщего контроля качества была внедрена в практику работы японских предприятий Э. Демингом [8].

Основной целью системы менеджмента качества является соответствие результатов процессов компании потребностям потребителя, организации и общества.

Одной из основных задач СКК являет-

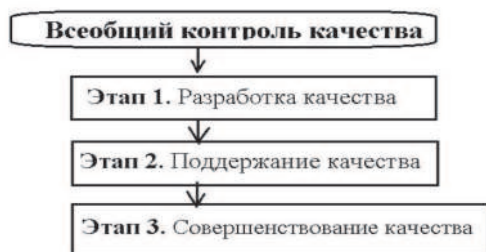


Рис. 1. Модель Всеобщего контроля качества

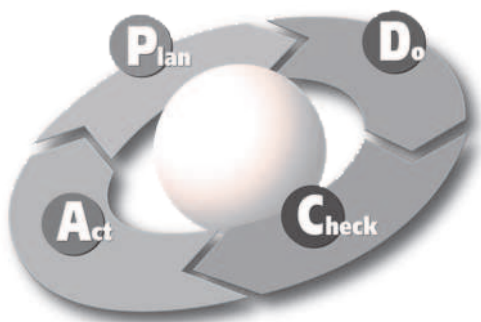


Рис. 2. Цикл Деминга

ся обеспечение качества путем использования цикла PDCA (Plan, Do, Check, Act - цикл Деминга), состоящего из: планирования, действия, анализа, корректировки (устранение причин несоответствия, а не просто коррекция полученных результатов) (рисунок 2).

Система менеджмента качества биомедицинских исследований возникла одновременно с возникновением самих биомедицинских исследований. Так как продуктом любой научно-исследовательской работы является научное знание, то соблюдение должных условий исследования является необходимым для достижения цели исследования. СКК в этом случае непрерывно осуществляет контроль, отбор и анализ экспериментального материала на всех этапах исследования. С увеличением объемов биомедицинских исследований возникла острая необходимость в стройном регламентирующем документе, обеспечивающем качество. С

этой целью в 1976 году была создана система Good Laboratory Practice (GLP), разработанная FDA (Food and Drug Administration), в 2008 году она была утверждена Всемирной Организацией Здравоохранения и с 1 марта 2010 года является утвержденным национальным стандартом РФ [9]. GLP определяет минимальные требования к обеспечению качества, необходимые для обеспечения валидности экспериментальных результатов. Согласно требованиям GLP в организации, осуществляющей биомедицинские исследования, контроль качества должен осуществляться отдельной группой квалифицированных лиц. Службы контроля качества активно функционируют при каждой исследовательской организации, работающей с животными и следующей принципам GLP и Законодательства РФ в области доклинических исследований.

Целью системы менеджмента качества биомедицинских исследований с применением животных также является соответствие результатов работы потребностям научного общества. Однако задачи и функции службы контроля качества в научно-исследовательских организациях, работающих с животными, гораздо более объемные и многогранные, нежели в любой другой отрасли.

Как и в любой другой организации, система менеджмента качества в центрах доклинических исследований осуществляет входной, текущий и итоговый контроль качества.

Контроль качества в научно-исследовательских центрах, работающих с лабораторными животными, осуществляется согласно принципам, изложенным в следующих документах:

Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н "Об утверждении Правил лабораторной практики" [9];

Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009

«Принципы надлежащей лабораторной практики» [10];

Приказ министерства здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» [11];

ГОСТ Р 50258-92 - Комбикорма полнорационные для лабораторных животных [12];

Guide for the care and use of laboratory animals 8th edition 2010 [13];

Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) от 6 апреля 1973 г. N 1045-73 [14];

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes [15].

Входной контроль качества начинается с комплексной оценки плана исследования. Одной из функций СКК на этапе входного контроля является детальное изучение плана исследования на предмет его соответствия этическим принципам обращения с животными, концепции 3R и требованиям, обеспечивающим достижение главной цели исследования. В случае соответствия плана исследования всем обозначенным выше требованиям, СКК одобряет дизайн. Существуют ситуации, когда СКК обязана отклонить план исследования или потребовать его пересмотра и доработки. Например, при исследовании острой токсичности препарата выбран дизайн, предполагающий большое количество исследуемых доз и животных. В этом случае при наличии достоверных данных о низкой токсичности препарата, следует сократить количество исследуемых групп за счет уменьшения числа животных в группе и грамотного выбора доз. Другой пример можно привести из раздела исследований эффек-

тивности препарата: для определения активности препарата пептидной структуры выбрана модель сахарного диабета 2 типа с длительным внутрижелудочным введением. В этом случае СК обязана отклонить дизайн исследования из-за неправильно выбранного пути введения препарата, так как вещества пептидной структуры разрушаются ферментами пищеварительного тракта, и в итоге за счет крайне низкой биодоступности эффективность препарата установить не удастся. Таким образом, роль СК на этапе планирования исследования крайне важна, так как эффективный контроль дизайна позволит сократить количество животных, участвующих в исследовании, уменьшить болезненные процедуры и получить выводы, соответствующие цели исследования. Работа СКК на этапе планирования исследования тесно сопряжена с деятельностью Биоэтической комиссии (Этического комитета), которая создается при каждой научно-исследовательской организации для контроля соблюдения этических принципов обращения с животными. СКК совместно с Биоэтической комиссией (БЭК) проводит оценку соответствия плана исследования принципам гуманного обращения с животными. В случае наличия в плане болезненных процедур СКК и БЭК обеспечивают контроль выбора оптимальных методов анестезии или отклоняют план из-за несоответствия этическим нормам.

Следующим важнейшим этапом входного контроля СК является оценка состояния систем жизнеобеспечения животных. Здоровье животных напрямую зависит от соблюдения оптимальных условий жизнеобеспечения, которые строго регламентируются требованиями Приказа Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н "Об утверждении Правил лабораторной практики" [9], стандартами GLP, а также Директивой ЕС 2010/63/EU. Как

уже указывалось в одной из наших статей, на сегодняшний день в России отсутствует постоянно обновляющаяся законодательная база, регламентирующая правила доклинических исследований [16]. Также в России пока не проводится сертификация исследовательских организаций, выполняющих доклинические исследования. В настоящее время экспериментальные исследования и контроль качества их выполнения проводится в соответствии с обозначенным выше Приказом, частично отражающим правила GLP.

В Европе функционируют масштабные организации, регламентирующие работу с лабораторными животными и осуществляющие сертификацию научно-исследовательских учреждений – FELASA (Federation of Laboratory Animal Science Associations), AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care), и некоторые другие и существуют четкие нормативные документы, согласно которым осуществляется как выполнение, так и контроль качества исследований - Guide for the care and use of laboratory animals 8th edition 2010 [13], Directive 2010/63/EU [15] и др.

Одним из ключевых документов, четко и подробно описывающих условия содержания животных, правила планирования и проведения доклинических исследований, является Директива ЕС по охране животных, используемых в научных целях. В 2012 году рабочей группой НП «Объединение специалистов по работе с лабораторными животными» (RusLASA – Russian Laboratory Animal Science Association) [17] Директива была переведена и адаптирована на русский язык. Документ подробно описывает условия содержания, кормления лабораторных животных, методы поддержания их здоровья, способы уменьшения боли и страданий и другие важнейшие аспекты экспериментальных исследований.

В виду отсутствия в России обновляющейся документальной базы, регламентирующей обращение с лабораторными животными, Службы качества ведущих научно-исследовательских организаций придерживаются принципов, принятых не только в России, но и в большинстве стран мира. В большей степени эти принципы изложены в Директиве ЕС. На входном этапе контроля качества проводится оценка площадей, на которых проводятся исследования, контролируется достаточность площади на каждое животное, вентиляция, температура, влажность, освещенность и другие параметры, влияющие на состояние животных. В случае несоответствия условий принципам, СКК до начала исследования обеспечивает устранение неполадок, и оснащение необходимым оборудованием, после чего проводит повторный контроль качества.

Качество и достаточность корма и воды для животных также обеспечивает и контролирует СКК совместно с ветеринарной службой. Базовый рацион питания для экспериментальных животных регламентируется ГОСТ Р 50258-92. В рацион для поддержания оптимального состояния и здоровья животных добавляются дополнительные компоненты, такие как сено, зерновые смеси, витаминные добавки, сезонные фрукты и овощи. Очень часто от сбалансированности пищевого рациона животных напрямую зависит их благосостояние, здоровье и иммунитет.

На этапе входного и текущего контроля СКК тесно взаимодействует с ветеринарной службой исследовательской организации. Ветеринарная служба обеспечивает потребности животных, тщательно отслеживает состояние их здоровья. Ветеринарная служба также осуществляет закупку животных из стороннего питомника или получение здорового потомства из собственного питомника. На этом этапе СКК также осуществляет контроль. Проводится проверка соответствия вида,

возраста, пола животных плану исследования, отслеживаются условия транспортировки, размещения и адаптации животных, совместно с ветеринарами контролируется состояние здоровья животных, длительность адаптации и обеспечиваются все необходимые мероприятия оздоровления животных до начала исследования. Эти мероприятия включают лечение и профилактику животных от возможных экто и эндопаразитов и инфекционных заболеваний, тренинг животных перед началом манипуляций и многое другое. СКК также контролирует наличие документов, регистрирующих здоровье и эпидемиологическую безопасность животных, рожденных в собственном питомнике или полученных из стороннего питомника (ветеринарное свидетельство, паспорт здоровья, акт о рождении и др.).

Параллельно с обеспечением здоровья и благосостояния животных и качества систем их жизнеобеспечения на входном этапе контроля качества СКК отвечает за обеспечение исследования необходимыми материалами, реагентами и оборудованием в соответствии с планом исследования. СКК отслеживает поступление исследуемых веществ с надлежащими сопроводительными документами паспорт безопасности (MSDS – Material Safety Data Sheet), аналитический паспорт и др.

Процедуры исследования и сопутствующие документы регламентируются стандартными операционными процедурами (СОП).

СОП (standard operating procedures; SOPs) - подробные письменные инструкции, содержащие описание процессов проведения испытаний или другой деятельности, как правило, не представленной детально в планах исследования или руководствах по проведению испытаний, и предназначенные для достижения единообразия при осуществлении определенной деятельности. СОП должна содержать краткую, понятную, подробную ин-

формацию, позволяющую обучить сотрудника качественному выполнению процедуры. Новые сотрудники должны проходить обучение СОП. Знание СОП позволяет сотрудникам самостоятельно проводить необходимые процедуры без непосредственного участия руководителя исследования [18]. Согласно международному стандарту качества ISO 9001 СОП составляются на все выполняемые процедуры в организации [1].

СКК обеспечивает организацию всеми необходимыми СОП, после чего осуществляет обучение сотрудников правильному выполнению процедур, описанных в СОП, и контроль за верностью их исполнения. В рамках работы с животными деятельность СКК в этом направлении крайне важна и сопряжена с большим количеством тонкостей. Для написания СОП необходимо не только владение основными навыками обращения с животными, но и знание параметров их жизнедеятельности, а также умелое обращение со всеми нормативными как отечественными, так и зарубежными документами по работе с экспериментальными животными. При обучении сотрудников специалистам СК также приходится проявлять индивидуальный подход, выдержку и педагогический профессионализм, так как работа с животными кардинально отличается от работы с автоматизированными системами управления и неживыми продуктами. Человеческий фактор, также как и эмоционально-ориентированная активность животных играют огромную роль в организации экспериментальных исследований. В связи с этим, взаимодействие сотрудников СКК с персоналом по работе с животными крайне важно и требует высочайшего умственного и эмоционального напряжения.

После того как все необходимые условия соблюдены, получены необходимые материалы, подготовлен календарный план, СКК разрешает начало исследова-

ния.

В течение всего исследования СКК осуществляет периодический контроль условий жизнеобеспечения животных, их здоровья и эпидемической безопасности. Контролируется правильность выполнения всех манипуляций согласно СОП и соответствие выполняемых процедур плану исследования, а также гуманность обращения с животными. В случае выявления несоответствия СКК вправе остановить эксперимент.

Итоговый контроль качества проводится СКК после завершения исследования и подготовки отчета. На этом этапе СК проверяет правильность оформления отчета о научно-исследовательской работе, грамотность статистического анализа и оформление сопроводительной первичной документации. Деятельность СКК на итоговом этапе позволяет проанализировать возможные ошибки в работе организации или отдельных сотрудников, а также определить достигнута ли цель исследования в результате проведенного эксперимента.

На этапе согласования результатов работы с организацией-Заказчиком СКК анализирует замечания и пожелания заказчика. Полученные данные используются для совершенствования структуры и деятельности научно-исследовательской организации.

Контролю со стороны СКК подвергается также архив. Периодически в нем проверяют: фактическое наличие единиц, находящихся на хранении, выявляют и устраняют недостатки в учете, выявляют и учитывают единицы хранения, требующие реставрации, консервации, профилактической и технической обработки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Служба контроля качества – неотъемлемая часть любой организации, являющаяся ее «ядром» и стимулирующая динамичное развитие и совершенствование. В рамках научно-исследовательской орга-

низации, осуществляющей работу с экспериментальными животными, работа СК имеет наиболее широкий функционал, так как продуктом деятельности научной организации является интеллектуальная собственность, а объектом контроля являются не только люди и документы, но и прежде всего животные.

Целью СК в условиях биомедицинских исследований с применением животных является не только соответствие результатов работы потребностям научного общества и целям исследователей, но и прежде всего обеспечение качества экспериментальных исследований. Качество экспериментальных исследований складывается из грамотного планирования, высокой квалификации персонала и конечно из эффективного поддержания здоровья и жизнедеятельности животных.

Функции СК состоят в непрерывном обеспечении всех подразделений их сотрудников необходимой информацией и материалами, контроле правильности планирования и выполнения всех процедур для достижения цели исследования, быстром и эффективном принятии решений об устранении неполадок в работе. СК выполняет свои функции на этапах входного (до начала исследования), текущего (весь период эксперимента) и итогового (по окончании исследования и до завершения анализа проведенной работы в рамках данного эксперимента) контроля.

Для наиболее эффективной работы СК руководствуется принципами, изложенными в документах, регламентирующих правила обращения с животными и надлежащей лабораторной практики, а также внутренними административными документами, составленными с учетом специфики деятельности конкретной организации. Особую важность в работе СК представляет также разработка стандартных планов исследования (Current Protocols), СОП, позволяющих стандартизировать

работу организации, а также взаимодействие СК с БЭК и ветеринарной службой.

На сегодняшний день существует перечень отечественных документов, рекомендованных для использования СК с целью обеспечения и контроля качества экспериментальных исследований (изложенные выше документы [9, 10, 11, 12, 14]).

Однако существующие документы не обновляются и лишь частично отражают необходимые требования к работе с животными и обеспечению качества биомедицинских исследований. В связи с этим, в работе СК целесообразно дополнительно использовать регламентирующие документы, принятые в ЕС:

Guide for the care and use of laboratory animals 8th edition 2010

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. 2010.

Таким образом, Соблюдение принципов работы СКК биомедицинских исследований с участием животных, непрерывное взаимодействие всех служб организации, разработка внутреннего плана контроля качества и собственных регламентирующих документов является исключительно важным как для обеспечения качества и достижения целей исследований, так и для гармонизации интересов и потребностей научного и ветеринарного общества всего мира.

Principles of the quality management system in biomedical experiments on animals.

A. Selezneva, M. Makarova, S. Khodko, A. Shikov.

ABSTARCT

Quality management system (QMS) should be introduced in all institutions involved in the biomedical experiments on animals. Approved QMS and document circulation system is a key factor in ensuring

high-quality study. Service quality management (quality control service, quality assurance, QA) - the most important administrative unit of any organization. Functions of the quality assurance (QA) staff are extremely broad and specific. QA persons continuously monitors all study steps. The staffs of QA take care of incoming inspection of all documents, in process control, analysis and approval of final study report, inspection of archive.

Thus, coordinated teamwork of all scientists and QA ensure high quality results of biomedical studies.

Key words: ethics, animal experiment laboratory practice.

ЛИТЕРАТУРА

1. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 9001 – 2008 Системы менеджмента качества. Требования. ISO 9001:2008 Quality management systems — Requirement (IDT) М.: Стандартинформ, 2008.

2. Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации. Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования. Принята на 18-й Генеральной ассамблее Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association – WMA), Хельсинки, Финляндия, июнь 1964 г., с изменениями и дополнениями внесенными на 59-й Генеральной ассамблее WMA, Сеул, Южная Корея, октябрь 2008 г.

3. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data Handbook: good laboratory practice (GLP): quality practices for regulated non-clinical research and development - 2nd ed. World Health Organization on behalf of the Special Program for Research and Training in Tropical Diseases 2009.

4. Switula D. Principles of good clinical practice (GCP) in clinical research// Science and Engineering Ethics 2000, Volume 6, Issue 1. P. 71-77

5. Russell W.M.S., Burch R.L. The Princi-

- ples of Humane Experimental Technique. Methuen. 1959. London.
6. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ ISO 9000-2011. Межгосударственный стандарт. Системы менеджмента качества. Основные положения и словарь (ISO 9000:2005, IDT) Quality management systems. Fundamentals and vocabulary (введен в действие с 1 января 2013 года Приказом Росстандарта от 22.12.2011 N 1575-ст) М.: Стандартинформ, 2012.
7. Feigenbaum A.V. Quality and Productivity // Quality Progress. - 1977. - Nov. - P. 18-21.
8. Нив Г.Р. Пространство доктора Деминга. Принципы построения устойчивого бизнеса / М.: Альпина Бизнес Букс, 2005
9. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н "Об утверждении Правил лабораторной практики".
10. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».
11. Приказ Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 "О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных".
12. Государственный стандарт Ростехрегулирования от 01 января 1994 года № ГОСТ Р 50258-92 «Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия». М.: Издательство стандартов, 1992.
13. Guide for the care and use of laboratory animals 8th edition 2010. Copyright 2011 by the National Academy of Sciences. All rights reserved.
14. Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально - биологических клиник (вивариев) от 6 апреля 1973 г. N 1045-73. - МЗ СССР. - Москва, 1973 г.
15. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. 2010.
16. Селезнева А.И., Макарова М.Н. Этические принципы обращения с животными в России // Международный вестник ветеринарии. -2014. № 4, С. 69-77.
17. Официальный перевод Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes на сайте НП «Объединение специалистов по работе с лабораторными животными» (Rus-LASA). Электронный ресурс: <http://ruslasa.ru/info/reglamentnyie-dokumenty>
18. Anderson C.. How To Write Standard Operating Procedures. Bizmanualz, 2012.

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛКОГОЛЬНОЙ НЕЙРОПАТИИ У КРЫС

Шекунова Е.В. ^{1,2} - к.б.н., Кашкин В.А. ^{1,2} - к.м.н.,

¹ – Санкт-Петербургский Институт Фармации, ² - Институт фармакологии им.
А.В.Вальдмана ПСПГМУ им. акад. И.П. Павлова.



РЕФЕРАТ

Целью данного исследования была адаптация модели развития алкогольной нейропатии у самок и самцов крыс линии Вистар. Использование метода форсированного питья этанола в нарастающих концентрациях (от 7,47% (w/w) до 26,2% (w/w)) в течение 8 недель привело к развитию аллодинии, которая отражает развитие нейропатии. При этом наблюдались существенные межполовые различия. Значительная аллодиния фиксировалась у самцов крыс к 8-ой неделе потребления этанола, у циклирующих самок значимого развития аллодинии зарегистрировано не было. В то же время в группе овриэктомизированных самок наблюдалось значимое развитие аллодинии. Полученные результаты говорят о важности такого фактора, как гормональный статус, в развитии алкогольной нейропатии, что необходимо учитывать при тестировании с использованием данной модели препаратов, потенциально обладающих нейропротекторными и анальгетическими свойствами.

Ключевые слова: алкоголь, нейропатия, тактильная аллодиния, половые различия, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Алкогольная нейропатия – это алкогольное поражение периферического отдела нервной системы, являющееся наиболее частым осложнением острой и хронической алкогольной интоксикации. Алкогольная нейропатия имеет симптомы, схожие с другими формами повреждения нервов: покалывание, онемения конечностей, озноб, нарушение координации, и так далее. Все это может сопровождаться хроническими болями, типичными для периферической нейропатии. В последние десятилетия в индустриально развитых странах наметилась тенденция к увеличению потребления алкоголя женщинами, и, как следствие, к увеличению частоты встречаемости среди женщин осложнений (в том числе и развитием нейропатии), связанных с хроническим

потреблением алкоголя (Gomberg, 1993).

По всей вероятности в развитии алкогольной нейропатии, основное значение имеет прямой нейротоксический эффект этанола и его метаболитов (Koike et al., 2003, Claus et al., 1985; Monforte, Estruch et al., 1995). Однако данные, полученные в последние годы, показали, что в развитии патологии могут принимать участие такие индуцирующие нейродегенеративные процессы факторы как оксидативный стресс, инсулиновая резистентность (Bosch-Morell et al., 1998; De la Monte et al., 2005, Cohen et al., 2007; De la Monte et al., 2008; De la Monte et al., 2009; Nguyen et al., 2012). Предполагается, что в результате алкогольной интоксикации нарушается баланс между прооксидантами и антиоксидантами до такой степени, что в результате окисления повреждаются био-

молекулы, в том числе жиры, белки, ДНК, что, в конечном счете, ведет к повреждению клеток и развитию нейропатии (Chopra, Tiwari, 2011). На фоне хронического потребления алкоголя при оксидативном стрессе происходит высвобождение цитокинов - медиаторов воспаления, и активация протеин киназы C (Dina et al., 2007). Также в развитии алкогольной нейропатии показана роль активации глутаматных mGlu5 рецепторов спинного мозга (Miyoshi et al., 2007), опиоидергической системы и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (Gianoulakis et al., 2003; Thayer et al., 2006). Немаловажным в развитии алкогольной нейропатии является и влияние половых гормонов. Показано наличие половых различий в развитии экспериментальной алкогольной нейропатии у крыс (Dina et al., 2007). Важную роль в наблюдаемых половых различиях может играть женский половой гормон эстроген, который обладает модулирующим действием на ноцицептивную систему (Craft et al., 2004). Эстрогеновые рецепторы присутствуют и в спинальных ганглиях (Shughrue et al., 1997), что создает морфологическую базу для непосредственного влияния эстрогенов на процесс развития периферической алкогольной нейропатии. Кроме того, эстроген обладает нейропротективным действием, которое уменьшает нейротоксическое действие этанола (Jung et al., 2005, Rewal et al., 2005), что также может быть причиной различной чувствительности самцов и самок к нейротоксическому действию этанола.

В данном исследовании было изучено развитие алкогольной нейропатии у самцов и самок (циклирующих и овариэктомированных) крыс. С этой целью была проведена адаптация одной из существующих на сегодняшний день моделей развития алкогольной нейропатии. Полученные результаты могут служить основой для исследований лекарственных пре-

паратов с нейропротективным и анальгетическими свойствами с дальнейшей оптимизацией терапии с учетом межполовых различий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на самках и самцах крыс линии Вистар массой 200-250 г (питомник «Рапполово», Россия). Животных содержали в условиях 24-х часового фоторежима (12 ч день:12 ч ночь, включение света в 8:00), контролируемой температуры ($22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) и влажности ($65\%\pm 10\%$) воздуха при свободном доступе к очищенной воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм). За неделю до начала эксперимента животные были рассажены в клетки индивидуального содержания.

Индукция алкогольной нейропатии

Животные подвергались процедуре форсированного потребления алкоголя. Ежедневно концентрация этанола повышалась в следующем порядке: 7,47% (w/w), 12,68% (w/w), 17,03% (w/w), 21,6% (w/w), 26,2% (w/w). Далее до окончания эксперимента животные получали этанол в концентрации 26,2% (w/w). Ежедневно животные получали доступ к питьевой воде на 1 ч. На период отмены алкоголя животные получали воду в течение суток без ограничений. Доступ к корму не ограничивался. Ежедневно проводилось взвешивание животных и регистрация количества потребленного алкоголя (путем взвешивания бутылок с этанолом).

Для изучения влияния отмены алкоголя на выраженность нейропатии у самцов и самок крыс в течение 1 недели животные получали только воду.

Овариэктомия

Операция по удалению яичников у самок крыс проводилась, как было описано ранее (Shekunova и Bepalov, 2006), с применением ингаляционной анестезии (фторотан).

Поведенческая оценка развития алкогольной нейропатии

Еженедельно проводилась оценка развития тактильной аллодинии с использованием калиброванных микрофиламентов фон Фрея (Stoelting, США) по методике Чапман («up-down method») (Chaplan, Bach et al., 1994). Животные высаживались в специальные боксы, где адаптировались к условиям эксперимента в течение 10-15 минут. Затем к каждой лапе животного последовательно прикладывались микрофиламенты различного диаметра. Психофизиологический среднеэффективный порог тактильной реактивности рассчитывали по методу, описанному Диксоном (Dixon, 1980). На фоне отмены этанола оценка аллодинии проводилась ежедневно.

Статистическая обработка.

Для анализа данных использовался

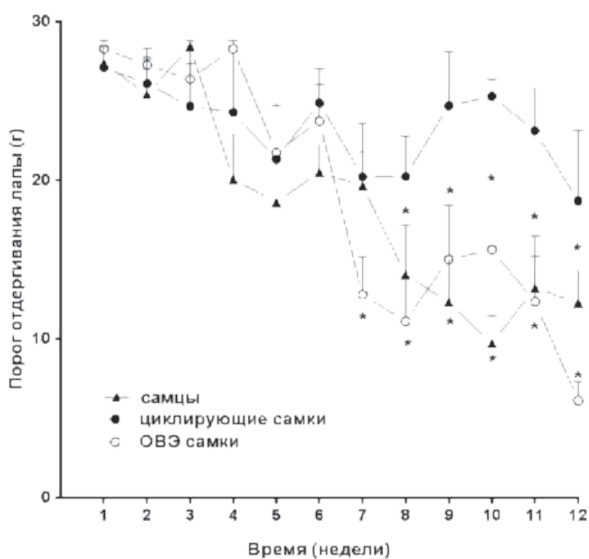


Рис. 1. Развитие аллодинии на фоне форсированного потребления этанола у самцов (n=8) и самок (циклирующих (n=5) и овариэктомированных (n=6)) крыс.

Развитие аллодинии оценивали с помощью калиброванных микрофиламентов фон Фрея. Данные представлены в виде средних значений порога отдергивания задних лап ($M \pm t$). Измерения проводились еженедельно. * - $p < 0,05$, значимые отличия от показателей, полученных в первую неделю эксперимента у данной группы животных.

двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с повторными измерениями, в случае обнаружения достоверного влияния исследуемого фактора последующие межгрупповые сравнения были проведены с использованием критерия Бонферрони. Различия были определены при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ выполнялся с помощью программного обеспечения SPSS v16 (IBM Corp., US).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Взвешивание животных и бутылок с этанолом проводилось еженедельно. Потребление алкоголя в максимальной концентрации в среднем составило $8,14 \pm 0,52$ г/кг/день. Различий в потреблении этанола между всеми экспериментальными группами выявлено не было.

Половые различия в развитии аллодинии у крыс

На рисунке 1 представлены данные о развитии аллодинии при сравнительном изучении алкогольной нейропатии у самцов и самок (циклирующих и овариэктомированных) крыс. При проведении дисперсионного анализа с повторными измерениями взаимодействие факторов «группа животных» и «неделя тестирования» было достоверным ($F_{22,176} = 2,76$, $p < 0,01$), при этом влияние фактора «группа животных» было близко к достоверному - $F_{2,16} = 3,5$, $p = 0,055$. Последующие межгрупповые сравнения показали, что у циклирующих самок крыс аллодиния, вызванная хроническим потреблением алкоголя, была выражена в меньшей степени, чем у самцов и овариэктомированных крыс (рисунок 1). При этом потребляемое количество алкоголя в перчете на кг массы тела не различалось (дисперсионный

анализ с повторными измерениями, фактор «группа животных» - $F_{2,16}=1,69$, $p=0,22$).

Для изучения выраженности нейропатии при абстинентном алкогольной синдроме животные в течение 1 недели получали только воду. На фоне отмены алкоголя, также как и при развитии аллодинии при форсированном потреблении, у циклирующих крыс признаки развития алкогольной нейропатии были выражены в меньшей степени (рисунок 2). Дисперсионный анализ с повторными измерениями показал значимость фактора «гормональный статус» ($F_{1,20}=45,26$, $p<0,0001$). Последующие межгрупповые сравнения (*post hoc*) подтвердили статистически значимое отличие между группами ($p<0,001$; Тест Бонферрони).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов можно говорить об успешной разработке простого протокола, который позволяет моделировать развитие алкогольной нейропатии у самцов и самок крыс в течение 2-3-х месяцев. Данная методика позволяет изучать терапевтическую активность фармакологических агентов на стадии развития патологического процесса и изучать эффективность препаратов в лечении уже развившейся патологии.

В течение алкоголизации крысы потребляли около 8 г/кг этанола в день. В данном исследовании признаки алкогольной нейропатии (аллодиния) фиксировались уже на 7-й неделе потребления алкоголя у овариэктомированных самок и с 8-ой недели – у самцов. Полученные результаты согласуются с литературными данными, где аллодиния и гипералгезия у самцов крыс фиксировались на 8-й неделе от начала потребления алкоголя (Tiwari et al., 2009). Важно отметить, что у циклирующих самок тактильная чувствительность не менялась достоверно по отношению к исходному уровню на протяжении всего наблюдения.

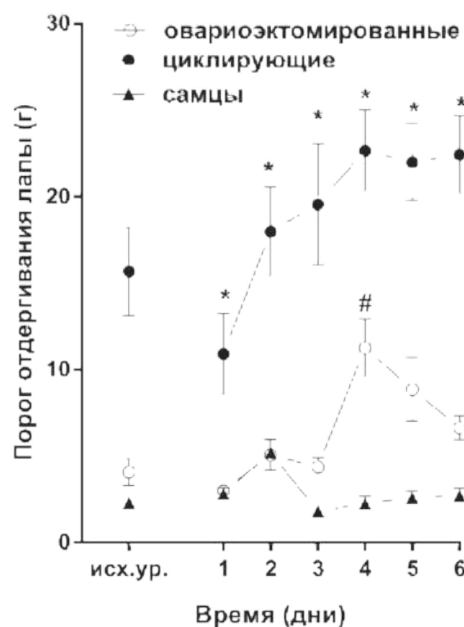


Рисунок 2 – Аллодиния после отмены этанола у самок и самцов крыс. Черные треугольники – самцы ($n=8$), черные кружки - самки циклирующие ($n=5$), белые - самки овариэктомированные ($n=6$). Развитие аллодинии оценивали с помощью калиброванных микрофиламентов фон Фрея. Данные представлены в виде средних значений порога отдергивания задних лап ($M \pm t$). По оси абсцисс - дни после отмены алкоголя (животные получали только воду); * - $p<0,05$, значимые отличия между овариэктомированными и циклирующими самками в данный день эксперимента (тест Бонферрони); # - $p<0,05$, значимые отличия между исходным уровнем и днем отмены (тест Бонферрони).

После отмены этанола аллодиния продолжает присутствовать в течение, как минимум, одной недели, как у самцов, так и у овариэктомированных самок. У циклирующих самок достоверных изменений порогов отдергивания лап на фоне отмены этанола обнаружено не было.

Таким образом, как на фоне потребления этанола, так и при отмене алкоголя у циклирующих крыс признаки развития алкогольной нейропатии были выражены

в меньшей степени по сравнению с овариэктомизированными самками и с самцами. Хотя имеющиеся литературные данные (Dina et al., 2007) свидетельствуют о том, что алкогольная нейропатия в большей степени развивается у циклирующих самок по сравнению с овариэктомизированными, расхождения с полученными нами данными могут быть обусловлены рядом факторов: различные линии крыс (линия Вистар (*Wistar*) в данном исследовании и линия Спрег-Доули (*Sprague-Dawley*) в исследовании Dina O.), а также другая методика измерения болевых порогов. Однако наибольшее значение может иметь возраст крыс, в котором была проведена операция по овариэктомии. Так в нашем исследовании самки были овариэктомизированы в возрасте 3-х месяцев, в то время как в работе Dina O.A яичники были удалены у самок до достижения половозрелости (в возрасте 21 день).

Полученные данные о половых различиях в процессе развития алкогольной нейропатии у крыс линии Вистар (более сильная выраженность патологии у овариэктомизированных крыс по сравнению с циклирующими самками) позволяет сделать предположение о возможном нейропротективном действии женских половых гормонов на периферические нейродегенеративные процессы, ведущие к развитию алкогольной нейропатии. На сегодняшний день накоплено большое количество данных о нейропротективной роли эстрогенов. Показано, что эстроген обладает нейропротекторным действием, уменьшая нейротоксический эффект этанола (Jung et al., 2005, Rewal et al., 2005).

Таким образом, использованный методический подход позволяет моделировать развитие алкогольной нейропатии у самцов крыс линии Вистар. Однако у циклирующих интактных самок, хронически потребляющих этанол в том же режиме, что и самцы, развития аллодинии зафиксировать не удалось. Полученные данные

говорят о существовании половых различий в поведенческих проявлениях моделируемой патологии. Овариэктомия, приводящая к снижению уровня половых стероидов, индуцировала развитие поведенческих проявлений нейропатии у овариэктомизированных самок крыс. Причем выраженность аллодинии у овариэктомизированных самок была сопоставима с таковой, наблюдаемой у самцов. Полученные результаты говорят о важности такого фактора, как гормональный статус, в развитии алкогольной нейропатии, что необходимо учитывать при тестировании с использованием данной модели препаратов, потенциально обладающих нейропротекторными и анальгетическими свойствами. Представляется перспективным дальнейшее изучение механизмов, лежащих в основе наблюдаемых половых различий в развитии нейропатии, что может способствовать, в дальнейшем, оптимизации терапии алкогольной нейропатии.

Sex different of experimental alcohol neuropathy in rats.

E. Shekunova, V. Kashkin.

ABSTRACT

The aim of this study was to adjust one of the existing model of - alcoholic neuropathy development using force alcohol consumption schedule in male and female Wistar rats. As a result, it was shown that by 8 weeks in chronic consumption of ethanol (26,2% (w/w)) resulted in development of signs of neuropathy, which appeared in the presence of allodinia. There were significant sex differences in allodinia development. Significant allodinia was observed in male rats following 8 weeks of ethanol consumption. In contrast, there were no observed signs of allodinia in cycling females. Depletion of sex hormones by ovariectomy resulted in allodinia development in ovariectomised female rats. Results obtained here underlines role of sex hormones in the process of neuropathy development.

Key words: alcohol, neuropathy, tactile

allodynia, sex different, rat.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bosch-Morell F., Martinez-Soriano F., Colell A., Fernandez-Checa J.C., Romero F.J. Chronic ethanol feeding induces cellular antioxidants decrease and oxidative stress in rat peripheral nerves: effect of *s*-adenosyl-l-methionine and *n*-acetyl-l-cysteine. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 365–68.
2. Chaplan S.R., Bach F.W., Pogre I.J.W., Chung J.M., Yaksh T.L., 1994. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J. Neurosci. Methods* 53, 55-63.
3. Cohen A.C., Tong M., Wands J.R., de la Monte S.M. Insulin and insulin-like growth factor resistance with neurodegeneration in an adult chronic ethanol exposure model. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2007, 31, 1558–1573.
4. Craft R.M., Mogil J.S., Aloisi A.M. Sex differences in pain and analgesia: the role of gonadal hormones. *Eur.J.Pain.* 2004. 8:397-411.
5. De la Monte S.M., Longato L., Tong M., DeNucci S., Wands, J.R. The liver-brain axis of alcohol-mediated neurodegeneration: role of toxic lipids. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2009, 6, 2055–2075.
6. De la Monte S.M., Wands J.R. Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling, and malfunction in the central nervous system: Relevance to Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2005, 7, 45–61.
7. De la Monte S.M., Yeon J.E., Tong M.; Longato L., Chaudhry R., Pang, M.Y., Duan K., Wands J.R. Insulin resistance in experimental alcohol-induced liver disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2008, 23, e477–e486.
8. Dina O.A., Gear R.W., Messing R.O., Levine J.D. Severity of alcohol-induced painful peripheral neuropathy in female rats: role of estrogen and protein kinase (A and C epsilon). *Neuroscience* 2007; 145: 350–6.
9. Dixon W.J., 1980. Efficient analysis of experimental observations. *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* 20, 441-462.
10. Gianoulakis C., Dai X., Brown T. Effect of chronic alcohol consumption on the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and pituitary beta-endorphin as a function of alcohol intake, age, and gender. *Alcohol Clin Exp Res* 2003; 27: 410–23.
11. Gomberg E.S. Women and alcohol: use and abuse. *J Nerve Ment Dis* 1993; 181: 211-219.
12. Jung M.E., Gatch M.B., Simpkins J.W. Estrogen neuroprotection against the neurotoxic effects of ethanol withdrawal: potential mechanisms. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005;230:8–22.
13. Miyoshi K., Narita M., Takatsu M., Suzuki T. mGlu5 receptor and protein kinase C implicated in the development and induction of neuropathic pain following chronic ethanol consumption. *Eur J Pharmacol* 2007; 562: 208–11.
14. Monforte R., Estruch R., Valls-Sole J., Nicolas J., Villalta J., Urbano-Marquez A., 1995. Autonomic and peripheral neuropathies in patients with chronic alcoholism. A dose-related toxic effect of alcohol. *Arch.Neurol.* 52, 45-51.
15. Nguyen V.A., Le T., Tong M., Mellion M., Gilchrist J., de la Monte S.M., 2012. Experimental alcohol-related peripheral neuropathy: role of insulin/IGF resistance. *Nutrients.* 4, 1042-1057.
16. Rewal M., Wen Y., Wilson A., Simpkins J.W., Jung M.E. Role of parvalbumin in estrogen protection from ethanol withdrawal syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:1837–1844.
17. Shekunova E.V., Bepalov A.Y., 2006. Effects of memantine on estrogen-dependent acute tolerance to the morphine analgesia in female rats. *Eur.J.Pharmacol.* 535, 78-85.
18. Shughrue P.J.; Lane M.V.; Merchenthaler I. Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 1997; 388:507-525.
19. Thayer J.F., Hall M., Sollers J.J. 3rd, Fischer JE. Alcohol use, urinary cortisol, and

heart rate variability in apparently healthy men: evidence for impaired inhibitory control of the HPA axis in heavy drinkers. *Int J Psychophysiol* 2006; 59:244–50.

20. Tiwari V., Kuhad A., Chopra K. Tocotrienol ameliorates behavioral and biochemical alterations in the rat model of alcoholic neuropathy. *Pain*. 2009. 145:129-35.

УДК 616-093

ВЛИЯНИЕ ФИКСИРУЮЩИХ ЖИДКОСТЕЙ НА МИКРОСКОПИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ ОРГАНОВ МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Гущин Я.А – м.н.с., Мужикян А.А.- м.н.с.,
Санкт-Петербургский Институт Фармации



РЕФЕРАТ

Один из важнейших этапов обработки гистологического материала является этап фиксации. Результат всего эксперимента может быть утерян при неправильном выборе или использовании фиксирующего раствора. Так же в ходе изучения гистологических срезов мы часто сталкиваемся с артефактами, возникающими в ходе обработки материала. В данном исследовании мы изучили влияние фиксирующих растворов (10% формалин, 95% этанол и Фиксатол) на микроструктуру тканей сердца, легкого, печени, почек и кишечника. В результате исследования были предложены рекомендации по применению выбранных фиксаторов для получения полноценных и достоверных гистологических данных в экспериментах на мелких лабораторных животных.

Ключевые слова: Гистологические исследования, фиксация, формалин, этанол, Фиксатол.

ВВЕДЕНИЕ

Важной частью гистологических исследований является необходимость сохранить органы и ткани для дальнейшего изучения их структуры. Для достижения этих целей служит фиксация материала. Цель фиксации – убить клетку и одновременно сохранить ее, насколько это возможно, в том состоянии, в каком она находилась при жизни [1]. Несмотря на разнообразие способов изучения микроструктуры объектов, таких как витальные окраски, исследование в темном поле, флуоресцентная микроскопия и многие другие, фиксированные препараты все равно остаются основными объектами исследования.

Существует несколько вариантов фиксации – замораживание, высушивание и

химическая фиксация, которая наиболее распространена и достигается погружением органов и тканей в жидкий фиксатор. В настоящий момент известно несколько десятков фиксирующих жидкостей, которые можно разделить на «простые» (формалин, спирты, ацетон, сулема) и «сложные». Составными частями сложных фиксаторов являются простые, наиболее часто используют спирт-формол, жидкость Ценкера, фиксатор Корнуа, смесь Буэна, смесь Шаффера и другие. Стоит заметить, что нет какого-то одного универсального фиксирующего раствора – каждый из них имеет как свои преимущества, так и свои недостатки, и зачастую используется под конкретные задачи. Такое разнообразие фиксаторов только доказывает важность одного из

первых этапов гистологической обработки материала, поскольку плохая или неправильная фиксация сказывается на дальнейшей проводке, окраске и, конечно, результате исследования. Так же возникают трудности дифференциальной диагностики патологических процессов, в связи, с чем необходимо использовать дополнительные методы окраски, зачастую невозможные при тех или иных способах фиксации.

Поскольку в ходе исследований не всегда получается полноценно оценить микроскопическую структуру в связи с возникающими в процессе гистологической обработки артефактами, нашей задачей было сравнить влияние наиболее распространенных фиксирующих жидкостей – 10% формалин, 95% этанол и фиксирующего раствора Фиксатол (страна, производитель) на органы и ткани лабораторных животных. Для получения достоверной гистологической картины мы применили способ витальной или прижизненной фиксации органов 10% формалином, данная методика долгое время с успехом используется в экспериментальной гистологии [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на беспородных крысах – самцах из питомника «Рапполово». Масса животных составляла 250-300 г. Период акклиматизации – 14 дней. Животных кормили комбикормом ПК-120-1, приготовленный по ГОСТ Р 50258-92. Животные получали воду и корм *ad libitum*. Световой режим составляет 12 часов света и 12 часов темноты, температура и влажность соответствовали нормам для вивария.

Были сформированы две группы по 7 животных для витальной и постмортальной фиксации.

Для витальной фиксации в кровеносную систему был перфузирован 10% формалин. Это позволило получить наиболее достоверную гистологическую картину

органов и тканей. Перед проведением перфузии животные были наркотизированы внутримышечным введением смеси препаратов Zoletil 100 (2,6 мг/кг) с Ксилой (2,6 мг/кг). Данная комбинация обеспечивает нахождение животного в наркозе на всём протяжении эксперимента. Перфузию животного производили через систему кровообращения. Перед перфузированием наркотизированное животное было зафиксировано на спине, затем была выполнена торакотомия. Иглу, прикрепленную к инфузионной системе, вводили в левый желудочек, после чего начинали подачу физиологического раствора. В правом желудочке для быстрого замещения крови был сделан небольшой надрез. После промывки от крови, физиологический раствор заменяли раствором 10% формалина. Критерием для окончания инфузии являлись тремор мышц, «окостенение» животного и объем пропущенной перфузирующей жидкости, который должен был не меньше массы крысы. По достижению удовлетворительного результата производили эвсцирацию внутренних органов для дальнейшей консервации в 10% формалине.

Для постмортальной фиксации животные были подвергнуты эвтаназии с помощью CO₂-камеры. После наступления смерти, животное подвергали эвсцирации.

Для гистологического исследования были взяты: головной мозг, сердце, легкие, печень, почки, тонкая кишка. Указанные органы после извлечения были зафиксированы в 10% формалине, 95% спирте и Фиксатоле. Далее материал подвергался стандартной проводке [3] с последующим получением серийных парафиновых срезов толщиной 5-7 мкм. Для микроскопического исследования срезы были окрашены гематоксилином и эозином, срезы печени, фиксированные 95% этанолом были окрашены реактивом Шиффа по Мак-Манусу. Морфологиче-

ское исследование гистологических препаратов было проведено при помощи светоптического микроскопа Axio Scope.A1 Zeiss при увеличении микроскопа 100, 200, 400.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Печень

Ткань печени имела правильное строение, состояла из долек, образованных гепатоцитами, формирующими печеночные балки, радиально расположенные вокруг центральных вен. По периферии долек определялись печеночные триады, состоящие из междольковой артерии, вены и желчного протока. Гепатоциты имеют полигональную, слегка сглаженную форму со светлыми крупными ядрами округлой формы (рис. 1,2).

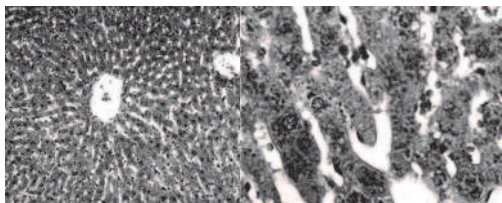


Рис. 1, 2. Срез печени крысы. Витальная фиксация. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100, 400.

Разница в фиксирующих жидкостях практически не сказалась на ткани печени. Однако при применении 10% формалина цитоплазма клеток выглядела более светлой с оптически пустой цитоплазмой, окруженной тонким эозинофильным ободком (рис. 3,4).

Данный эффект объясняется большими скоплениями гликогена, который име-

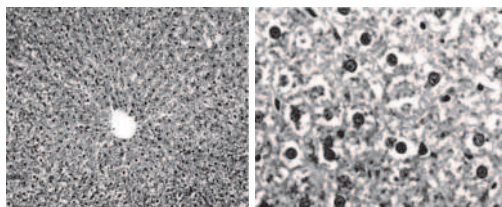


Рис. 3, 4. Срез печени крысы. Фиксация органа 10% формалином. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100, 400.

ет свойство растворяться при обычной фиксации препаратов в забуференном формалине [4]. Такие изменения в гепатоцитах, особенно в токсикологических исследованиях, могут быть расценены как проявления гидропической дистрофии. Используя ШИК-реактив, можно определить наличие в цитоплазме клеток печени гликоген, который отсутствует при гидропической дистрофии. Дополнительная фиксация ткани специальными фиксирующими растворами, например, этиловым спиртом, Фиксатолом или раствором Карнуа, позволяет сохранить гликоген в гепатоцитах, что обуславливает их применение при изучении микроструктуры печени (рис. 5-7).

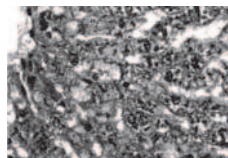


Рис. 5. Срез печени крысы. Фиксация органа 95% этанолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 400.

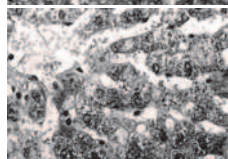


Рис. 6. Срез печени крысы. Фиксация органа Фиксатолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 400.

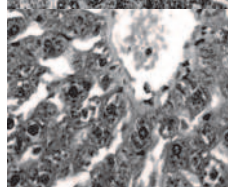


Рис. 7. Срез печени крысы. Фиксация органа 95% этанолом. ШИК-реакция. Увеличение 400.

Таким образом, ткань печени допустимо фиксировать только в 10% формалине для проведения рутинного исследования, но рекомендуется отдельно сохранять материал в спиртовых фиксаторах, которые позволяют применять дополнительные методы окрашивания, в частности на гликоген.

Тонкая кишка

Стенка кишки представлена тонкой серозной оболочкой, мышечной оболочкой и слизистой оболочкой, образующей складки – кишечные ворсинки, включаю-

шие в себя эпителий и собственную пластинку. Эпителиальная выстилка состоит из каемчатых энтероцитов, бокаловидных клеток и энтероэндокринных клеток. Наилучший результат мы получили при витальном фиксировании материала, поскольку кишка, «законсервированная» еще до удаления была менее подвержена неизбежному травмированию во время эвасциации и вырезки (рис 8,9).

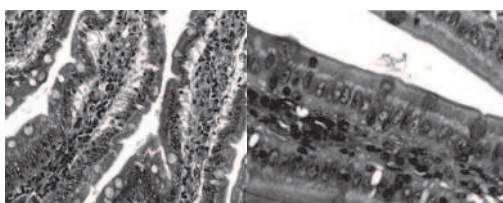


Рис. 8, 9. Срез тонкой кишки крысы. Витальная фиксация. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100, 400.

При фиксировании ткани 10% формалином ткань сохраняла свою структуру и целостность, клетки эпителия были немного уменьшены в размерах (рис 10,11). При использовании 95% этанола эпителий не деформирован, но было замечено много участков его десквамации (рис. 12,13). Что, в условиях эксперимента,

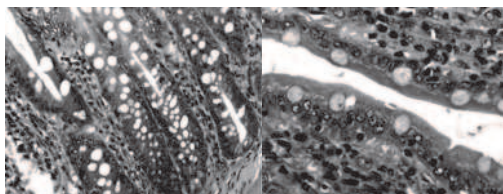


Рис. 10, 11. Срез тонкой кишки крысы. Фиксация органа 10% формалином. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100, 400.

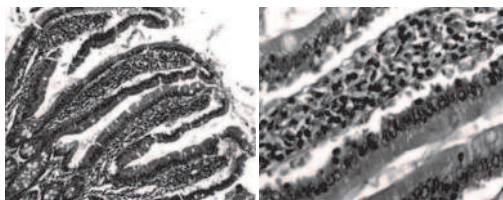


Рис. 12, 13. Срез тонкой кишки крысы. Фиксация органа 95% этанолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100, 400.

может быть расценено, как раздражающее действие исследуемых веществ.

Можно предположить, что данные изменения являются следствием дегидратационного воздействия этанола на соединительную ткань собственной пластинки. В результате дегидратирующей способности спирта соединительная ткань сжимается, тем самым разрывается ее связь с эпителием. Формалин, в отличие от спиртов, наоборот приводит к набуханию соединительной ткани [1]. Подобное воздействие формалина и этанола будет проследиваться и в других изученных органах – сердце, легких, почках. Фиксатор имел воздействие близкое к действию и формалина и спирта, то есть не выражено нарушал структуру ткани и то же время сохранял форму клеток эпителиальной выстилки (рис. 14,15).

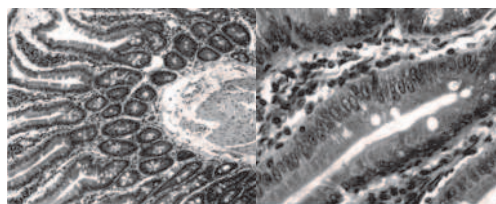


Рис. 14, 15. Срез тонкой кишки крысы. Фиксация органа Фиксатором. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100, 400.

Сердце

Во всех группах отчетливо прослеживается строение миокарда: сердечная мышца состоит из отдельных пучков мышечных волокон с выраженной поперечной исчерченностью, визуализируются вставочные диски, ядра расположены центрально(рис. 16-19). Между кардиомиоцитами прослойка соединительной ткани с капиллярами. В группе препаратов зафиксированных 10% формалином кардиомиоциты плотно прилежат друг к другу, в то время как в остальных препаратах, особенно после обработки этанолом, волокна разделены между собой, что улучшает визуализацию их структуры.

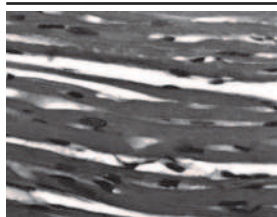


Рис. 16. Срез сердца крысы. Витальная фиксация. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 400.

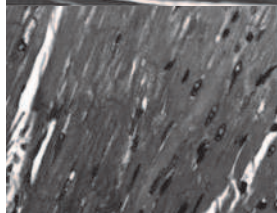


Рис. 17. Срез сердца крысы. Фиксация органа 10% формалином. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 400.

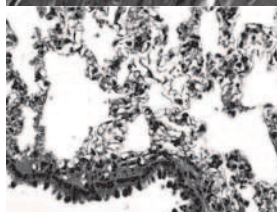


Рис. 20. Срез легких крысы. Витальная фиксация. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200.

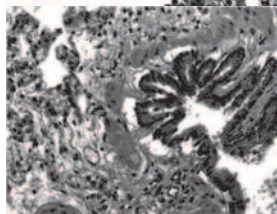


Рис. 22. Срез легких крысы. Фиксация органа 95% этанолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200.

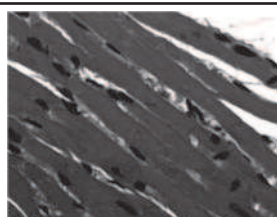


Рис. 19. Срез сердца крысы. Фиксация органа Фиксатолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 400.

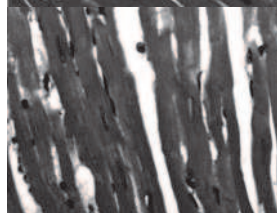


Рис. 18. Срез сердца крысы. Фиксация органа 95% этанолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 400.

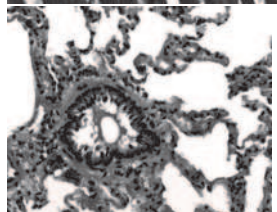


Рис. 21. Срез легких крысы. Фиксация органа 10% формалином. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200.

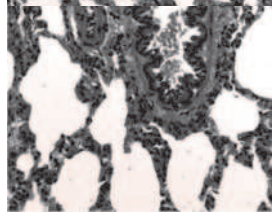


Рис. 23. Срез легких крысы. Фиксация органа Фиксатолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200.

Легкие

Легкие в респираторном отделе представлены бронхиолами и альвеолами с межальвеолярными перегородками, состоящими из рыхлой соединительной ткани, в которой проходят сосуды. Слизистая оболочка бронхиол состоит из мерцательного эпителия немногочисленных бокаловидных клеток, тонкой собственной пластинки и слабовыраженной мышечной пластинкой. Стоит заметить, что межальвеолярные перегородки крыс довольно толстые, но при этом содержат хорошо разветвленную капиллярную сеть, что наглядно можно видеть в препаратах после витальной фиксации (рис. 20). При фиксации 10% формалин хорошо сохранял ткани, но структура межальвеолярных перегородок была недостаточно отчетлива (рис. 21). При действии эта-

нола, как и в случае со слизистой оболочкой кишечника, наблюдалась десквамация клеток при хорошей визуализации перегородок (рис. 22). Действие Фиксатола было довольно «мягким»: не было чрезмерного сжатия соединительной ткани и нарушения строения, при этом клетки эпителия оставались зафиксированными к базальной мембране (рис. 23). Данные особенности фиксаторов можно использовать для изучения "точки приложения" веществ - для изучения структуры бронхиального дерева лучше подходит формалин, а для паренхимы легких - спиртовые фиксаторы.

Почки

Ткань почек представлена корковым веществом, состоящим из почечных телец, почечных канальцев и сети сосудов и мозговым веществом, состоящим из со-

бирательных трубочек и капилляров. Почечные тельца состоят из сосудистого клубочка и боуменовой капсулы. Однорядный кубический эпителий проксимальных канальцев покрыт щеточной каемкой из плотнолежащих микровиллей, граница между клетками не видна. Дистальные канальца выстланы однослойным плоским эпителием (рис. 24,25). В ткани почек наиболее стали видны различия между действием фиксирующих жидкостей. При применении 10% формалина почечные тельца плохо визуализируются, они были, как бы, сдавлены окружающими их канальцами (рис. 26,27). При применении спиртовой фиксации и Фиксатола клубочки видны значительно лучше – видна капсула, отдельные петли капилляров, канальца (рис 28-31).

Как отмечалось выше, при применении спирта возможна излишняя дегидратация ткани, что неизменно сказывается на ее структуре. Это проявляется чрезмерным сжатием соединительной ткани и «отрывом» эпителия от базальной мембраны. Особенно выражено мы наблюдали такие артефакты на препарат почки (рис 28) – на некоторых участках эпителий почечных канальцев полностью десквамирован, в результате осталась только соединительнотканый каркас.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные указывают на положительные и отрицательные стороны применения в исследовании фиксирующих растворов (таб.1).

10% формалин нельзя использовать для консервации углеводов, для этого идеально подходят спиртовые фиксаторы. Отмечено незначительное уплотнение ткани (особенно это касается почек), после гистологической проводки материала фиксированного формалином, что может затруднить ее дальнейшее исследование. Спиртовые фиксаторы требуют четкого соблюдения временных интервалов, иначе сильная и длительная дегидратация

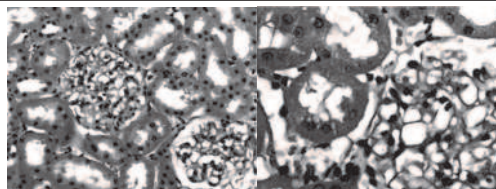


Рис. 24, 25. Срез почки крысы. Витальная фиксация. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 200, 400.

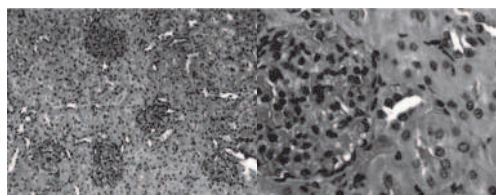


Рис. 26, 27. Срез почки крысы. Фиксация органа 10% формалином. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100, 400.

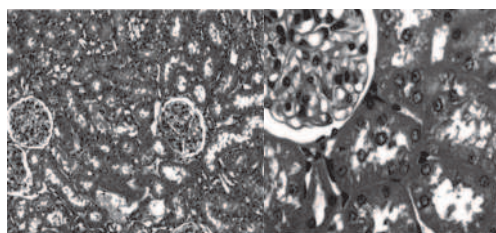


Рис. 28, 29. Срез почки крысы. Фиксация органа 95% этанолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100, 400.

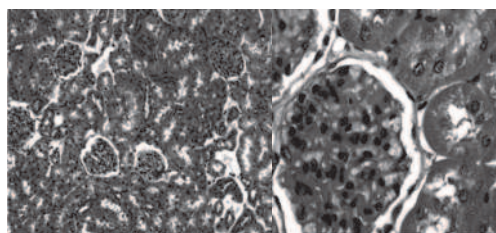


Рис. 30, 31. Срез почки крысы. Фиксация органа Фиксатолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100, 400.

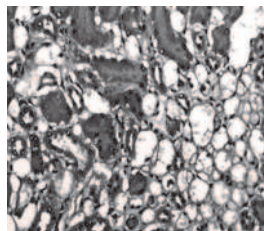


Рис. 32. Срез почки крысы. Фиксация органа 95% этанолом. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение 100.

Воздействие фиксирующих растворов на структуру органов

Орган	Параметры	Витальная фиксация	Фиксирующие растворы		
			10% формалин	95% этанол	Фиксатол
Печень	Структура ткани	Без существенных различий			
Кишка	Уплотнение стромы	+	++	-	-
	Десквамация эпителия	-	+	+++	++
Сердце	Визуализация волокон	++	+	+++	++
Легкие	Визуализация межальвеолярных перегородок	+++	+	++	++
	Визуализация структуры бронхов	+++	++	+	++
Почки	Визуализация структуры клубочков	++	+	+++	+++
	Визуализация структуры канальцев	++	+	+++	+++

Примечание: «+» обозначена выраженность изменений

может привести к непоправимому искажению тканевой структуры и потере данных. При исследовании печени мелких лабораторных животных помимо формалина рекомендуется параллельно применять дополнительные фиксирующие растворы, позволяющие дифференцировать патологию от нормы, такие как 95% этанол или его аналоги, например Фиксатол.

Таким образом, комбинированное использование нескольких фиксаторов позволит избежать ошибок, возникающих в процессе гистологической обработки полученного материала.

Effect of fixing liquids on microscopic structure of small laboratory animals.

Ya. Gushchin, A. Muzhikyan.

ABSTRACT

Histologists are often faced with the artifacts in the study of histological sections arising during the course material processing. These changes occur at the stages of staining, sectioning and even processing. It can be corrected, but the wrong choice of fixative solution can spoil the result of the experiment. That's why one of the most important stages of the histological material treatment is fixing.

In this study, we have examined the effect of fixing solution (10% formalin, 95%

ethanol and Fiksitol) on microstructure of the heart, lung, liver, kidney and intestines tissue. The experiment was carried out on male rats. To obtain reliable histological pattern we used method of intravital preservation of animals organs with 10% formalin. Other animals have been euthanized and evisceration was carried out.

Extracted organs were fixed in three different solutions, then standard histological treatment of material was accomplished.

This findings have allowed to reveal positive and negative sides of the selected fixatives.

Microscopic structure of tissues visualized better after fixation with 95% ethanol, but excessive dehydration of tissue leads to artifacts and could cause data loss. Formalin fixed more gently and better preserved cellular structure. But it can't be used to study glycogen, which it is necessary to identify the pathological processes in the liver.

It should be not forgotten that for accurate differential diagnostics it's necessary to apply additional methods staining in addition to hematoxylin-eosin. Often some stains can not be used under various methods of fixation.

As the result of research we can made recommendations on the application of the

selected fixatives to obtain full and accurate histological findings in experiments on small laboratory animals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника М.: Советская наука, 1957. – 476 с.

2. Микроскопическая техника. Под редакцией Саркисов Д.С. Перов Ю.Л. /М.: Медицина, 1996. 544 с.

3. Мужикян А.А., Макарова М.Н., Гушин Я.А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных. Международный вестник ветеринарии, №2, 2014 г., С.103-109

4. Войно-Ясенский М.В., Жабонский К.М. Источники ошибок при морфологических исследованиях. /Л.: Медицина, 1970. 319 с.

УДК: 614

АНАЛИЗ МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ. ТЕСТ ПО УЧЕТУ ДОМИНАНТНЫХ ЛЕТАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

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

РЕФЕРАТ

Доминантные летальные мутации – это генетические изменения, индуцированные в родительских зародышевых клетках и приводящие к гибели первое поколение потомков на эмбриональных стадиях развития. Тест по учету доминантных летальных мутаций у млекопитающих широко используется более 50 лет для оценки мутагенных эффектов химических веществ и включен во многие руководства и рекомендации. Однако методические подходы по выполнению теста варьируют. В обзоре рассматриваются ключевые требования и варьируемые параметры методологии при проведении теста, представлены обобщенные экспериментальные данные по воздействию стандартных мутагенов на отдельные стадии сперматогенеза при разных режимах введения и схемах эксперимента.

Общая схема эксперимента включает в себя обработку самцов грызунов исследуемым веществом и последующим спариванием их с интактными виргинными самками. Самцов спаривают определенное число раз с разными самками для того, чтобы оценить воздействие исследуемого вещества на половые клетки в разных стадиях зрелости. В середине беременности самок эвтаназируют, вскрывают матку и определяют количество живых и мертвых эмбрионов, производят сравнение с контрольной группой. Увеличение количества мертвых эмбрионов на самку в группе, получавшей тестируемый препарат, по сравнению с количеством мертвых эмбрионов в контрольной группе отражает вызванную тестируемым веществом постимплантационную смертность, которая является основным показателем уровня доминантных летальных мутаций. Варьируемыми параметрами доминантного летального теста являются: вид животных, количество животных, режим введения исследуемого препарата, режим спаривания, а также оцениваемые в итоге исследования биометрические параметры.

По итогам проведенного обзора оптимальным сроком ссадки животных для тестирования потенциальных мутагенов можно считать 3 недели. Самцов рекомендуется подсаживать к самкам на период эстрального цикла (4 дня). Наиболее распространенным ана-

лизируемым параметром является постимплантационная смертность.

Ключевые слова: мутагенность, доминантные летальные мутации, доминантный летальный тест у млекопитающих.

ВВЕДЕНИЕ

Возникновение изменений в структуре ДНК называется мутагенезом. Образующиеся в результате этого мутации могут охватывать единичный ген, хромосомы или геном. Тестирование лекарственных средств на мутагенность является одним из основных этапов при оценке безопасности химических веществ и лекарственных субстанций. Тестированию на мутагенную активность подвергаются новые оригинальные фармакологические средства, а также новые фиксированные комбинации фармакологических средств, имеющие в своем составе компоненты, структурно сходные с уже известными мутагенами [1].

Проблемой изучения химического мутагенеза является отсутствие единого универсального метода для тестирования веществ на мутагенность, поэтому для этой цели используют набор методов - метод учета микроядер в соматических клетках млекопитающих, учет генных мутаций с использованием в качестве тест-объекта микроорганизмов и дрозофилы и др. Одним из основных методических подходов является тест по определению доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках грызунов (доминантный летальный тест, ДЛТ).

Несмотря на наличие различных регулирующих стандартов по проведению ДЛТ, условия проведения теста могут существенно отличаться. В обзоре рассматриваются ключевые требования и варьируемые параметры методологии при проведении ДЛТ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Доминантные летальные мутации. Регулирующие стандарты

Доминантные летальные мутации – это генетические изменения, индуциро-

ванные в родительских зародышевых клетках и приводящие к гибели первое поколение потомков на эмбриональных стадиях развития. Большая часть доминантных леталей представляет собой численные и структурные аберрации хромосом, частично они могут быть представлены генными мутациями [1].

Долгое время существовало ложное предубеждение, что половые клетки человека надежно защищены [2,3]. Это же предубеждение стало причиной того, что между открытием мутагенного эффекта химических веществ и развитием исследовательских программ по тестированию на мутагенность прошло 20 лет.

Эффективность гемато-тестикулярного барьера [2,4] часто является ложным доводом в пользу того, что метод исследования доминантных летальных мутаций является нечувствительным. По сути же, ДЛТ является одной из немногих тест-систем, которая способна предоставить информацию о веществах, которые проникают через гемато-тестикулярный барьер, и эта информация представляет особую значимость для оценки потенциальной мутагенной угрозы химического вещества.

Впервые ДЛТ был применен для оценки мутаций, вызванных радиацией, в 1953-1954 годах [5,6], а в 1966 году был рекомендован для исследований на мутагенность [7]. Далее последовал ряд сообщений о наличии доминантных летальных эффектов и, возможно, мутагенных эффектов в семьях анестезиологов и работников, контактирующих с винилхлоридом [8,9,10], что возобновляло вопрос о включении ДЛТ в ряд рутинных исследований на мутагенность. В наши дни наиболее вероятными причинами мутагенеза может стать загрязнение окружающей

среды и сточных вод [11,12], что может влиять на фертильность мужчин [13], а также применение фармакологических агентов [12]. Поэтому по сей день ДЛТ остается одним из важнейших методов, применяемых для тестирования мутагенных веществ [14].

Неоднократно принимались меры по стандартизации методов исследования на мутагенность. Значительным итогом многолетнего обобщения результатов разработки и стандартизации испытаний на мутагенность явилось выпущенное в 1989 г. ВОЗ «Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ», а также материалы 2-го Международного рабочего совещания в Мельбурне 1994 года. Фармакологический комитет МЗ и МП Российской Федерации в 1994 г. опубликовал нормативный документ — методические рекомендации «Оценка мутагенности новых лекарственных средств». В рамках курируемой ВОЗ Международной программы по химической безопасности (International Programme on Chemical Safety, IPCS) были разработаны методические рекомендации для мониторинга генотоксических влияний на организм человека мутагенов и канцерогенов.

Рекомендации по проведению доминантного летального теста можно найти в таких регулирующих документах как OECD (Draft Rodent Dominant Lethal Test 478) [15], методические рекомендации по исследованию мутагенов и канцерогенов Международной программы по химической безопасности [2]. Отечественным регуливающим документом по тестированию на мутагенность является Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств под редакцией А.Н. Миронова [1].

Тестирование. Схема эксперимента. Варьируемые параметры

Общая схема эксперимента включает в себя обработку самцов грызунов исследуемым

веществом и последующим спариванием их с интактными виргинными самками. Самцов спаривают определенное число раз с разными самками для того, чтобы оценить воздействие исследуемого вещества на половые клетки в разных стадиях зрелости. Спустя определенное время (как правило, в середине беременности, то есть на 12-й день) после спаривания самок эвтаназировывают, вскрывают матку и определяют количество живых и мертвых эмбрионов, производят сравнение с контрольной группой. Увеличение количества мертвых эмбрионов на самку в группе, получавшей тестируемый препарат, по сравнению с количеством мертвых эмбрионов в контрольной группе отражает вызванную тестируемым веществом постимплантационную смертность, которая является основным показателем уровня доминантных летальных мутаций [15]. Варьируемыми параметрами являются: выбор вида животных, количество животных, режим введения исследуемого препарата, режим спаривания, а также оцениваемые в итоге исследования биометрические параметры.

Режим введения исследуемого препарата

Для проведения ДЛТ могут быть использованы различные режимы введения тестируемого объекта, но наиболее распространенным является однократное введение [15]. Можно использовать и другие режимы введения, например пятикратное ежедневное введение, но в любом случае выбор режима введения должен быть научно обоснован. Все исследователи сходятся во мнении, что необходима индивидуальная дозировка исследуемого препарата (индивидуальный объем введения с учетом массы каждого отдельно взятого животного) [2, 8, 15].

Животные

Исследование проводят на мелких лабораторных грызунах (мыши, крысы). Выбор животных должен быть научно

обоснован (например, необходимостью корреляции или необходимостью объединения с другими токсикологическими исследованиями) [15]. Предпочтительно использование генетически однородных животных. Чаще всего, однако, для проведения ДЛТ используют мышей, так как это менее затратно в плане расхода препаратов и с ними легче осуществлять манипуляции в силу их размера.

Оптимальный возраст животных – 8-12 недель. Более взрослых животных для проведения ДЛТ использовать не рекомендуется, так как количество спонтанных доминантных летальных мутаций у таких животных может быть повышенным [16].

Погибшие в ходе эксперимента животные не должны заменяться резервными, так как данные, полученные от вновь включенных животных, не будут соответствовать биометрическим требованиям [8].

Количество животных, используемых в эксперименте, может зависеть от множества биологических и статистических факторов [8]. Количество животных должно обеспечивать необходимую статистическую мощность [15]. В публикации Ehling et al. [8] рекомендуется использовать соотношение самцов к подсаживаемым самкам 1:1, брать 50 самок на группу на каждый период ссадки и, учитывая соотношение, 50 самцов. В Руководстве по проведению доклинических исследований [1] рекомендуется использовать соотношение самцов к самкам 1:3, брать не менее 15 самцов в каждую группу и, следовательно, по 45 самок на каждый период ссадки.

Режим спариваний

Поскольку тест определяет влияние мутагена на фертильность мужских особей, необходимо представлять временные рамки, в которых половые клетки определенной стадии зрелости находятся в эякуляте (таблица 1 [17]). Варьируемыми па-

Таблица 1
Периоды стадий сперматогенеза

Дни	Стадия половых клеток
1-7	сперматозоиды
8-21	сперматиды
22-35	сперматоциты
36-41	дифференцированные сперматогонии
более 42 дней	A _s сперматогонии (стволовые клетки)

раметрами в литературных данных являются число ссадок, временной интервал между ними и количество подсаживаемых к самцам самок.

1. Число ссадок зависит от режима введения тестируемого средства и утверждается исследователем при подготовке к эксперименту [15]. В соответствии с протоколом OECD длительность эксперимента обязательно должна охватывать весь период сперматогенеза [2,8,15], поэтому рекомендуемым режимом спаривания после однократного введения тестируемого вещества является 8 ссадок с недельным интервалом для мышей и 10 ссадок с недельным интервалом для крыс. В случае многократного введения исследуемого вещества количество ссадок можно сократить пропорционально увеличению периода введения. Например, при хроническом исследовании препарата (восьминедельное введение) достаточно провести лишь одну садку после курса введения [15]. Однако накопленный опыт тестирования широкого спектра мутагенов показывает, что доминантные летальные мутации индуцируются в основном на постмейотических стадиях сперматогенеза, то есть в первые три недели после введения мутагена [18,19]. Поэтому с целью оптимизации эффекта и экономии животных, период спаривания можно сократить до 2-3 недель.

2. В публикации Ehling et al. [8] указывается, что оптимальным интервалом между садками являются четверо суток, так

как большинство актов спаривания происходят именно в эти дни (этот интервал также соответствует длительности эстрального цикла у мышей). В последующие три дня (к концу недели) оплодотворение самок практически не происходит. Это приводит к отсутствию полноты информации о возможных мутагенных эффектах. Для того, чтобы исследовать все потенциальные мутагенные эффекты, необходимо добиться равномерного темпа оплодотворения в течение всего периода спаривания. Опыт показывает, что этого можно добиться при четырехдневном периоде спаривания. Более того, для исследования прямого воздействия потенциального мутагена на определенные стадии сперматогенеза можно сократить период ссадки до одного дня [8]. В связи с уменьшением интервала между ссадками (4 дня) количество ссадок увеличивается до двенадцати для учёта мутагенных эффектов в течение всего цикла сперматогенеза.

В соответствии с Руководством [1] исследование доминантных летальных мутаций проводят в течение трех недель на постмейотических стадиях сперматогенеза, подсадки самок проводятся ежедневно.

3. Рекомендуемым соотношением числа самцов к числу подсаживаемых самок является 1:1, то есть одна самка подсаживается к одному самцу в течение каждого периода ссадки. Такой режим ссадки имеет преимущество, поскольку достигается максимальный уровень оплодотворения и, кроме того, при подсадке нескольких самок к одному самцу число оплодотворенных самок каждым самцом из группы может варьировать, что негативно скажется на релевантности результатов по группам и затруднит статистическую обработку данных. Тем не менее, соотношение самцов к самкам 1:2 и 1:3 допустимо, и, более того, широко применяется в исследовании доминантных летальных му-

таций [8]. Соотношение 1:3 также рекомендуется использовать в соответствии с руководством [1].

2.4 Измеряемые показатели

Как уже упоминалось, одним из важнейших показателей доминантных летальных мутаций является постимплантационная смертность (или уровень постимплантационных потерь), которая служит индикатором геномных повреждений, приводящих к смерти эмбриона или плода [20]. Уровень постимплантационных потерь вычисляют как отношение числа мертвых эмбрионов к сумме живых и мертвых эмбрионов (рисунок 1,2).

Недостатком этого показателя является то, что при этом не учитываются преимплантационные потери. Поэтому достаточно часто при оценке доминантных летальных мутаций используют показатель частоты доминантных леталей, который можно определить формуле [8]. Этот



Рис. 1. Живой эмбрион (слева) и мертвый эмбрион (справа)



Рис. 2. Наличие 9 живых эмбрионов

фактор отражает как преимплантационную, так и постимплантационную смертность [19]. Преимуществом использования этого показателя является также то, что спонтанный летальный эффект, индивидуальный для каждой линии животных, в данном случае не учитывается, то есть фактор доминантных леталей отражает летальные эффекты, спровоцированные только введением тестируемого препарата. Недостатком определения частоты доминантных леталей является отсутствие данных о состоянии матки каждого животного, что необходимо для статистического анализа.

Кроме того, измеряемыми параметрами помимо мертвых и живых эмбрионов могут быть число желтых тел или число имплантаций в каждой матке животных (для расчета преимплантационных потерь).

Статистический анализ

В случае оценки доминантных летальных мутаций по уровню постимплантационной смертности, для оценки значимости увеличения этого показателя по сравнению с контрольными животными используют критерий χ^2 для соотношения сумм живых и мертвых эмбрионов. В связи с тем, что при таком подходе будет игнорироваться индивидуальная чувствительность мышей, для снижения доли ложнопозитивных результатов, решение о наличии мутагенного эффекта стоит принимать при 1% уровне значимости [1].

В целом выбор статистического метода обусловлен основным определяемым параметром в ДЛТ. Например, Salsburg [21], основываясь на предположении, что число мертвых и живых эмбрионов подчиняются биномиальному распределению, применил регрессионную модель с пределами толерантности, полученными на основе измерений в контрольной группе. Среди других методов – дисперсионно-аналитический подход, MANOVA, пробит-анализ, тест Армитажа и другие

[8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Положительные контроли

В качестве положительного контроля при проведении ДЛТ используют вещества, заведомо обладающие мутагенной активностью, как правило, алкилирующие агенты: циклофосфамид [22,23], триэтиленмеламин [16], этилметансульфонат [24], блеомицин [15], фотрин [25].

Циклофосфамид – цитостатический химиотерапевтический лекарственный препарат алкилирующего типа действия, иммуносупрессант, широко применяющийся в клинической практике. Известно, что он обладает канцерогенными и тератогенными свойствами и способностью индуцировать хромосомные абберации [26].

Этилметансульфонат (ЭМС) также является известным мутагеном и используется в качестве положительного контроля в исследованиях канцерогенности для оценки повреждающего потенциала химических веществ отношении ДНК, хромосом и в исследованиях мутагенности [27].

Триэтиленмеламин (ТЭМ) обладает способностью индуцировать доминантные летальные мутации и транслокации. Этот мутаген интересен тем, что является радиомиметиком, то есть его мутагенный эффект сходен с эффектом радиационного воздействия [16].

В таблице 2 представлены обобщенные данные доминантных летальных эффектов. Можно видеть, что дизайны исследований сильно отличаются друг от друга режимом и путем введения мутагена, режимом ссадки. При этом, все описанные мутагены оказывают эффект на половые клетки (в большей степени на сперматозоиды и сперматиды) самцов в течение первых трех недель после введения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог, необходимо подчерк-

Таблица 2

Результаты ДЛТ после введения различных мутагенов

Мутаген, путь введения	Доза, мг/кг	Дни ссачки (спустя последнего введения)	Фертильность, %	Постимплантационные потери, %	Источник
Циклофосфид, интраперитонеально	0	1-5 (сперматозоиды)	90,0	5,7±1,4	Krishna et al., 1995 [22]
	5x40		90,0	55,5±3,4	
	0	8-12 (поздние сперматиды)	94,0	7,2±1,3	
	5x 40		95,8	71,1±2,9	
	0	15-19 ¹ (ранние сперматиды)	98,0	6,0±1,2	
	5x 40		100,0	33,9±3,4	
Циклофосфамид, интраперитонеально ²	0	1-5 (сперматозоид)	83,3	11,97±6,15	Oliveira et al., 2014 [20]
	50		83,3	41,20±21,05	
Циклофосфамид, интраперитонеально	0	1-7 (сперматозоиды)	92,5	4,91	Sram, 1976 [23]
	5x10		87,5	20,43	
	5x20		70,0	40,80	
	5x30		47,5	49,07	
	100		85,0	16,34	
	0	8-14 (поздние и средние сперматиды)	92,5	3,89	
	5x10		97,5	10,97	
	5x20		72,5	27,95	
	5x30		27,5	34,14	
	100		87,5	29,87	
	0	15-21 (ранние сперматиды)	85,0	3,24	
	5x10		85,0	4,31	
	5x20		85,0	9,85	
	5x30		67,5	20,18	
	100		87,5	18,01	

Международный вестник ветеринарии, № 3, 2014г.

Мутаген, путь введения	Доза, мг/кг	Дни ссадки (спустя последнего введения)	Фертильность, %	Постимплантационные потери, %	Источник		
Этилметансульфонат, интраперитонеально	0	6,5-7,5 (ранние сперматозоиды)	100,0	7,1	Generoso et al., 1974 [24]		
	100		88,0	7,3			
	150		100,0	18,5			
	200		92,6	45,3			
	250		51,7	71,2			
	300		4,8	100,0			
	0	8,5-9,5 (поздние сперматиды)	100,0	8,5			
	100		94,1	11,6			
	150		94,4	25,0			
	200		81,8	54,4			
	250		40,0	60,7			
	300		7,1	40,0			
	Этилметансульфонат, перорально	0	3-10 (сперматозоиды и поздние сперматиды)	60,9		21,07	Favor, Krenshaw, 1978 [27]
		150		77,3		41,05	
225		45,8		62,36			
300		11,1		100,0			
Триэтиленмеламин, интраперитонеально	0	4,5-7,5 (ранние сперматозоиды)	95,5	4,9	Matter, Generoso, 1974 [16]		
	0,035		100,0	9,4			
	0,05		91,3	13,5			
	0,1		97,7	25,7			
	0,2		98,0	51,1			
	0,3		81,8	71,5			
	0,4		56,4	79,2			
	0,8		10,0	66,7			
	0	11,5-15,5 (средние сперматиды)	96,7	5,5			
	0,035		100,0	11,1			
	0,05		98,2	17,6			
	0,1		94,5	36,9			
	0,2		94,4	64,2			
	0,3		46,3	75,9			
	0,4		26,8	74,6			
	0,8		4,0	- ³			

Примечание: ¹ – всего в исследовании осуществляли восемь ссадок с недельным интервалом, но в таблице представлены данные по первым трем неделям, поскольку эти результаты наиболее показательны); ² – введение мутагена осуществляли в течение 5 недель; ³ – расчет постимплантационных потерь не производился, так как в эксперименте была только одна беременная самка

нужь, что наиболее часто для ДЛТ используют мышей в силу удобства проведения манипуляций и экономии препарата (химического вещества, потенциального

мутагена). Поскольку большинство мутагенов оказывают действие на постмейотических стадиях сперматогенеза оптимальным сроком ссадки животных для тести-

рования потенциальных мутагенов можно считать 3 недели (период развития сперматид и сперматозоидов). Самцов рекомендуется подсаживать к самкам на период эстрального цикла (4 дня). Наиболее распространенным анализируемым параметром является постимплантационная смертность. Для снижения доли ложнопозитивных результатов, решение о наличии мутагенного эффекта стоит принимать при 1% уровне значимости.

Mutagenic activity analysis. Dominant lethal assay in mammals

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

ABSTRACT

Dominant lethal mutations are genetic changes induced in parental germ cells which lead to death of the first generation of offsprings on embryonic stage of development. Dominant lethal assay in mammals is widely used for more than 50 years for chemicals mutagenic effects assessment and is included in many guidelines and methodic recommendations. Test fulfillment approaches can vary. In this review main requirements and variable parameters of test execution are considered and experimental data summary on how separate stages of spermatogenesis may be affected by standard mutagens at different mutagen administration modes and experimental schemes is presented.

The general experimental scheme includes administration of test substance to rodents males and their subsequent mating to virgin intact females. Rodent males are mated several times to explore test substance action on various spermatogenesis stages. In mid-pregnancy realize females euthanasia, dams autopsy and determine the number of live and dead embryos comparing to control group. Increased number of dead embryos per each female in experimental group compared to such in control group characterizes post-implantation loss which is the main

index of dominant lethal mutations. Variable parameters in dominant lethal test fulfillment are: animal species, animal number, test substance administration mode, mating regimen and analyzed biometrical parameters.

As a result may conclude that optimal total mating duration is three-week period. Males and females should stay together for 4 days (length of oestrus cycle). Post-implantation loss is prevalent analyzed parameter.

Key words: mutagenicity, dominant lethal mutations, dominant lethal assay in mammals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по доклиническим исследованиям лекарственных средств // ФГБУ "НЦЭМСП" Под редакцией Миронова А.Н. том.1. 2012. 942 с.
2. Int. Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens, Int. Programme on Chemical Safety, UN Environment Programme, In. Labour Org., WHO. Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals / prepared for the IPCS by the International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. Environmental health criteria 51. Geneva : World Health Organization. 1985.
3. Neel J.V. & Schull W.J. Human heredity, Chicago, The University of Chicago Press. 1958.
4. Setchell B.P. Testicular blood supply, lymphatic drainage, and secretion of fluid. In: Johnson, A.D. The testis, New York, London, Academic Press, 1970. Vol. 1, pp. 101-239.
5. Kaplan W.D., Lyon M.F. Failure of mercaptoethylamine to protect against the mutagenic effects of radiation. II. Experiments with mice. Science, Vol. 118. 1953. P. 777-778.
6. Russell W.L., Russell L.B., Kimball A.W. The relative effectiveness of neutrons from a nuclear detonation and from a cyclotron in inducing dominant lethals in the mouse.

- Am. Nat. Vol. 88. 1954. P. 269-286.
7. Bateman A.J. Testing chemicals for mutagenicity in a mammal. Nature (Lond.). Vol. 210. 1966. P. 205-206.
8. Ehling U.H., Machemer L. and all. Standard protocol for the dominant lethal test on male mice. Set up by the Work Group "Dominant lethal mutations of the ad hoc Committee Chemogenetics, Arch. Toxicol. 39, 173-185 (1978).
9. American Society of Anesthesiologists: Occupational disease among operating room personnel: A national study. Anesthesiology. Vol. 41. 1974. P. 321-340.
10. Infante P. F., Wagoner, J. K., Waxweiler, R. J.: Carcinogenic, mutagenic and teratogenic risks associated with vinyl chloride. Mutation Res. 41, 131-142 (1976)
11. Методические указания по изучению мутагенной активности химических веществ при обосновании их ПДК в воде. № 41110-86, утв. Минздравом СССР 12.26.86.
12. Oliveira R.J., Pesarini J.R., and all. Effects of glucan polysaccharide revealed by the dominant lethal assay and micronucleus assays, and reproductive performance of male mice exposed to cyclophosphamide. Genet Mol Biol. 2014 Mar;37(1):111-9.
13. Lipshultz L.I. and Fisch H. Diagnosing male factors of infertility. Arch Pathol Lab Med 1992. Vol.116. P. 398-405.
14. Shively C.A., White D.M. Dominant lethal testing of theobromine in rats. Toxicol Lett 20:325-329.
15. OECD guideline for the testing of chemicals № 478. Genetic toxicology: Rodent Dominant Lethal Test // 1984;
16. Matter B. E., Generoso W. M. Effects of Dose on the Induction of dominant-lethal mutations with triethylenemelamine in male mice. Genetics. 1974 August; 77(4): 753-763.
17. Oakberg E.F. Irradiation damage to animals and its effect on their reproductive capacity. J. dairy Sci. 1960. Vol. 43(Suppl.). P. 54-67.
18. Bateman A.J. Testing chemicals for mutagenicity in a mammal. Nature. 1966 Apr 9. Vol. 210(5032). P. 205-206.
19. Adler I.D. Dominant lethal effects after inhalation exposure to 1,3-butadiene. 1994 Sep 1;309(2):295-7.
20. Krishna G., Petrere J. Use of cyclophosphamide as a positive control in dominant lethal and micronucleus assays. Mutat Res. 1995. Vol. 335(3). P. 331-337.
21. Srám R. J. Relationship between acute and chronic exposures in mutagenicity studies in mice. Mutat Res. 1976. Vol. 1(41). P. 25-42.
22. Generoso W.M., Russell W.L., Sandra W. Huff, Sandra K. Stout, D. G. Gosslee. Genetics. Effects of Dose on the Induction of dominant-lethal mutations with triethylenemelamine in male mice. 1974. Vol. 77(4). P.741-752.
23. Revazova Iu.A., Radchenko L.U. Induction of dominant lethals in mice by foftrin. Genetika. 1976 Vol.12(2):165-7.
24. Doherty A.T. Chromosome aberration frequency in rat peripheral lymphocytes increases with repeated dosing with hexamethylphosphoramide cyclophosphamide. Mutagenesis. 2012. Vol. 27(5). P. 533-539.
25. Favor J, Crenshaw J.W. EMS-induced dominant lethal dose response curve in DBA/1J male mice. Mutat Res. 1978. Vol. 53(1). P. 21-27.

**РЕШЕНИЕ
ТРЕТЬЕГО МЕЖДУНАРОДНОГО КОНГРЕССА ВЕТЕРИНАРНЫХ ФАРМАКОЛОГОВ И ТОКСИКОЛОГОВ «ЭФФЕКТИВНЫЕ И БЕЗОПАСНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА В ВЕТЕРИНАРИИ»**

В период с 21 по 23 мая 2014 г. при Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины состоялся 3-й Международный конгресс ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии», посвященный 25-летию проведения регулярных ежегодных научно-практических форумов по ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации. В работе конференции приняли участие научно-педагогические работники 35 ВУЗов и НИИ России, Украины, Белоруссии, Таджикистана: СПбГАВМ, МГАВМиБ, Казанская ГАВМ, Витебской ГАВМ, Кубанского ГАУ, Новосибирского ГАУ, Донского ГАУ, Нижегородской ГСХА, Курской ГСХА, Белгородской ГСХА, Башкирского ГАУ, ИЭВ им. С.Н.Вышелесского (НАН Белоруси), Троицкой ГАВМ, Костромской ГСХА, Курский ин-т соц.образования, Воронежского ГАУ, Иркутской ГСХА, Ижевская ГСХА, Елецкого ГУ им. И.А.Бунина, Смоленской ГСХА, Ставропольского ГАУ, Калининградский ГТУ, Вятской ГСХА, Ульяновской ГСХА, Чувашской ГСХА, Рязанский ГАТУ, Санкт-Петербургского института фармации, ВНИВИПФиТ, ВНИИВСГЭ, Краснодарского НИВИ, ФЦТРБ НИВИ (Казань), ВИГИС им. К.И.Скрябина, Центр фунготерапии И.Филипповой, МГУПП, СПбИВБ, Московского НИИЭиМ им. Н.Ф.Гамалеи, ВНИИ-ПАКК, АНО НИИ ДПБ (Москва), ИЭВ СидВ, Смоленского НИИСХ, ВИЖ РАСХН, ВНИВИПа, Уральского НИВИ, а также представители ряда фирм: Международная фирма «ИнтерНИЧ», компания «Биовак» (Израиль), ООО «НВЦ Агроветзащита», НПП «АВИВАК», компания «Хелвет», ООО МНИЦ «ОЗОС», компания «Нанобиотех», ООО НИИВФ Эврика, ООО «Пэт-Нордик-Сервис», ЗАО «Микро-плюс», ООО «ИНПРОМ», и др., а также практические ветеринарные специалисты.

На конгрессе представлено значительное количество исследований, охватывающие многие болевые точки нашего лекарствоведения и указывающие на оптимальные пути их исправления. В ВУЗах и научных подразделениях получены убедительные результаты по изучению новых моно и комбинированных лекарственных средств. В СПбГАВМ (Санкт-Петербург) совместно с фармацевтическими фирмами разработаны и внедрены в производство БАВ нового поколения из гнотобиотов – Санкт-Петербургский институт фармации (СПБИФ) и высших грибов, успешно разрабатываемых фирмой Ирины Филипповой. Практически решен вопрос о повышении эффективности химиопрепаратов и проводятся НИР по снижению побочного действия лекарственных средств. Новосибирский ГАУ совместно с НПФ «Исследовательский центр» в течение 20 лет успешно работают по разработке новых пробиотических препаратов и научной концепции их применения для сохранения здоровья животных, повышения продуктивности и качества получаемой продукции. МГАВМиБ (Москва) считает, что наша основная задача – поднимать качество отечественной продукции и создавать не копии, а оригинальные высококачественные препараты. ВНИВИПФиТ (Воронеж) подчеркивает приоритетные направления в разработке новых лекарственных средств. ВНИИВСГЭ (Москва) проводит большой объем исследований по мониторингу загрязнений экотоксикантами окружающей среды, изыскивая средства и методы их реабилитации. ФЦТРБ НИВИ (Казань) изыскивает средства для фармакокоррекции различных токсикозов.

Конгресс заслушал и обсудил более 30 докладов, посвященных новейшим достиже-

ниям в области фармакологии, токсикологии и фармации современных лекарственных средств и гомеопатических препаратов, используемых в ветеринарной медицине под эгидой эффективности и безопасности лекарственных средств. Конгресс отмечает высокий уровень научно-практических исследований ученых, широкий охват проблем в области фармакологии и токсикологии. Перспективными направлениями исследований выделены вопросы повышения эффективности и снижения побочного действия лекарственных средств и их внедрение в практику (химиотерапия, иммунофармакология, гомеопатия, пробиотики, фармакокоррекция поведенческих реакций, изучение сорбентов и др. лекарственных средств с позиции нанотехнологии). Отмечено широкое использование результатов научных исследований в сельскохозяйственном производстве и учебном процессе, а также плодотворное сотрудничество с коллегами гуманной медицины (ВУЗы, НИИ), что было начато ещё на первой конференции.

На конгрессе широко были представлены работы практикующих ветеринарных врачей, аспирантов, студентов. По содержанию, новизне представленных в сборнике материалов конгресса он может служить учебно-методическим пособием в области фармакологии, токсикологии и фармации.

Конгресс отмечает высокий уровень организационной работы ректората СПбГАВМ, кафедры фармакологии и токсикологии академии и лично зав. кафедрой фармакологии и токсикологии, профессора Н.Л. Андреевой и В.Д. Соколова - профессора этой кафедры.

Одновременно с этим, конгресс отмечает, что в РФ не осуществляется подготовка специалистов по ветеринарной фармации, практически отсутствует ветеринарная фармация и ветеринарный рынок заполнен дорогими импортными лекарственными средствами. В тоже время препараты, выпускаемые отечественными фирмами, недостаточно контролируются, как в период их производства, так и в период хранения и реализации. Это, прежде всего, связано с отсутствием в РФ ветеринарных фармацевтов и провизоров, а контроль за разработкой, производством и использованием ветпрепаратов выполняет один институт ВГНКИ.

Конгресс постановил:

Одобрить итоги Третьего Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии».

Отметить большой вклад профессоров В.Д. Соколова и Н.Л. Андреевой в создании и постоянной поддержке на протяжении четверти века устойчивого научного информационного поля фармакологии, токсикологии и фармации, подчеркнув особое значение Первой межвузовской научно-производственной конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии» (ЛВИ, 1989).

Продолжить работу по активизации НИР, повышению эффективности и снижению побочного действия лекарственных средств и внедрению в практику менее опасных препаратов: пробиотиков, органических кислот, иммуностимуляторов и др. БАВ.

В целях активизации научных исследований возродить координацию НИР по: фармакологии и лекарственной токсикологии (СПбГАВМ), фармации и фармакологии (ВНИВИПФиТ), токсикологии (ФЦТРБ).

Отметить высокий уровень производства и широкий ассортимент ветеринарных препаратов, выпускаемых отечественной фирмой ООО «НВЦ Агроветзащита»; а также отметить разработки СПБИФ по оптимизации содержания экспериментальных животных и по получению БАВ нового поколения из морских биоценозов.

Обратиться в УМО с предложением о необходимости и важности сохранения в 3-м

стандарте плюс основной специализации «Ветеринарная фармация» учитывая значимость подготовки ветеринарных врачей по ветеринарной фармации.

Учитывая большое значение фармакологии, клинической фармакологии, фармации и токсикологии в подготовке ветеринарных врачей рекомендовать администрации ВУЗов включать в билеты ГАК вопросы по данным дисциплинам, а педагогов этих кафедр в состав членов комиссий.

Считать целесообразным создание Региональных центров по осуществлению контроля за качеством и безопасностью ветпрепаратов (СПбГАВМ, ВНИВИПФиТ, МГАВМиБ, НГАУ, КНИВИ Россельхозакадемии). Обратиться в Министерство образования и науки о целесообразности открытия специальности «Ветеринарная фармация» с подготовкой ветеринарных провизоров (ВУЗы) и ветеринарных фармацевтов (колледжы).

Рекомендовать оргкомитету конгресса опубликовать результаты и решение Третьего Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов в ведущих ветеринарных журналах.

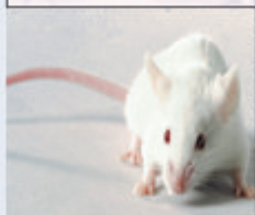
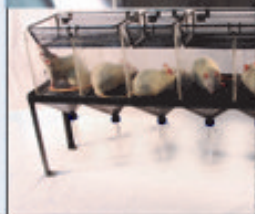
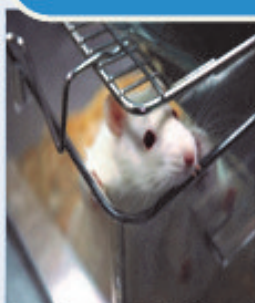
Оргкомитет Третьего Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии»

Санкт-Петербург. 23.05.2014 г.

Санкт-Петербургский Институт Фармации



Токсикологические
исследования
ветеринарных
препаратов



Разработка
препаратов
«под ключ»

Разработка
лекарственной
формы

Клинические
исследования
ветеринарных
препаратов

(812) 331-0126, (812) 322-5605

e-mail: spbpharm@mail.ru

www.ipharm.spb.ru

Профилактика и лечение нарушений
репродуктивной функции у животных

КАРОФЕРТИН®

Эффективен для:

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



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

ALVETRA WERFFT AG

Эксклюзивный дистрибьютор:

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

МВВ

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