



ISSN 2072-2419

№ 4

Международный ВЕСТНИК ВЕТЕРИНАРИИ



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ - 2013

www.gavm.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.

8 кг моркови
в ОДНОЙ инъекции!

Состав:
β-каротин 10 мг/мл
Витамин E



Форма выпуска: флаконы по 100 мл
Производитель: ALVETRA u. WERFFT GmbH, Австрия.
Per. № 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

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
Соколов В.Д., д.в.н. проф., СПб.
Андреева Н.Л., д.б.н., проф., СПб.
Макарова М.Н., д.м.н., проф., СПб.
Рыбакова А.В., к.в.н., СПб.
Сдано в набор 15.01.2014
Подписано к печати 15.01.2014
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.

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

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 ре-
клама публикуются после оплаты. Срок исполне-
ния – в течение 3 месяцев.

Редакция не несет ответственности за содер-
жание рекламных объявлений.

При перепечатке ссылка на журнал обяза-
тельна.

Мнение авторов и редакции по отдельным
вопросам может не совпадать.

Плата с аспирантов за публикацию рукописи
не взимается.

Справки и технические возможности типо-
графии, в которой печатается журнал, оговари-
ваются по телефону (812) 387-11-58.

На 1 странице обложки: Норвежская школа ветеринарии или NVH была государст-
венным университетом, который располагался в Осло. Учебное заведение основано в
1936 году и готовит таких специалистов как ветеринарные врачи, ветеринарные фельд-
шера, специалисты в области безопасности пищевых продуктов. С 6 января 2014 года
ветеринарная школа присоединена к Норвежскому университету естественных наук.

СОДЕРЖАНИЕ

Инва- зионные болезни	• Биохимические показатели крови индюков при эймериозно-гистомонозной инвазии. <i>Харив И.И.</i> 6
	• Эффективность иммунизации инактивированной эмульсионной вакциной против респираторного микоплазмоза и ее ассоциированной формы с вирусными антигенами. <i>Панкратов С.В., Рождественская Т.Н., Придыбайло Н.Д.</i> 12
Незаразные болезни	• Повышение эффективности химиотерапии бронхопневмонии телят с помощью иммуностимуляторов. <i>Войтенко В.Д.</i> 17
Хирургия	• Опыт лечения ран у собак. <i>Слюсар Г.В.</i> 22
	• Клинико-морфологические параллели остеодегенерации в условиях применения имплантов с покрытием на основе сверхтвердых соединений. <i>Мечов М.П., Шакирова Ф.В.</i> 26
	• Гистологическая оценка эффективности лечения гнойного остеомиелита у кошек. <i>Собчишина Т.Н.</i> 31
Фармако- логия, токсиколо- гия, фармация	• Стресс-вызванный кратковременной 3-х часовой иммобилизацией у крыс. <i>Винникова С.В.</i> 35
	• О безопасности и эффективности применения пищевой добавки Дилактин Форте Плюс в производстве мяса кур. <i>Шапеко И. В., Андреева Н.Л., Евелева В.В.</i> 38
	• Влияние мезенхимальных стволовых клеток на восстановление выделительной функции почек у котов при острой экспериментальной почечной недостаточности. <i>Мазуркевич А.И., Бобось А.Л.</i> 44
Зоогигиена, санитария, кормление	• Санитарная оценка рыб при триЕнофорозе, в пресноводных водоемах Якутии, с учетом интенсивности инвазии. <i>Громова М.А., Малтугуева М.Х.</i> 51
Биохимия, анатомия, физиоло- гия	• Оценка влияния пивных дрожжей, цеолита на электрическую активность желудка голубого песца при гиповитаминозе В1. <i>Мантатова Н.В., Тасарунова А.С., Санжиева С.Е.</i> 55
	• Показатели местного иммунитета ротовой полости собак при хроническом катаральном гингивите. <i>Семанюк Н.В., Хомин Н.М.</i> 60
	• Влияние гена KСNQ3 на содержание жира в молоке коров. <i>Мукий Ю.В., Смарагдов М.Г.</i> 65
	• Химический состав жира-сырца лосей в условиях Республики Саха (Якутия). <i>Агеев В.П., Аргунов А.В., Дьячковская Л.С.</i> 68
	• Индикация реовируса методом ПЦР. <i>Ефимова М.А., Гаффаров Х.З., Фаизов Т.Х., Хаммадов Н.И.</i> 72
	• Определение клеточного состава молозива клинически здоровых и больных маститом свиноматок при лечении антистафилококковым препаратом. <i>Корзенников С.Ю.</i> 76
	• Влияние условий содержания и повторности тестирования на поведение крыс линии Вистар в тесте «Открытое поле». <i>Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i> 80
Экспери- менталь- ная фарма- кология	• Особенности состояния гемостаза у крыс. <i>Кашкин В.А., Соколова А.П., Абрашова Т.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i> 88
	• Перспективы применения диквертина для повышения физической выносливости. <i>Ковалева М.А., Селезнева А.И., Гуцина С.В., Макарова М.Н.</i> 94
	• К механизму противовоспалительного действия комплекса, выделенного из печени трески. Антиэкссудативное действие. (сообщений №1). <i>Крышень К.Л., Демченко Д.В., Шиков А.Н. Пожарицкая О.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i> 100
	• Методические указания по экспериментальному Моделированию ЛПС индуцированной острой пневмонии у крыс. Сообщение №1. <i>Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Соколов В.Д., Крышень К.Л., Ходько С.В., Макаров В.Г.</i> 106
	Список статей за 2013 год 117

CONTENTS

Invasive diseases	<ul style="list-style-type: none"> • Biochemical indices of turkeys blood by eumoria and histomonosis invasion. <i>I.I. Chariv.</i> 6 • The estimation of antigenic activity of inactivated vaccines against respiratory mycoplasmosis and chickens' viral infections. <i>S.V. Pankratov, T.N. Rozhdestvenskaya, N.D. Pridy-bailo.</i> 12
Non-communicable disease	<ul style="list-style-type: none"> • An increase of the efficiency of chemotherapy of bronchopneumonia at calves by means of immunostimulators. <i>D. Voytenko.</i> 17
Surgery	<ul style="list-style-type: none"> • Experience treat wounds dogs. <i>G.V. Slusar.</i> 22 • Clinical morphological parallels of osteoregeneration under conditions of applying implants with superhard compound-based coating. <i>M.P. Mechov, F.V. Shakirova.</i> 26 • Pathological evaluation of the effectiveness of treatment of suppurative osteomyelitis in cats. <i>T.N. Sobchyshyna.</i> 31
Pharmacology, toxicology, pharmacy	<ul style="list-style-type: none"> • Stress in rats induced by a short-term at 3 hour immobilization. <i>S.V. Vinnikova.</i> 35 • About safety and efficiency of application of a food additive of dilaktin forte plus in production of chicken meat. <i>I.V. Shameko, N.L. Andreeva, V.V. Eveleva.</i> 38 • Impact mesenchymal stem cells for renal excretory function recovery in cats by experimental acute renal failure. <i>A. Y. Mazurkevich, A.I. Bobos'.</i> 44
Zoohigiene, feeding	<ul style="list-style-type: none"> • Sanitary assessment of fishes at Triaenophorus, in fresh-water reservoirs of Yakutia, taking into account intensity of an invasion. <i>M.A. Gromova, M.H. Maltuguyeva.</i> 51
Biochemistry, anatomy, physiology	<ul style="list-style-type: none"> • The analysis of the influence of beer yeast zeolite on electrical activity of the stomach of a polar fox suffering from hypovitaminosis B₁. <i>N.V. Mantatova, A.C. Tasarunova, S.E. Sanzhieva, Ch. B. Kusheev.</i> 55 • The ardices of local immunity of cavity in dogs at chronical cataral snhibitits. <i>N.V. Semaniuk, N.M. Khomyn.</i> 60 • Association set a marker in the gene KCNQ3 with a fat content in the milk of cows black-and-white breed. <i>U.V. Muky, M.G. Smaragdite.</i> 65 • Chemical composition of fat raw of elks in the conditions of the Republic of Sakha (Yakutia) <i>V.P. Ageev, A.V. Argunov, L.S. Dyachkovskaya.</i> 68 • PCR detection of reovirus. <i>M.A. Efimova, H.Z. Gaffarov, T.H. Faizov, N.I. Hammad.</i> 72 • Detection of the cells content of a colostrum of clinically healthy and suffering mastitis sows. <i>S. Korennikov.</i> 76
Experimental pharmacology	<ul style="list-style-type: none"> • Influence of contents and retesting behavior Wistar rats in the test "open field". <i>E.V. Shekunova, V.A. Kashkin, M.N. Makarova, V.G. Makarov.</i> 80 • Features of homeostasis in rat. <i>V. Kashkin, A. Sokolova, T. Abrashova, M. Makarova, V. Makarov.</i> 88 • Prospects of Diquertin to increase physical stamina. <i>M.A. Kovaleva, A.I. Selezneva, S.V. Gushina, M.N. Makarova.</i> 94 • To anti-inflammatory mechanisms of compex derived from the Cod liver. Carrageenan air pouch model in the rat. <i>K.L. Kryshen, D.V. Demchenko, O.N. Pozharitskaya, M.N. Makarova.</i> 100 • Guidelines for: Experimental modeling of LPS induced acute PNEUMONIA IN RATS. number 1. <i>A.V. Rybakova, M.N. Makarova, V.D. Sokolov, K.L. Kryshen, S.V. Khodko, V.G. Makarov.</i> 106
	<ul style="list-style-type: none"> • List of articles in 2013 117



**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
КРОВИ ИНДЮКОВ ПРИ
ЭЙМЕРИОЗО-ГИСТОМОНОЗНОЙ ИНВАЗИИ**

И.И. Харив (ЛНУВМ и БТ им. С.З. Гжицкого)

Ключевые слова: кровь, эймерии, гистомонады, иммунная система, белоксинтезирующая функция печени, ферменты крови.

Key words: blood, eimerii, gistomonady, immune system, protein synthesis, liver function, blood enzymes.



Существенной преградой на пути повышения производительности в индюководстве является нематодозы и эймериозы. Целью проведенных исследований является изучение биохимических показателей крови индюшат при возникновении ассоциативной эймериозо-гистомонозной инвазии. В сыворотке крови зараженных индюшат, по сравнению с клинически здоровыми, уровень альбуминов на 36,7%, а уровень общего белка на 10,3%, ниже, вследствие действия протозойных токсинов на гепатоциты. Повышение уровня глобулинов на 9,8% отражает интенсивность воспалительных процессов слизистой оболочки кишечника. Активность АсАТ на 91,2% выше. Активность АлАТ в 2,5 раза выше. Повышена активность лактатдегидрогеназы и гаммаглутамилтрансферазы - соответственно на 47,1% и 29,6%. Активность каталазы на 37,2% выше, что указывает на глубокие деструктивные процессы в гепатоцитах. Активность щелочной фосфатазы на 85,5% ниже, что обусловлено поражением энтероцитов слизистой оболочки кишечника. Количество лейкоцитов на 73,3% больше, а общее количество лимфоцитов на 42,4% меньше, что указывает на значительное угнетение клеточного иммунитета и наличие в организме воспалительных процессов. Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) составляет $34,34 \pm 1,62\%$ против $25,74 \pm 2,36\%$ у клинически здоровых, что указывает на подавление иммунореактивной системы организма вследствие присоединения специфических антител к продуктам метаболизма эймерий и гистомонад, выступающих в роли антигенов. Угнетение неспецифической иммунной системы проявляется снижением фагоцитарной активности лейкоцитов на 16% и уменьшением фагоцитарного числа на 22%. Установлено угнетение бактерицидной активности (БАСК) на 21% и лизоцимной активности (ЛАСК) на 24,4%, повышение уровня серомукоидов (иммуносупрессивные белки) с $0,18 \pm 0,03$ мг/см³ до $0,34 \pm 1,05$ мсм³, указывающее на иммунодепрессивное действие токсинов эймерий и гистомонад на иммунную систему вследствие хронического катарального воспаления слизистой оболочки кишечника. Эймериозо-гистомонозной инвазии у индюков вызывают подавление клеточной, гуморальной и неспецифической иммунных систем и приводят к вторичному иммунодефициту, что становится причиной поражения птицы вторичной бактериальной или вирусной инфекцией.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из важных и перспективных направлений в мясном птицеводстве является индюководство. Разведение индюков - это выгодный и надежный резерв увеличения производства птичьего мяса. Эта отрасль дает возможность в короткий срок выработать значительное количество высокопитательного мяса с минимальными затратами труда и средств на единицу продукции. Благодаря тому, индюки имеют достаточно короткий срок откорма. Средняя масса индеек мясных пород в 6-ти месячном возрасте достигает 13-14кг, а масса откормленного индюка более 20кг [1]. В последние годы в Украине существенно сократилось количество племенных и товарных хозяйств по выращиванию индюков, однако их поголовье значительно увеличилось в фермерских и приусадебных хозяйствах [1]. Существенное увеличение объемов производства мяса птицы можно достичь в условиях научно-обоснованной системы ведения этой отрасли. Особое значение приобретают вопросы всестороннего изучения инфекционных и инвазионных заболеваний с учетом краевой эпизоотологии, так как существенной преградой на пути повышения производительности в птицеводстве является нематодозы и эймериозы. Локализация возбудителей в пищеварительном канале подавляет развитие птицы в результате действия токсических метаболитов [2, 3, 4, 5]. В молодом возрасте на индюшат действуют различные стресс-факторы - неполноценное кормление, неадекватные условия содержания, бактериальные инфекции, гельминтозные и протозоозные инвазии, что приводит к снижению естественной резистентности организма и угнетения кроветворной функции костного мозга, белоксинтезирующей функции печени. Токсины снижают активность клеточного, гуморального и неспецифического иммунитета, что приводит к развитию вторичного иммунодефицита

[6,7,8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Целью наших исследований было изучить биохимические показатели крови индюшат при возникновении ассоциативной эймериозо-гистомонозной инвазии. Для исследования морфологических и биохимических показателей крови, из группы индюшат, пораженных эймериозо-гистомонозной инвазией, отобрали 20 голов в которых с подкрыльцовые вены взяли кровь в пробирки, стенки увлажнили раствором гепарина. Контрольной группой были 20 индюшат-аналогов клинически здоровых с другого брудера данного хозяйства. Индюшата содержались в обычных хозяйственных условиях, кормление проводили комбикормом, вареным картофелем, овощами (листья капусты, трава крапивы).

В сыворотке крови исследовали общий белок, альбумины, глобулины, аспартат-аминотрансферазы (АсАТ), аланин-аминотрансферазы (АлАТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), щелочную фосфатазу (ЩФ) и каталазу. Так же в крови определяли количество лейкоцитов, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК), лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК), циркулирующие иммунные комплексы ЦИК, уровень серомукоид, фагоцитарную активность лейкоцитов, фагоцитарный индекс и фагоцитарное число.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

О состоянии белоксинтезирующей функции печени указывает уровень общего белка, особенно его альбуминовой фракции в сыворотке крови животных и птицы при различных патологических состояниях организма. Известно, что 80% альбуминов синтезируется гепатоцитами в печени. При поражении птицы гельминтами и протозоо, вследствие действия их токсинов на гепатоциты, уменьшается белокси-

Таблица 1

Содержание белка и его фракций в сыворотке крови индеек, пораженных эймериозо-гистомонозной инвазией (M ± m; n = 20)

Показатели	Клинически здоровые	Больные	Степень достоверности
Белок общий, г/л	59,8±1,3	54,2±1,6	<0,05
Альбумины, г/л	26,8±1,6	18,6±0,8	<0,001
Глобулины, г/л	32,4±1,4	35,6±1,2	<0,05
Коэффициент А/Г	0,80±0,04	0,52±0,08	<0,001

Таблица 2

Активность ферментов в сыворотке крови индеек, пораженных эймериозо-гистомонозной инвазией (M ± m; n = 20)

Показатели	Клинически здоровые	Больные	Степень достоверности
АсАТ, ммоль/л	126,5±2,5	241,6±2,4	<0,001
АлАТ, ммоль/л	1970,4±14,3	4910,8±28,4	<0,001
Коэффициент АсАТ/АлАТ	0,64±0,02	0,49±0,05	<0,001
ЛДГ, ммоль/л	575,4±16,3	846,5±13,5	<0,001
ГГТ, ммоль/л	74,6±2,3	96,7±2,8	<0,025
ЛФ, ммоль/л	230,8±18,2	124,6±14,3	<0,001
Каталаза, ммоль/л	348,7±14,6	254,2±16,8	<0,001

нтезующая функция печени. В наших опытах (табл. 1) установлено, что по клиническому проявлению эймериозо-гистомонозной инвазии у индюков уровень альбуминов в сыворотке крови на 36,7% ниже, чем у клинически здоровых. Но уровень общего белка в сыворотке крови был лишь на 10,3% ниже. Это обусловлено тем, что наряду со снижением уровня альбуминов в сыворотке крови повысился уровень глобулиновой фракции белка на 9,8%. Это привело к альбумино-глобулиновой диспропорции в сыворотке крови больной птицы. Вследствие этого величина А/Г коэффициента составляла 0,52±0,08 (p <0,001), против 0,80±0,04 у клинически здоровых индюков.

Итак, у индюков, пораженных эймериозо-гистомонозной инвазией, подавляется синтез альбуминов в печени вследствие действия протозойных токсинов на гепатоциты. А повышение уровня глобулинов в сыворотке крови отражает интенсивность воспалительных процессов слизистой оболочки кишечника.

Важным диагностическим показателем токсического действия протозойных метаболитов на печень является исследование активности индикаторных для печени ферментов в сыворотке крови индеек при эймериозо-гистомонозной инвазии.

Индикаторными для оценки физиологического состояния печени при различных патологических состояниях является активность в сыворотке крови ферментов переаминирования - АлАТ и АсАТ. Эти ферменты участвуют в процессах фосфорилирования - ЛДГ ГГТ, и в процессах окисления - ЩФ и каталаза. Результатами исследований активности указанных ферментов в сыворотке крови индеек при эймериозо-гистомонозной инвазии приведены в таблице 2.

Установлено, что у индюков, пораженных эймериозо-гистомонозной инвазией в крови повышается активность ферментов причиной которой является специфическое действие каждого фермента. Активность АсАТ в сыворотке крови больных индеек была на 91,2% выше, а ак-

тивность АлАТ в 2,5 раза выше по сравнению с клинически здоровой птицей.

Аминотрансферазы, в основном, находятся в гепатоцитах и проникают в кровь при увеличении проницаемости клеточных мембран для ферментов за действия эндогенных и экзогенных токсинов. Именно повышение активности этих ферментов является показателем состояния клеточных мембран гепатоцитов.

Неодинакова активность АсАТ и АлАТ в сыворотке крови больных индеек обусловлена рядом факторов внутриклеточной локализации аминотрансфераз. АлАТ находится в цитоплазме гепатоцитов, окруженная клеточной оболочкой. АсАТ находится в митохондриях, имеющих собственную биологическую мембрану. Именно поэтому, чтобы АсАТ проникла в кровь, ей необходимо преодолеть две биологические мембраны. А это возможно, если токсины влияют на проницаемость клеточной и митохондриальной оболочек.

Следовательно, высокая активность АсАТ в сыворотке крови указывает на глубокие деструктивные процессы в гепатоцитах. Диагностическим показателем

таких процессов является величина коэффициента АсАТ / АлАТ. В наших опытах установлено, что в индюков, пораженных эймериозо-гистомонозной инвазией коэффициент АсАТ / АлАТ составляет $0,49 \pm 0,05$ против $0,64 \pm 0,02$, что на 30,6% меньше чем в клинически здоровой птицы. Следовательно, уменьшение величины коэффициента АсАТ/АлАТ указывает на наличие глубоких дистрофических процессов в биологических мембранах гепатоцитов. В сыворотке крови больных индеек установлена высокая активность лактатдегидрогеназы и гаммаглутамилтрансферазы - соответственно 47,1% и 29,6%. Это внутриклеточные ферменты, локализующиеся в гепатоцитах печени. Они проникают в кровь при деструкции клеточных мембран. Активность каталазы в крови больных индеек была на 37,2% выше по сравнению с клинически здоровыми. Учитывая, что каталаза в больших количествах находится в лейкоцитах, возможно, что высокая активность фермента обусловлена увеличением количества лейкоцитов, что установлено у больных индеек.

Активность щелочной фосфатазы в

Таблица 3

Показатели иммунной системы индюков, пораженных эймериозо-гистомонозной инвазией ($M \pm m$; $n = 20$)

Показатели	Клинически здоровые	Больные	Степень достоверности
Клеточный иммунитет			
Лейкоциты, Г/л	$3,45 \pm 0,14$	$5,98 \pm 0,56$	<0,001
Лимфоциты, Г/л	$88,6 \pm 2,24$	$6,22 \pm 2,15$	<0,001
Т-лимфоциты (Е-РУЛ) Г/л	$0,12 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,02$	<0,025
В-лимфоциты (ЕАС-РУЛ) Г/л	$0,32 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,06$	<0,025
Гуморальный иммунитет			
ЛАСК, %	$26,4 \pm 1,2$	$21,2 \pm 1,4$	<0,05
БАСК, %	$68,5 \pm 2,4$	$56,3 \pm 2,6$	<0,05
ЦК, %	$25,7 \pm 2,3$	$34,3 \pm 1,6$	<0,05
Серомукоиды, мг/см ³	$0,18 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,05$	<0,001
Неспецифический иммунитет			
ФАЛ, %	$42,3 \pm 0,5$	$36,5 \pm 0,4$	<0,05
ФІ, од	$14,6 \pm 1,1$	$12,2 \pm 0,8$	<0,025
Фч, од	$5,32 \pm 0,14$	$4,36 \pm 0,16$	<0,025

сыворотке крови индеек при эймериозо-гистомонозной инвазии была на 85,5% ниже, чем у клинически здоровой птицы. Снижение активности обусловлена поражением энтероцитов слизистой оболочки кишечника токсическими продуктами метаболизма эймерий и гистомонад, что паразитируют в тонком кишечнике и в слепых отростках кишечника.

Иммунная система организма животных и птицы обеспечивает резистентность организма против бактериальных и вирусных инфекций. При гельминтозных и протозоонозных заболеваниях подавляется функциональное состояние иммунной системы и наступает вторичный иммунодефицит.

Установлено (табл. 3), что эймерии и гистомонады, паразитирующие в кишечнике индеек, выделяют продукты метаболизма, подавляют специфическую фазу иммунитета представленную антителами (гуморальный тип), снижают активность сенсibilизированных клеток (клеточный тип), замедляют неспецифическую фазу иммунитета, представлена различными иммунными клетками.

При исследовании величин показателей клеточного иммунитета установлено, что у больных индеек количество лейкоцитов на 73,3% больше, а количество лимфоцитов на 42,4% меньше по сравнению с клинически здоровой птицей. Наряду с уменьшением общего количества лимфоцитов установлено уменьшение количества Т-лимфоцитов на 33,5% и В-лимфоцитов на 23,4%. Полученные результаты указывают на то, что наступило значительное угнетение клеточного звена иммунитета и наличие в организме воспалительных процессов о чем указывает лейкоцитоз.

Уменьшение количества Т-и В-лимфоцитов в крови индеек, которые инвазированы эймериями и гистомонадами, свидетельствует об угнетении лимфоидной системы иммунитета и снижение

резистентности организма против бактериальных и вирусных инфекций. Необходимо отметить, что при гельминтозных и протозойных инвазиях активизируется патогенность сапрофитной микрофлоры кишечника.

Уменьшение количества Т-лимфоцитов на 33% и В-лимфоцитов на 23% у индюков, пораженных эймериозо-гистомонозной инвазией, мы объясняем действием токсинов протозоо на иммунную систему больной птицы. При исследовании величин показателей гуморального иммунитета установлено, что у больных индюшат в крови уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) составлял $34,34 \pm 1,62\%$ против $25,74 \pm 2,36\%$ у клинически здоровых ($p < 0,001$). Высокий уровень ЦИК в сыворотке крови указывает на подавление иммунореактивной системы организма вследствие присоединения специфических антител к продуктам метаболизма эймерий и гистомонад, выступающие в роли антигенов. В сыворотке крови больных индеек установлено повышение уровня серомукоидов (иммуносупрессивные белки) с $0,18 \pm 0,03$ мг/см³ до $0,34 \pm 1,05$ м см³ ($p < 0,005$), что указывает на иммунодепрессивное действие токсинов эймерий и гистомонад на иммунную систему вследствие хронического катарального воспаления слизистой оболочки кишечника.

При исследовании антимикробной активности сыворотки крови установлено угнетение бактерицидной активности (БАСК) на 21% и лизоцимной активности (ЛАСК) на 24,4%. Наряду со снижением активности гуморального иммунитета у больных индеек установлено угнетение неспецифической иммунной системы, что проявляется снижением фагоцитарной активности лейкоцитов на 16%, уменьшением фагоцитарного числа на 22%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В слизистой оболочке кишечника паразитируют эймерии и гистомонады, ко-

торые выделяют продукты метаболизма, действующие токсично на различные системы и ткани индеек. Продукты метаболизма паразитов действуют губительно на гепатоциты, что приводит к снижению белоксинтезирующей функции печени, повышается проницаемость биологических мембран клеточных оболочек, что приводит к повышению активности ферментов в сыворотке крови. Деструкция энтероцитов слизистой оболочки кишечника приводит к снижению активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови индеек пораженных еймериозо-гистомонозной инвазией. По клиническому проявлению еймериозо-гистомонозной инвазии у индюков подавляется клеточная, гуморальная и неспецифическая иммунные системы и наступает вторичный иммунодефицит. Это становится причиной поражения птицы вторичной бактериальной или вирусной инфекцией.

Biochemical indices of turkeys blood by eumoria and histomonosis invasion.

I.I. Chariv.

SUMMARY

Essential barrier on the way of the increase of productivity of turkey –cock farming are nematosis and eimeriosis. The purpose of the conducted researches was to analyze biochemical blood indicators of turkey-cocks at associated gistomonosis-eimeriosis invasion. In blood serum of the infected turkey-cocks, in comparison with clinically healthy ones, albumin level was for 36, 7%, and general protein level was for 10, 3% below, owing to effect of protozoan toxins on hepatocytes. Increase of the level of globulins for 9, 8% reflects intensity of inflammatory processes of a mucous membrane of intestines. Activity of As AT was for 91, 2% higher. Activity of Al AT was 2, 5 times higher. Hyperactivity of lactate-dehydrogenase and gamma-glutamyl-transferase were, respectively, for 47, 1% and 29, 6%. Activity of a catalase was 37, 2% higher, that points out deep destructive

processes of the hepatocytes. Activity of alkaline phosphatase was 85, 5% lower, that was caused by defeat of the enterocytes of a mucous membrane of intestines. The amount of leukocytes was 73, 3% more, and total amount of lymphocytes was 42, 4% less, that points to considerable oppression of cellular immunity and existence in an organism of inflammatory processes. Level of the circulating immune complexes (CIC) were $34,34 \pm 1,62\%$ vs. $25,74 \pm 2,36\%$ at clinically healthy, that points to suppression of immune-reactive system of an organism, owing to accession of specific antibodies to products of a metabolism of eimerias and gistomonades, acting as anti-genes. Suppression of nonspecific immune system was shown by decrease in phagocyte activity of leukocytes for 16% and reduction of phagocytes amount by 22%. Suppression of bactericide activity (BASQUE) on 21% and lyzocym activity (LASK) for 24,4%, increase of the level of serum-mucoides (immune-suppressive proteins) from $0,18 \pm 0,03 \text{ mg/cm}^3$ to $0,34 \pm 1,05 \text{ msm}^3$, indicating immunosuppressive effect of eimerias and gistomonades toxins on immune system, owing to a chronic catarrhal inflammation of a mucous membrane of intestines, were established. Eimeriosis -gistomonosis invasion in turkey-cocks cause suppression of cellular, humoral and nonspecific immune systems, and lead to a secondary immunodeficiency, that becomes the reason of the defeat of a bird by the secondary bacterial or virus infection.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березовский А.В. Атлас гельминтов животных. - М.: ВЕТИНФОРМ. -2001. - 118с.
2. Богач М.В., Тараненко И.Л. Паразитарные болезни индеек фермерских и приусадебных х хозяйств юга Украины /М.В. Богач, И.Л. Тараненко //Аграрный вестник Причерноморья: Сб. нак. работ. - Одесса. -2003. - Вип.21. - С. 311-317.
3. Вержиховский А. Эпизоотическое сос-

тояние птицеводства в Украине // Ветеринарная медицина Украины. - 2007.
4. Кобцова Г. Индейки - это выгодно // Птицеводство. -2001. - №4. -С. 18-19.
5. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования окружающей среды. - М.: Росагропромиздат. -1991. - 144с.
6. Масляно Р.П. Основы иммунологии. / Р.П. Масляно - М.: Вертикаль, - 1995. - № 547. - С. 427.
7. Машка И.А., Захаров А.И. Эктопарази-

ты птиц в фермерских и приусадебных хозяйствах Крыма // Вет. медицина: Межвед. темат. науч. сб. - Харьков. -2002. - № 80. - С. 423-428.
8. Тимофеев Б.А. Эймериоз птиц /Б.А. Тимофеев // Ветеринарный консультант. - М. -2004. - №5. - С. 6-10.

УДК 619:616.921.4

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНИЗАЦИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬСИОННОЙ ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ РЕСПИРАТОРНОГО МИКОПЛАЗМОЗА И ЕЕ АССОЦИИРОВАННОЙ ФОРМЫ С ВИРУСНЫМИ АНТИГЕНАМИ

С.В. Панкратов, Т.Н. Рождественская, Н.Д. Придыбайло (НПП «АВИВАК»)

Ключевые слова: вакцина, вакцинация, респираторный микоплазмоз, инфекционный бронхит кур, ньюкаслская болезнь, синдром снижения яйценоскости-76, антитела.

Key words: *vaccine, vaccination, respiratory mycoplasmosis, chickens' infectious bronchitis, Newcastle disease, egg drop syndrome-76, antibodies.*



Цель работы – определение динамики выработки и сроков выявления антител при ассоциированной иммунизации инактивированными вакцинами «РМ» и «ИБК+НБ+ССЯ-76» в сравнении с иммунизацией вакциной «РМ+ИБК+НБ+ССЯ-76». Испытания проводили на цыплятах 30-суточного возраста, которых вакцинировали подкожно область нижней трети шеи моновакциной «РМ». Через 2 мес. цыплят разделили на подгруппы. Птиц 1-й подгруппы иммунизировали вакциной «РМ», 2-й – «ИБК+НБ+ССЯ-76», 3-й – «РМ+ИБК+НБ+ССЯ-76», а 4-й – «РМ» и «ИБК+НБ+ССЯ-76». Титр антител к вирусу ИБК и *M.gallisepticum* определяли в ИФА, а к вирусам НБ и ССЯ-76 в РТГА. Титр антител к *M.gallisepticum* у цыплят до иммунизации был отрицательный 1:335. Средние титры после первого введения моновакцины «РМ» у цыплят через 1 и 2 мес находились в пределах 1:5320 – 1:6935. Ревакцинация цыплят моновакциной приводила к повышению иммунной реакции через 1 мес. в 2,3 раза. У цыплят иммунизированных второй раз вакциной без микоплазменного антигена, регистрировали снижение специфических антител к *M. gallisepticum* (1:3175). В 3-й и 4-й подгруппах после второй вакцинации цыплята имели почти одинаковые титры антител к *M. gallisepticum* 1:10761 и 1:11006, соответственно. Антигенная активность по валентности ИБК во 2-й подгруппе цыплят была выше (1:12662) по сравнению с 3-й (1:7901) и 4-й (1:8584). Титр специфиче-

ских антител к вирусам НБ и ССЯ-76 в ответ на введение ассоциированных вариантов вакцин находился на одном высоком уровне. Доказано, ассоциированная инактивированная эмульсионная вакцина «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76+РМ» вызывает у цыплят образование высокого защитного уровня антител по всем компонентам, хотя к антигену *M. gallisepticum* несколько ниже, чем после двукратного применения моновакцины «АВИВАК-РМ». Ассоциированная вакцина «АВИВАК-РМ+ИБК+НБ+ССЯ-76» обеспечивает формирование напряженного иммунитета, сопоставимого с иммунитетом, создаваемым при раздельном введении вакцин «АВИВАК-РМ» и «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76».

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблема смешанных инфекций в промышленном птицеводстве чрезвычайно актуальна в связи с возрастающей частотой проявления ассоциированных форм патологии птиц. При смешанных вирусных и вирус-бактериальных инфекциях затруднена не только своевременная и точная диагностика болезни, но и существенно снижается эффективность противоэпизоотических мероприятий, нанося существенный экономический ущерб отрасли [1]. Одним из эффективных средств профилактики инфекционных болезней является применение ассоциированных вакцин включающие как вирусные, так и бактериальные антигены [6].

Главным преимуществом ассоциированных инактивированных вакцин по сравнению с моновакцинами, как известно, является: создание у привитых птиц напряженного и продолжительного иммунитета одновременно к нескольким возбудителям, сокращение количества вакцинаций и стрессовых факторов, снижение трудозатрат на проведение иммунизации [3].

Смешанные инфекции очень часто сопровождаются проявлением респираторного синдрома, ключевую роль в развитии которого играет *M. gallisepticum*. [5].

В НПП «АВИВАК» разработана вакцина инактивированная эмульсионная «АВИВАК-РМ» против респираторного микоплазмоза (РМ), которая успешно применяется в птицеводствах [2,5]. С

учетом того, что сроки ревакцинации против РМ совпадают с применением инактивированной вакцины против инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни и синдрома снижения яйценоскости («АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76»), нами была поставлена задача исследовать антигенную активность при включении в нее компонента *M. gallisepticum*, а также при их раздельном применении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения антигенов использовали штаммы «S₆» *M. gallisepticum*, «Чапаевский» ИБК, «Ла-Сота» НБ и «В8/78» ССЯ-76. Инактивацию биологического материала проводили мертиолятом или формалином, образцы антигенов эмульгировали с масляным адьювантом ISA-70 в соотношении 30:70.

Было изготовлено 3 варианта инактивированных эмульсионных вакцин:

- образец № 1, против респираторного микоплазмоза птиц – «АВИВАК-РМ»,
- образец № 2, против инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни и синдрома снижения яйценоскости – «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76»,

- образец № 3, против инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни, синдрома снижения яйценоскости и респираторного микоплазмоза птиц – «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76 +РМ».

Концентрация антигена РМ в образцах вакцин №1 и №3 была одинакова. Аналогично были изготовлены образцы №2 и №3 по компонентам ИБК, НБ и ССЯ-76.

Все образцы вакцин были исследова-

Таблица 1
 Результаты исследований уровня антител в сыворотках крови молодняка кур

№ группы	Наименование вакцины	Титр антител в ИФА				Титр антител в РТГА								
		к M. gallisepticum				к вирусу								
		ИБК		НБ		ИБК		НБ		ССЯ-76				
		до 1 вак-ции	через 1 мес после 1 вак.	через 2 мес после 1 вак.	через 1 мес после 2 вак.	до 1 вак.	через 1 мес после 1 вак.	до 1 вак.	через 1 мес после 1 вак.	до 1 вак.	через 1 мес после 1 вак.			
1	I вак. «PM», II вак. «PM»	335	3564	6935	16289									
2	I вак. «PM», II вак. «ИБК+НБ+ССЯ-76»	407	2380	5485	3175	1375	12662	7,1	11,1	0	7,9			
3	I вак. «PM», II вак. «ИБК+НБ+ССЯ76+PM»	343	2896	5320	10761	1586	7901	7,1	11,5	0	7,83			
4	I вак. «PM», II вак. «PM» «ИБК+НБ+ССЯ-76»	321	2496	5769	11006	1222	8584	7,0	11,7	0	7,85			
5	КОНТРОЛЬ	393	387	470	435	1634	1007	7,0	6,9	0	0			

ны на стерильность, стабильность, вязкость и безвредность согласно общепринятым методам.

Для определения антигенной активности было сформировано 5 групп цыплят «Ломанн-Браун» 30-суточного возраста по 10 голов в каждой. Птиц с 1-й по 4-ю группу вакцинировали моновакциной «АВИВАК-PM» в объеме 0,5 см³ подкожно, в область нижней трети шеи. Пятая группа была интактным контролем.

Через 60 дней после первой провели вторую иммунизацию, птиц 1-й группы вакциной «АВИВАК-PM», 2-й – «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76», 3-й – «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76+PM», аналогичным методом, как и при первой вакцинации. Птиц 4-й группы повторно иммунизировали вакцинами «АВИВАК-PM» и «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76», которые вводили в объеме по 0,5 см³ внутримышечно в правое и левое бедро соответственно.

Кровь для серологических исследований от птиц получали за сутки до и через 1 и 2 мес. после первой, а также через 1 мес. после второй иммунизации. Титр антител к вирусам НБ и ССЯ-76 определяли в РТГА по общепринятой методике, а к вирусу ИБК и M. gallisepticum иммуноферментным анализом (ИФА), с использованием тест-систем производства НПП «АВИВАК». За положительный результат принимали титр антител к НБ – 4,0 log₂, ССЯ-76 – 5,0 log₂, ИБК - 1:765 и M. gallisepticum - 1:1029.

Статистическую оценку результатов титра антител проводили по Лакину Г.Ф., 1990, путем измерения средней арифметической (X), ошибки средней арифметической (S_x), критерия Стьюдента (t-тест) и достоверности различий в группах (P)[4].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изготовленные инактивированные эмульсионные вакцины представляли однородную эмульсию белого цвета, имели необходимую стабильность и вязкость,

были стерильными и безвредными – полностью соответствовали классу подобных препаратов.

Данные уровня антител в сыворотках крови птиц опытных и контрольной группы представлены в таблице 1.

Титр антител к *M.gallisepticum* у цыплят до иммунизации был отрицательный 1:335. Средние титры на введение моновакцины против РМ во всех подопытных группах цыплят через 1 и 2 мес различались незначительно и находились в пределах 1:5320 – 1:6935 ($P<0,05$). Ревакцинация моновакциной цыплят в первой подгруппе приводила к повышению иммунной реакции через 1мес. в 2,3 раза.

У цыплят второй подгруппы, которых иммунизировали ассоциированной вакциной без микоплазменного антигена, регистрировали снижение специфических антител к *M. gallisepticum* (1:3175), что служит подтверждением о недостаточности однократной иммунизации моновакциной против РМ для обеспечения необходимого уровня антител. В третьей и четвертой подгруппах, где применяли ассоциированную вакцину «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76+РМ» и одновременно вакцины «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76» и «АВИВАК-РМ» цыплята имели почти одинаковые титры антител к *M. gallisepticum* 1:10761 и 1:11006, соответственно, но ниже, чем при двукратном введении моновакцины против «РМ».

Антигенная активность по валентности ИБК во второй подгруппе цыплят, иммунизированных ассоциированной вакциной без антигена *M. gallisepticum* была выше (1:12662) по сравнению с третьей (1:7901) и четвертой (1:8584) подгруппой цыплят, привитых вакцинами с антигеном *M. gallisepticum*.

Следует подчеркнуть, что титр специфических антител к вирусам НБ и ССЯ-76 в ответ на введение ассоциированных вариантов вакцин находился на одном уровне и составил около 11,7 и 7,9 \log_2 , соот-

ветственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ вышеизложенных результатов говорит, что ассоциированная инактивированная эмульсионная вакцина «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76+РМ» вызывает у цыплят образование высокого защитного уровня антител по всем компонентам, хотя к антигену *M. gallisepticum* несколько ниже, чем после двукратного применения моновакцины «АВИВАК-РМ».

Ассоциированная вакцина «АВИВАК-РМ+ИБК+НБ+ССЯ-76» обеспечивает формирование напряженного иммунитета, сопоставимого с иммунитетом, создаваемым при отдельном введении вакцин «АВИВАК-РМ» и «АВИВАК-ИБК+НБ+ССЯ-76» при этом происходит сокращение количества вакцинаций и стрессовых факторов, снижаются затраты на приобретение вакцин и проведение иммунизации.

The estimation of antigenic activity of inactivated vaccines against respiratory mycoplasmosis and chickens' viral infections.

S.V. Pankratov, T.N. Rozhdestvenskaya, N.D. Pridybailo.

SUMMARY

The work purpose – definition of dynamics of development and terms of identification of antibodies at the associated immunization by the inactivated vaccines of "RM" and "IBK+NB+SSYa-76" in comparison with immunization by "RM+IBK+NB+SSYa-76" vaccine. Tests were carried out on chickens of 30-day age, that were vaccinated subcutaneously at the bottom third of a neck by "RM" monovaccine. In 2 months chickens were divided into subgroups. Birds of the 1-st subgroup were immunized by vaccine «RM», the 2-nd – "IBK+NB+SSYa-76", the 3-rd – "RM+IBK+NB+SSYa-76", and the 4th – "RM" and "IBK+NB+SSYa-76. Titer of antibodies to virus IBK and *M. gallisepticum*

was defined in ELISA, and to viruses NB and SSYa-76 in RIGA. Chickens had a negative titer of antibodies *M.gallisepticum* before immunization 1:335. Average titer after first vaccination by mono -vaccine of "RM" at chickens in 1 and 2 month was within 1:5320 – 1:6935. Revaccination of chickens by mono –vaccine led to the increase of immune reaction in a month in 2, 3 times. At chickens second time immunized by vaccine without mycoplasma anti-gene, was registered decrease of specific antibodies to *M. gallisepticum* (1:3175). At the 3-rd and 4-th subgroups, chickens, second time vaccinated, had almost identical titers of antibodies to *M. gallisepticum* 1:10761 and 1:11006, respectively. Anti-gene activity on IBK valence at the 2-nd subgroup of chickens was higher (1:12662) in comparison with the 3-rd (1:7901) and the 4-th (1:8584). The titer of specific antibodies to viruses NB and SSYa-76 in response to injection of the associated variants of vaccines was at one high level. It is proved, the associated inactivated emulsion vaccine of "AVIVAK-IBK+NB+SSYa-76+RM" causes in chickens formation of high protective level of antibodies to all components, though to the antigen of *M. gallisepticum* is slightly lower, than after double application of a mono-vaccine of "AVIVAK-RM". The associated vaccine of "AVIVAK-RM+IBK+NB+SSYa-76" provides formation of the intense immunity, comparable to immunity, created at separate introduction of vaccines of "AVIVAK-RM" and "AVIVAK-IBK+NB+SSYa-76".

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев А.С., Бурлаков М.В., Громов И.Н., Селиханова М.К., Таймасуков А.А., Алиева А.К. Ассоциативное течение инфекционной анемии цыплят и инфекционной бурсальной болезни // Ветеринария. – 2013. -№ 3. - С. 3-7.
2. Борисенкова А.Н., Рождественская Т.Н. Респираторный микоплазмоза птиц // Птицеводство. – 2008. -№ 1. – С. 12-14.

3. Борисов В., Долгов Д., Фролов С., Борисов А. Пятивалентная инактивированная вакцина для профилактики вирусных болезней птиц // Ветеринария. -2009. -№3. -С. 39-41.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия // М.: «Высшая школа». – 1990. – 352с.
5. Рождественская Т.Н., Борисенкова А.Н., Панкратов С.В. Микоплазмоз птиц: особенности эпизоотологии, диагностики и профилактики // Российский ветеринарный журнал. – 2006. - №3. – С. 38-40.
6. Рождественская Т.Н., Панкратов С.В., Белкин В.А., Гаврилов С.Н. Эффективность ассоциированных вакцин против вирусных и микоплазменных инфекций // VI Межд. вет. конг. по птицеводству. -М. -2010. -С. 48-51.



НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК 619.615.28

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ БРОНХОПНЕВМОНИЙ ТЕЛЯТ С ПОМОЩЬЮ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ

В.Д.Войтенко (СПбГАВМ)

Ключевые слова: телята, бронхопневмония, тимоген, маримикс 5:0.

Key words: calves, bronchopneumonia, timogen, marimiks 5:0.

Цель исследований выяснение влияния нового иммуностимулятора Маримикс 5:0 на эффективность антибиотикотерапии бронхопневмонии телят с использованием гентамицина в сравнительном аспекте с иммуностимулятором тимогеном и импортным антибиотиком ресфлор. Опыт провели в течение апреля месяца. Больным животным препараты вводили внутримышечно: гентамицин на протяжении 5 суток, два раза в день, в дозе 3 мг/кг; иммуностимуляторы в течение 3 суток один раз в день, тимоген в дозе 5 мкг/кг и маримикс 5:0 в дозе 0,1 мл/ кг. Ресфлор применили в дозе 0,2 мл/кг подкожно через день, 3 введения, согласно наставлению. За животными наблюдали ежедневно в течение месяца. Установили, что сочетанное назначение антибиотика гентамицина с иммуностимуляторами маримикс 5:0 и тимогеном повышает антибиотикотерапию телят больных бронхопневмоний. При этом новый иммуностимулятор по эффективности не уступает эталонному тимогену и даже несколько превосходит его. Отмечена практически одинаковая эффективность данного сочетания с импортным антибиотиком ресфлор и более низкая стоимость израсходованных лекарственных средств. В тоже время при сочетанном назначении гентамицина с маримиксом 5:0 быстрее активизируется рост и развитие телят и эти показатели приближаются к таковым у интактных животных. 1.Дополнительное назначение иммуностимуляторов повышает эффективность антибиотикотерапии бронхопневмонии телят. 2.Новый иммуностимулятор маримикс 5:0 по эффективности не уступает эталонному препарату тимоген. 3.Отмечена практически одинаковая эффективность данного сочетания с импортным антибиотиком ресфлор и более низкая стоимость израсходованных лекарственных средств. 4.При сочетанном назначении гентамицина с маримиксом 5:0 быстрее активизируется рост и развитие телят и эти показатели приближаются к таковым у интактных животных.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из многих позитивных фармакологических свойств иммуностимуляторов является повышение эффективности антибиотикотерапии [1,9]. О необходимости этого лечебного мероприятия сообщали [2,8], тем более, что из двух основных проблем химиотерапии в мировой практике является резкое снижение ее эффективности за последнее время [11].

Бронхопневмонии молодняка сельскохозяйственных животных, как и диареи, широко встречаются в животноводческих хозяйствах и занимают второе место по числу проявления у молодняка с/х животных, в том числе и среди телят после желудочно-кишечной патологии [7]. Чаше заболевают телята 30-45-и дневного возраста. Многими исследователями установлено, что одной из предрасполагаю-

ших причин возникновения бронхопневмоний являются всевозможные стрессы и иммунодефицитные состояния организма телят, которые встречаются повсеместно. Например, по выражению [8], стрессы и иммунодефицитные состояния организма животных стали неотъемлемой частью сегодняшнего животноводства. Вполне понятно, что в подобной ситуации малейшие нарушения в кормлении и содержании телят сразу же сказываются на состоянии их здоровья. Активизируется условно-патогенная микрофлора со всеми вытекающими отсюда последствиями, что нередко и приводит к возникновению бронхопневмоний и других патологий организма.

В настоящее время при бронхопневмонии телят чаще всего используют комплексную терапию: интерферон и пробиотики [6], гентамицин и различные растительные сборы [5], комплексы различных витаминных препаратов [7], тилозиновые антибиотики [12] и другие лекарственные средства. При этом, клиническое излечение респираторных болезней телят не всегда приводит к полному восстановлению их биохимического статуса [13].

Ранее [3] в одном из хозяйств Ленинградской области для лечения поросят, больных бронхопневмонией, применили антибиотики тетрациклин и гентамицин отдельно и в сочетании с иммуностимуляторами (ИС) стимуленом и тимогеном. Установили, что при назначении одних антибиотиков видимое клиническое улучшение состояния поросят наступало на 8 – 9 день, тогда как при совместном назначении с ИС – на 5-7 день. Количество выздоровевших поросят при назначении одних антибиотиков составило 73%, а при сочетанном назначении препаратов – 80,7%. Одновременно с этим сократились и сроки лечения. Позитивным моментом использования ИС при антибиотикотерапии является и то, что кроме повышения эффективности химиопрепаратов уменьша-

ется риск выработки устойчивости у патогенной микрофлоры, что как раз и является основным фактором, снижающим эффективность препаратов [4].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В данной серии опытов на 43 телятах изучили терапевтические свойства антибиотика гентамицина отдельно и в сочетании с иммуностимуляторами тимогеном и новым препаратом маримиксом 5:0, а также импортный антибиотик при бронхопневмонии телят. **Тимоген** синтетический аналог тималина. Повышает иммунологическую реактивность организма, усиливает процессы дифференциации лимфоидных клеток, нормализует количество Т-хелперов, Т-супрессоров и их соотношение в крови и лимфоидных органах. Стимулирует процессы регенерации, активизирует процессы клеточного метаболизма, усиливает интенсивность роста животных и птицы. Разработан Санкт-Петербургской Военно-медицинской академией и СПбГАВМ (кафедры фармакологии и токсикологии и патологической физиологии). **Маримикс 5:0** иммуностимулятор нового поколения, продукт гнотобионтов, получен из мидий. Проявляет иммуностимулирующее, адаптогенное, ростостимулирующее и ранозаживляющее действие за счет уникального состава - наличие большинства микроэлементов, полисахаридов и других БАВ. Это совместная разработка Санкт-Петербургской фирмы ООО РК и кафедры фармакологии и токсикологии СПбГАВМ [10]. **Ресфлор** – комплексный импортный антибиотик, специально предназначенный для лечения респираторных болезней животных. Диагноз на бронхопневмонию ставили по клиническим признакам: повышенная температура тела до 40,5°C, кашель, хрипы, слизистые истечения из носа. Животные были разделены на 5 групп по 9 голов в подопытных группах и 7 голов в контрольной, условия кормления и содержания были одинако-

вы. Опыт провели в течение апреля месяца. Больным животным препараты вводили внутримышечно: гентамицин на протяжении 5 суток, два раза в день, в дозе 3 мг/кг; иммуностимуляторы в течение 3 суток один раз в день, тимоген в дозе 5 мкг/кг и маримикс 5:0 в дозе 0,1 мл/кг. Ресфлор применили в дозе 0,2 мл/кг подкожно через день, 3 введения, согласно наставлению. За животными наблюдали ежедневно в течение месяца.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что оба ИС повышали эффективность гентамицина, ускоряя снижение температуры тела больных животных, быстрее прекращая симптомы болезни - слизистые истечения из носовой полости, кашель и характерные хрипы. У телят быстрее появлялся аппетит и восстанавливалось общее состояние организма (табл.1).

При этом маримикс 5:0 оказался несколько эффективнее эталонного иммуностимулятора тимогена, примерно раньше на сутки-двое купируя патологический процесс. Характерно, что сочетание гентамицина с маримиксом 5:0 не уступало по эффективности импортному препарату ресфлор, хотя по стоимости оказалось ниже его.

При гематологическом и иммунобиохимическом анализе крови выздоровев-

ших животных выявили тенденцию повышения защитных сил организма (иммуноглобулина G, лизоцима, общего белка) и увеличение суточных привесов также у телят, леченных сочетанием гентамицин + маримикс 5:0 или + тимоген (табл. 2).

Статистически достоверными оказались показатели крови по общему белку в группах телят, которых лечили гентамицином с ИС маримикс 5:0 и тимогеном – 58,3±1,7, против 51,5±0,9 г/л и 56,3±1,3, против 51,5±0,9 леченных антибиотиком ($p < 0,05$). И в данном случае маримикс 5:0 несколько превышал эффективность тимогена. Хотя импортный препарат ресфлор по эффективности лечения не уступал сочетанию гентамицин+ маримикс 5:0, при его назначении были выявлены самые низкие показатели, как по общему белку, так и по среднесуточным привесам.

Таким образом, сочетанное назначение антибиотика гентамицина с иммуностимуляторами маримикс 5:0 и тимогеном повышает антибиотикотерапию телят больных бронхопневмоний. При этом новый иммуностимулятор по эффективности не уступает эталонному тимогену и даже несколько превосходит его. Отмечена практически одинаковая эффективность данного сочетания с импортным

Таблица 1

Повышение эффективности антибиотикотерапии бронхопневмоний телят с помощью иммуностимуляторов n= 9 (M±m)

Препараты	Показатели (в сутках)				
	Прекращение истечений из носовой полости	Нормализация температуры	Исчезновение кашля	Прекращение хрипов	Клиническое выздоровление
Гентамицин	4-5	4-5	5-6	8-9-	15-17
Гентамицин + тимоген	3-4	3-4	4-6	6-7	13-15
Гентамицин + маримикс5:0	2-3	2-3	3-4	5-6	12-13
Ресфлор	2-3	2-3	3-4	6-7	13-14

антибиотиком ресфлор и более низкая стоимость израсходованных лекарственных средств. В тоже время при сочетанном назначении гентамицина с маримиксом 5:0 быстрее активизируется рост и развитие телят и эти показатели приближаются к таковым у интактных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Дополнительное назначение иммуностимуляторов повышает эффективность антибиотикотерапии бронхопневмонии телят.

2. Новый иммуностимулятор маримикс 5:0 по эффективности не уступает эталонному препарату тимоген.

3. Отмечена практически одинаковая эффективность данного сочетания с импортным антибиотиком ресфлор и более низкая стоимость израсходованных лекарственных средств.

4. При сочетанном назначении гентамицина с маримиксом 5:0 быстрее активизируется рост и развитие телят, и эти показатели приближаются к таковым у интактных животных.

An increase of the efficiency of chemotherapy of bronchopneumonia at calves by means of immunostimulators.

D. Voytenko.

SAMMARY

The purpose of researches - clarification of the influence of a new immunostimulator Marimix 5:0 on the efficiency of an antibiotic-therapy of bronchopneumonia at calves together with administration of gentamycin in comparative aspect of immunostimulator timogen and an import antibiotic Resflor. Experiment was made within april. Drugs were administered to sick animals intramuscularly: gentamycin for 5 days, twice a day, in a dose of 3 mg/kg; immunostimulators within 3 days once a day, timogen in a dose of 5 mcg/kg and Marimix 5:0 in a dose of 0,1 ml/kg. Resflor was administered in a dose 0, 2 ml/kg subcutaneous in a day, 3 injections, according to instruction. Animals were kept a look daily within a

month. Stated that, the combined administration of an antibiotic gentamycin and immunostimulators Marimix 5:0 and timogen raise antibiotic-therapy of calves with bronchopneumonia. Thus, the new immunostimulator doesn't concede by efficiency the reference timogen and even surpasses it a little. Almost identical efficiency of this combination to an import antibiotic Resflor and lower cost of the treatment were noted. At the same time, the combined administration of gentamycin with Marimix 5:0 improves calves growth and development and these indicators come nearer to that of intact animals.

1. Additional administration of immunostimulators increases efficiency of antibiotic-therapy of calves with bronchopneumonia;

2. The new immunostimulator Marimix 5:0 by efficiency doesn't concede to reference drug timogen;

3. Almost identical efficiency of this combination to an import antibiotic Resflor and lower cost of the treatment were noted;

4. The combined administration of gentamycin with Marimix 5:0 improves calves growth and development and these indicators come nearer to that of intact animals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Н.Л., Войтенко В.Д. Иммуностимуляторы, повышающие эффективность химиотерапевтических средств // Международный вестник ветеринарии. – 2010. – №. 1. – С.29-32.

2. Войтенко В.Д. Необходимость и возможность повышения эффективности химиотерапевтических средств // Международный вестник ветеринарии. – 2009. – №. 2. – С.14-16.

3. Войтенко В.Д. Терапевтическая эффективность химиопрепаратов, иммуностимуляторов и пневмония при бронхопневмонии поросят//Матер.1.междунар. науч.-практич. конф. аспирантов и соискателей «Предпосылки и эксперимент в науке». СПб. – 2003. – С.6-7.

4. Войтенко В.Д. Рациональные методы борьбы с устойчивостью микроорганизмов к химиопрепаратам // Материалы Всероссийского съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства». СПб. – 2009. – С.21.
5. Ермолина С.А., Созинов В.А. Динамика функциональной устойчивости эритроцитов у телят, больных бронхопневмонией при разных способах лечения // Материалы 111 Съезда фармакологов и токсикологов России «Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации». 2011. – СПб. – С.170-172
6. Красочко П.А., Чуенко И.В. Эффективность использования рекомбинантного интерферона и пробиотиков при терапии респираторных заболеваний телят // Материалы 4 Съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации». 2013. – М. – С.359-361.
7. Мунаяр Х.Ф., Руденко Л.Л., Алексин М.М., Терапевтическая эффективность сочетанного применения «полибором концентрат» и белево-витаминной добавки «Витамис-2» при бронхопневмонии у телят и качество мясной продукции на фоне их применения // Материалы 2 международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященного восьмидесятилетию заслуженного деятеля науки РФ, профессора Соколова Владимира Дмитриевича «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии». 2012. – СПб. – С.186-188.
8. Соколов В.Д. Необходимость постоянной фармакокоррекции стрессов и иммунодефицитных состояний у животных // Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки / Экспресс информация. СПб. – 2001. – Выпуск 9. – С.3-4.
9. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Соколов А.В. Иммуностимуляторы в ветеринарии // Ветеринария. – 1992. – № 7-8. – С.49-50.
10. Соколов В.Д., Андреева Н.Л., Попова О.С. Новый биологически активный препарат – маримикс 5:0 // Международный вестник ветеринарии. – 2011. – №. 1. – С.6-10.
- 11.11.Соколов В.Д., Андреева Н.Л. Перспективные НИР в фармакологии, токсикологии и фармации // Материалы 4 Съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации». 2013. – М. – С.529-532.
- 12.12.Толкач И.Г. Терапевтическая эффективность тилозиновых антибиотиков при лечении телят, больных бронхопневмонией // Материалы 4 Съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации». 2013. – М. – С.571-574
- 13.13.Черницкий А.Е., Золотарев А.И. Критерии оценки эффективности фармакотерапии при респираторных болезнях телят // Материалы 4 Съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации». 2013. – М. – С.623-626.



ХИРУРГИЯ

УДК 636.7:619:616-08

ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ РАН У СОБАК

Г.В. Слюсар, (ПГАА)

Ключевые слова: собаки, раны, гиалуроновая кислота, трифузол, метилурацил с мирамистином. **Key words:** dogs, wounds, hyaluronic acid, trifuzol, methyluracil with miramistin.



На ранних этапах заживления ран в соединительной ткани накапливается гиалуроновая кислота, что способствует образованию коллагена и отражается на процессах заживления ран. Гиалуроновая кислота имеет свойства создавать на поверхности раны вязкий кислотный шар, который механически изолирует поврежденную поверхность от негативного влияния внешней среды. При этом пленка из гиалуроновой кислоты активно поглощает влагу, предупреждая ее испарения из поверхности кожи и обеспечивает удержание воды в виде геля внутри раны. Целью настоящей работы было обоснование целесообразности применения для лечения ран в фазе пролиферации и регенерации мази метилурацил с мирамистином с добавлением гиалуроновой кислоты и трифузола. Нами были исследованы два метода лечения инфицированных ран у собак. Для животных первой группы использовали мазь метилурацил с мирамистином и добавлением 1 % гиалуроновой кислоты и трифузола (производное 1,2,4-триазола). Вторая группа была контрольной – животным применяли метилурацил с мирамистином. У животных первой группы заживление ран происходило на 23-25 день, что на 3-4 дня раньше контрольной группы, у которых раны заживали на 27-29 день. Использование мази метилурацил с мирамистином с добавлением 1 % гиалуроновой кислоты и трифузола способствует восстановлению иммунологических показателей в фазу регенерации и пролиферации: повышению содержания Т и В- лимфоцитов, фагоцитарного показателя и фагоцитарного числа. Также в процессе лечения снижается уровень гексоз связанных с белком, гексоз гликозамингликанов и сиаловых кислот, что указывает на более интенсивное развитие репаративных процессов.

ВВЕДЕНИЕ

В научной литературе встречается много сообщений о важной роли гликозамингликанов и гликопротеинов в процессах репаративной регенерации. Известно, что кожа животных содержит значительное количество гиалуроната, который определяет структуру, свойства и функционирование кожного покрова [7]. Гиалуроновая кислота способствует физической стабилизации матрицы, стимулирует миграцию клеток, контролирует деградацию фибрина. На ранних этапах заживле-

ния ран в соединительной ткани накапливается гиалуроновая кислота, что способствует образованию коллагена и отражается на процессах заживления ран [5]. Она является одним из основных компонентов ранней грануляции и создает условия для клеточного движения путем расширения внеклеточного пространства. При созревании грануляционной ткани содержание гиалуроновой кислоты уменьшается, а уровни хондроитинсульфата и дерматансульфата имеют тенденцию к увеличению [1].

В природе гиалуроновая кислота соде-

ржится в перичелюлярных желеобразных жидкостях, в основном веществе соединительной ткани, в синовиальной жидкости суставов. Фармацевтическая промышленность в качестве источника гиалуроновой кислоты использует пупочные канатики, синовиальную жидкость, стекловидное тело, петушиные гребни, кожу свиней [4]. Гиалуроновая кислота имеет свойства создавать на поверхности раны вязкий кислотный шар, который механически изолирует поврежденную поверхность от негативного влияния внешней среды. При этом пленка из гиалуроновой кислоты активно поглощает влагу, предупреждая ее испарения из поверхности кожи и обеспечивает удержание воды в виде геля внутри раны.

Раневый процесс у взрослых животных существенно отличается от процессов, которые происходят в амниотической жидкости. Во взрослом организме заживление ран сопровождается острым воспалением и неупорядоченным образованием коллагена. Повышение уровня гиалуроновой кислоты происходит только в первые трое суток заживления раны. У эмбрионов раны заживают быстро, так как внеклеточный матрикс организован, воспалительный ответ ограничен или отсутствует, а уровень цитокинов низкий. У плодов уровень гиалуроновой кислоты остаётся повышенным до трёх недель. Поэтому, гиалуроновая кислота очень важна для заживления и если ее уровень в ране будет высоким, образование рубцов можно предупредить [2].

Роль гиалуроновой кислоты на разных этапах репарации ткани описал Weigel P.H. (1986). Его исследования были направлены на изготовление материалов на основе эфиров гиалуроновой кислоты, а также их смесей с другими полимерами [3].

Целью настоящей работы было обоснование целесообразности применения для лечения ран в фазе пролиферации и

регенерации мази метилурацил с мирамистином с добавлением гиалуроновой кислоты и трифузола.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Нами проведены лабораторные испытания двух методов лечения инфицированных ран у собак. Первые пять суток всем животным проводили ревизию ран и местную механическую обработку с применением 3 % раствора перекиси водорода. Применяли курс антибиотикотерапии с использованием 15% амоксициклина (INVESA). На шестой день лечения на поверхность ран наносили мази. Для животных первой группы использовали мазь метилурацил с мирамистином и добавлением 1 % гиалуроновой кислоты и трифузола (производное 1,2,4-триазола). Вторая группа была контрольной – животным применяли метилурацил с мирамистином.

Для контроля за течением раневого процесса в сыворотке крови определяли содержание общих гликопротеинов (методом Штепнберга-Доценко), гексоз связанных с белком, гексоз гликопротеинов, гликозамингликанов (методом раздельного определения в реакции с орцином за Неверовым и Титаренко; сиаловых кислот (методом Гесса). В крови определяли иммунологические показатели (содержание CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ лимфоцитов – методом фенотипирования в тестах розеткообразования с моноклональными антителами, ФП, ФЧ – методом Прилуцкого А.С.).

Мазь метилурацил с мирамистином (ЗАТ "Фармацевтическая фирма "Дарница", Украина) содержит метилурацил, который стимулирует метаболические процессы и мирамистин – катионный антисептик. Метилурацил ускоряет процессы клеточной регенерации, заживление ран, стимулирует фагоцитарную активность. Мирамистин имеет антимикробное действие на грамположительную и грамотрицательную аэробную и анаэробную микрофлору. Препарату свойственно

мягкое осмотическое действие, что способствует очищению и подсушиванию раны. Трифузол – производное 1,2,4-триазола, имеет антиоксидантные, гепатопротекторные, противовоспалительные свойства. Препарат способствует снижению фона продуктов окисления липидов, имеет антимикробное и противогрибковое действие. Рекомендуется для использования при лечении локальных гнойно-воспалительных процессов [6]. Гиалуроновая кислота (гиалуронат, гиалуронан) – несulfатированный гликозамингликан, который входит в состав соединительной, эпителиальной и нервной ткани. Для исследований использовали гиалуроновую кислоту бактериального происхождения (*Strept. equi*) фирмы „Fluka” (Швейцария).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

У всех животных с ранами в первые трое суток выявляли угнетение и повышение температуры тела. Из раневой полости выделялся экссудат, края раны были болезненными, отечными. Кожа над зоной отека была гиперэмированной и горячей. Некротизированные ткани прочно фиксировались на дне и стенках раневой полости. На шестой день исследований наблюдали наличие воспалительной демаркации нежизнеспособных тканей и их отторжение, воспалительная реакция была менее выраженной. В ране появились островки грануляционной ткани. Количество раневого экссудата и инфильтрация на краях раны уменьшились.

У животных первой группы заживление ран происходило на 23-25 день, что на 3-4 дня раньше контрольной группы, у которых раны заживали на 27-29 день.

Иммунологические показатели обеих групп на шестой день исследований существенно не отличались. У всех животных происходило достоверное снижение CD4+лимфоцитов и ИРИ. На 12 день лечения определены различия между показателями первой и второй групп. У животных, которым для лечения дополнитель-

но использовали трифузол и ГК абсолютное содержание Т- и В-лимфоцитов составляло $1816,5 \pm 116,04$ кл/мкл и $1148,5 \pm 84,12$ кл/мкл, что выше чем у собак второй группы. Среди регуляторных субпопуляций возросла доля CD4⁺ Т-клеток, вследствие чего увеличился показатель иммунорегуляторного индекса ($1,91 \pm 0,08$). В отличие, у животных второй группы ИРИ в этот период был ниже ($1,51 \pm 0,08$).

В период заживления (24 день исследований) установлено разницу содержания CD8+лимфоцитов: у собак второй (контрольной) группы данный показатель составлял $20,5 \pm 0,8$ %, что выше по сравнению с опытными ($18,17 \pm 0,48$ %). Как следствие – снижение иммунорегуляторного индекса до $1,14 \pm 0,06$. Более низкие значения ИРИ у контрольных животных могут свидетельствовать о хроническом течении воспалительных процессов.

Заживление ран у животных обеих групп сопровождалось повышением уровня спонтанного НСТ-теста с максимальными показателями на 12 день раневого процесса (у животных первой группы – $1,74 \pm 0,11$, второй – $1,46 \pm 0,0$). У собак, которым дополнительно применяли трифузол и ГК определены более высокие показатели фагоцитарного показателя ($46,83 \pm 0,91$ %) и фагоцитарного числа ($5,5 \pm 0,22$ ед.).

У собак первой группы, которым применяли метилурацил с мирамистином с добавлением 1 % гиалуроновой кислоты и трифузола, повышение содержания гексоз, связанных с белками, гексоз гликопротеинов и сиаловых кислот установлено только в период воспалительно-дегенеративных изменений. В дальнейшем, начиная с двенадцатого дня лечения, данные показатели снижались до уровня здоровых животных. Содержание гексоз гликопротеинов составляло $0,87 \pm 0,022$ г/л, гликозамингликанов – $0,061 \pm 0,04$ г/л. Снижение уровня сиало-

вых кислот установлено на 24 день лечения – $0,232 \pm 0,019$ ед.

У собак второй группы в процессе лечения содержание гексоз, связанных с белками постепенно снижалось, но было выше чем у животных первой группы. Установлено повышение содержания гексоз гликозамингликанов, уровень которых на 12 день лечения составлял $0,068 \pm 0,002$ г/л, что выше чем в первой группе на 11,5 %. Также в процессе лечения содержание сиаловых кислот оставалось высоким: на 12 день – $0,387 \pm 0,028$ ед., на 24-й – $0,328 \pm 0,021$ ед.

Таким образом, местное применение мази метилурацил с мирамистином с добавлением 1 % гиалуроновой кислоты и трифузола способствует нормализации индекса Г-ГАГ/Г-ПП, что характерно для более интенсивного развития репаративных процессов. А увеличение срока заживления раневого дефекта у животных второй группы сопровождалось перераспределением фракций гексоз в сторону увеличения доли гликозамингликанов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование мази метилурацил с мирамистином с добавлением 1 % гиалуроновой кислоты и трифузола способствует восстановлению иммунологических показателей в фазу регенерации и пролиферации: повышению содержания Т и В-лимфоцитов, фагоцитарного показателя и фагоцитарного числа. Также в процессе лечения снижается уровень гексоз связанных с белком, гексоз гликозамингликанов и сиаловых кислот, что указывает на более интенсивное развитие репаративных процессов.

Experience treat wounds dogs.

G.V. Slusar.

SUMMARY

At the early period of wounds cicatrization in the connective tissue accumulates hyaluronic acid, that stimulates collagen production and leads to wound healing. Hyaluronic acid possess the capacity

to create at the wound surface viscous acid ball, that mechanically isolates injured surface from negative influence of outdoor environment. At the same time, hyaluronic fill actively absorbs moisture, warning it's vaporization from skin surface and provides water accumulation at the gel state of matter inside the wound. The aim of our work was to base the expediency of an ointment administration for wounds treatment, being at the proliferation phase and regeneration, composed of metiluracil with miramistin in addition of hyaluronic acid and trifuzol. We analyzed two methods of treatment of the infected wounds of dogs. For the animals from the first group was used an ointment - metiluracil with miramistin in addition with 1% hyaluronic acid and trifuzolum (derivative 1,2,4-triazol). For second group –control - was used metiluracil with miramistin. At the animals from the first group wound cicatrization took place on the 23-25 day, that is earlier on 3-4 day then at the control group, where wounds healed on 27-29 day. Administration of the ointment metiluracil with miramistin in addition to 1% hyaluronic acid and trifuzolum stimulates restoration of immunological parameters of the regeneration and proliferation phase: quantity increase of T – and B lymphocytes, phagocyte index and phagocyte number. Also during treatment drops the level of geckos connected with protein, geckos of glycosaminoglycan's and sialic acids, that points out more intensively going reparative processes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антипова Л. Биополимер из петушиных гребней // Птицеводство. – 1998. – № 5. – С. 38–39.
2. Карташов М.І. Глікопротеїни та протеоглікани в діагностиці внутрішніх хвороб тварин // Вісник Білоцерківського держ. аграрн. ун-ту. – Біла Церква. -2006. – Вип. 40. – С. 68– 75.

3. Киричко Б.П. Патогенетичне обґрунтування лікування тварин із запальною хірургічною патологією препаратами з антиоксидантною дією / Б.П. Киричко : автореф. дис. ... докт. вет. наук : 16.00.05 – ветеринарна хірургія. – Київ. -2010. – 36с.
4. Хилова Ю.К. Характеристика тканей кожи при регенерации // Морфология. – 2000. – № 3. -Т. 117. – С. 24–28.
5. Kirker K. Prestwich Glycosaminoglycan hydro gel films as bio-interactive dressings for wound healing // Biomaterials. – 2002. –

V. 23 (17). – P. 3661-3671.

6. Mccallion R. Scar-free embryonic wound healing and prevention of scarring following wound healing in the adult // Computational and Mathematical Methods in Medicine. – 1997. – V. 1. – P. 1–11.

7. Weigel P.H. A model for the role of hyaluronic acid and fibrin in the early events during the inflammatory response and wound healind // J. Theor. Biol. – 1986. – V. 119. – P. 219.

УДК 619:611,71:661,882+546,832

КЛИНИКО – МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ ОСТЕОРЕГЕНЕРАЦИИ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ИМПЛАНТАТОВ С ПОКРЫТИЕМ НА ОСНОВЕ СВЕРХТВЕРДЫХ СОЕДИНЕНИЙ

М.П. Мечов, Ф.В. Шакирова (ФГБОУ ВПО КГАВМ)

Ключевые слова: имплантат, компьютерная томография, кролик, нитрид титана и гафния. **Key words:** rabbit, implants, nitride of titan and hafnium, computer tomography.



Цель исследования - определения воздействия имплантатов с покрытиями нитридов титана и гафния на организм животных. Проведена открытая остеотомия большеберцовой кости 30 кроликам, разделенных на две группы, в области средней и нижней трети диафиза с одномоментным ретроградным введением имплантата в костномозговой канал. В группе сравнения использовались спицы из биоинертной медицинской стали 12X18H9T, dx2 мм, в опытной группе – спицы из стали 12X18H9T с покрытием нитридов титана и гафния, dx2 мм. Морфологические преобразования в зоне перелома определяли при помощи компьютерного томографа Toshiba Aquilion-16, представляющего собой мультисрезовой КТ-сканер, выполняющий 16 срезов толщиной 0,5 мм со временем полного оборота 0,5 с. Полученный материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. Декальцинацию проводили препаратом «BIODEC» (Италия). После обезживания в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле, материал заливался в парафин. На микротоме изготавливались гистологические срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином и по методу Ван Гизона. На 60 сутки у животных группы сравнения объем костного регенерата составил $\approx 4,8$ мм, плотность регенерата 1000-1500 HU что значительно превышает таковой у животных опытной группы $\approx 3,2$ мми 1000-1800 HU соответственно. Цветовое картирование выявило полную консолидацию отломков у животных обеих групп, с признаками перестройки костной мозоли. Перестройка костной ткани в зоне сформировавшегося регенерата у животных с исследуемым покрытием происходит в более ранние сроки в отличие от группы

сравнения. Меньший объем регенерата при большей плотности соответствует более качественному характеру перестройки костной мозоли с формированием ее конечной генерации – пластинчатой кости.

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия травматизм становится одной из актуальных проблем современной ветеринарии, в связи с постоянно увеличивающимся ростом числа травм. Переломы костей голени встречаются с частотой от 20 до 37,3% в структуре переломов всех локализаций и до 60% переломов трубчатых костей [5]. Проблема выбора оптимального способа оперативной фиксации, переломов костей голени остается открытой. В современной ветеринарной медицине, в том числе ортопедии и травматологии, предъявляются все более высокие требования к качеству остеофиксаторов, используемых при проведении реконструктивной хирургии опорно-двигательного аппарата [4].

В последние десятилетия в материаловедении активно развивается новое научное направление, связанное с созданием и исследованием «объемных» наноструктурных материалов. Для широкого клинического внедрения новых материалов с модифицированной структурой требуется проведение всестороннего исследования, прежде всего, влияние их на ткани организма [6]. Выход ионов металлов может вызвать такие осложнения как металлоз, а у имплантатов реакцию отторжения. Развитие современных высокотехнологичных «НАНО» отраслей может предложить использование схемы – «металлическая основа – биопокрытие», что позволяет улучшить биосовместимость металлических имплантатов с тканями живого организма, предотвращая процессы нагноения и их отторжения [3].

Настоящие исследования предприняты с целью выяснения вопроса определения воздействия имплантатов с покрытиями нитридов титана и гафния на организм животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на кафедре ветеринарной хирургии КГАВМ. Проведение эксперимента, содержание, уход проводились согласно требованиям «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (1986). Исследования были проведены на 30 кроликах обоего пола, в возрасте 6-7 месяцев с массой тела $2\,526,5 \pm 74,4$ г. Всем животным проводили открытую остеотомию большеберцовой кости в области средней и нижней трети диафиза с одномоментным ретроградным введением имплантата в костномозговой канал. В обеих группах (в группе сравнения спицы из биоинертной медицинской стали 12Х18Н9Т, dx2 мм, в опытной группе – спицы из стали 12Х18Н9Т с покрытием нитридов титана и гафния, dx2 мм).

Исследования были проведены на оборудовании: компьютерный томограф Toshiba Aquilion-16 на 10, 30 и 60 сутки после операции. Система Aquilion-16 представляет собой мультисрезовый КТ-сканер, выполняющий 16 срезов толщиной 0,5 мм со временем полного оборота 0,5 с [2].

Реактивные морфологические преобразования в зоне перелома определяли на сроках 10, 30 и 60 сутки течения опыта. Полученный материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. Декальцизацию проводили препаратом «BIODEC» (Италия). После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле, материал заливался в парафин. На микротоме изготавливались гистологические срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином и по методу Ван Гизона [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В послеоперационный период за животными вели ежедневные клинические наблюдения. При этом обращали внимание на общее состояние, пищевую возбудимость, клинические показатели. Местно учитывали воспалительную реакцию, которая проявлялась отеком, экссудацией, нарушением функции оперированной конечности.

Раневой процесс протекал на фоне асептического экссудативного воспаления. Все операционные раны заживали по первичному натяжению. У животных группы сравнения в первые сутки процесс экссудации был более выражен, объем раневого отделяемого – составлял примерно 1,5 – 2,5 мл. У животных опытной группы не превышал 1 – 1,5 мл.

Опорная функция конечностей у животных обеих групп начинала восстанавливаться с 10 суток.

На 10 сутки на серии рентгеновских компьютерных томограмм у животных обеих групп были получены изображения костей голени правой конечности, где определялся поперечный перелом нижней трети большеберцовой кости, фиксированной интрамедуллярной конструкцией. В зоне остеотомии наблюдалась сформировавшаяся избыточная периостальная мозоль.

Результаты морфологических исследований. У животных опытной группы на данном этапе имелась полностью сформированная предварительная соединительнотканная мозоль, которая трансформировалась в предварительную костную мозоль, состоящую преимущественно из грубоволокнистой кости. Происходило разрастание коллагеновых волокон и наблюдались процессы костеобразования. Так, на фоне гомогенизации коллагена образовывались остеоидные балки. При этом обнаруживались пролиферирующие остеообласты как в зоне повреждения, так и в периосте и эндосте. Параллельно с

этим присутствовал процесс рассасывания некротически измененных концов старой кости и избытка вновь образованных остеоидных структур. Коллагеновые волокна, как правило, были соединены с костными балками, в некоторых из которых уже обнаруживалось обызвествление. Здесь же располагались сосудистые петли. Пространство между балками и сосудами было заполнено рыхлой волокнистой соединительной тканью. Вновь образованные костные балки всегда были связаны со старой костью (краями отломков). По краям отломков кости на данном сроке завершалось рассасывание некротических масс, происходило разрастание грануляционной ткани с последующим остеогенезом. В гаверсовы каналы отломков врастали сосуды и мезенхимальные клетки. Между отдельными костными балками появлялись поперечные перемычки. Некоторые костные структуры смыкались своими периферическими концами, образуя первичные гаверсовы каналы, заполненные волокнистой тканью и капиллярами.

У животных в группе сравнения заживление в целом протекало также как и при использовании спиц с напылением. Однако, в некоторых случаях в периостальной части мозоли костеобразование протекало через формирование хряща.

При исследовании методом КТ на 30 сутки у животных контрольной группы (Рис. 1) объем костного регенерата составил $\approx 5,2$ мм, что значительно превышает таковой у животных опытной группы $\approx 3,5$ мм. (Рис. 2).

Плотность регенерата у животных с имплантатами, покрытых нитридами титана и гафния, была значительно выше, что составило 1000-1600HU, чем у животных с имплантатом из биоинертной стали 900 – 1400 HU.

Цветовое картирование зоны интереса на 30 сутки выявило формирование эндостальной мозоли в обеих группах, однако

в опытной группе имело место начало формирования пластинчатых костных структур. В группе сравнения предварительная костная мозоль соединяла оба отломка.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В большинстве случаев у животных опытной группы имело место неосложненное заживление с началом формирования пластинчатых костных структур. В то же время окончательной перестройки костной мозоли не происходило – наружная ее часть в той или иной степени сохранялась. Из ее внешних слоев формировался периост, сливающийся с периостом отломков. Внутренняя мозоль рассасывалась с восстановлением костного мозга. У животных группы сравнения процесс заживления несколько отставал от первой группы наблюдений. Во всех случаях имела полностью сформированная предварительная костная мозоль, представленная грубоволокнистой костью, которая на большинстве участков соединяла оба отломка. Параллельно в костном мозге каждого отломка развивались новые костные трабекулы. В то же время, имелись только начальные признаки трансформации костной ткани в окончательную костную мозоль. В случаях, когда в процессе заживления перелома об-

разовывалась хрящевая ткань, на данном этапе происходило рассасывание хряща, иногда с некрозом обызвествление и замещение его костной тканью – энхондральная оссификация.

На 60 сутки при исследовании методом КТ объем костного регенерата у животных группы сравнения составлял $\approx 4,8$ мм, что значительно превышал таковой у животных опытной группы $\approx 3,2$ мм. Плотность регенерата у животных группы сравнения (имплантаты из биоинертной стали) составила 1000-1500 НУ, у животных опытной группы 1000-1800 НУ.

Цветовое картирование зоны интереса на 60 сутки выявило полную консолидацию отломков у животных обеих групп, с признаками перестройки костной мозоли.

Результаты морфологических исследований. На данном сроке существенных различий между исследуемыми группами не наблюдалось. Имело место полное заживление с наличием сформированной пластинчатой кости.

По данным исследования посредством компьютерной томографии доказано, что перестройка костной ткани в зоне сформировавшегося регенерата у животных с исследуемым покрытием происходила в более ранние сроки в отличие от кон-

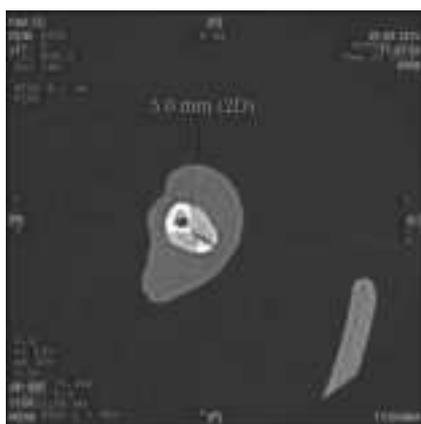


Рис. 1. КТ зоны перелома костей голени на 30 сутки, группа сравнения.



Рис. 2. КТ зоны перелома костей голени на 30 сутки, опытная группа.

трольной группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод о том, что у животных опытной группы (с применением имплантатов с покрытием нитридов титана и гафния) показатели количественного изменения плотности сформировавшегося регенерата более выражены, что может являться признаком биоинертности данного покрытия.

Следует подчеркнуть, что меньший объем регенерата при большей плотности соответствует более качественному характеру перестройки костной мозоли с формированием ее конечной генерации – пластинчатой кости.

Clinical morphological parallels of osteoregeneration under conditions of applying implants with superhard compound-based coating.

M.P. Mechov, F.V. Shakirova.

SAMMARY

Research objective - definitions of interaction of implants with coverage of nitrides of titan and hafnium on an organism of animals. The open osteotomy was carried out of a tibial bone of 30 rabbits, divided into two groups, at the zone of the medium and bottom third of a diaphysis with one-stage retrograde injection of an implant to the marrow canal. In group of comparison were used spokes from bio-inert medical steel 12X18H9T, dx2 of mm, in test group – spokes from steel 12X18H9T with a coverage of nitrides of titan and hafnium, mm dx2. Morphological transformations in a zone of a fracture were defined by means of the computer Toshiba Aquilion-16 tomograph, representing the multi-slice CT-scanner, carrying-out 16 cuts 0,5 mm thick, with time of complete turn 0,5 seconds. The received material was fixed in 10% neutral formalin. Decalcification was carried out by the medicine "BIODEC" (Italy). After dehydration in alcohols of increasing con-

centration and a xylol, the material was filled in the paraffin. On the microtome histological cuts (5-7 microns thick), which were painted by hematoxylin and eosin and on a method Van Gizona, were made. On the 60-th days, at animals from the group of comparison, volume of bone reclaim was \approx 4,8 mm, reclaim density - 1000-1500 HU, that considerably exceeds that at animals of test group \approx 3,2 mm 1000-1800 HU respectively. Color mapping revealed full consolidation of bone fragments at animal of both groups, with signs of reorganization of a bone callosity. Reorganization of bone tissue at animals in a zone of produced reclaim with a tested coverage happens in earlier terms unlike group of comparison. Smaller volume of reclaim at the bigger density corresponds to better nature of bone callosity reorganization with formation of its final generation – a lamellar bone.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии. – М.: Медицина. -1973. -248 с.
2. Дьячкова Г.В., Митина К.А., Дьячков Д.А. Клинические аспекты современной лучевой диагностики в травматологии и ортопедии // Гений ортопедии. -2011. -№ 2. -С. 91-97.
3. Кишковская Е.А. Сращение переломов. Вестник рентгенологии и радиологии. - 1980. -№3. -С.27-30.
4. Прокоп М, Галански М. Спиральная и многослойная компьютерная томография: Учебн. Пособие: В 2т./Пер. с англ.; Под ред. А. В. Зубарева, Ш.Ш. Шотемора. -2е изд.-М.: МЕДпресс-информ. -2009. -С. 712.
5. Самошкин И.Б., Слесаренко Н.А. Реконструктивно-восстановительная хирургия опорно-двигательного аппарата у собак // Руководство для ветеринарных врачей. - М.: Советский спорт. -2008. - 200с.
6. Стогов М.В., Кононович Н.А., Накоскин А.Н. Особенности остеорепаративных процессов при заживлении экспериментальных переломов с различной сте-

пенью травматизации костного мозга // Гений ортопедии. -2008. -№ 2. -С.5-8.

УДК 636.8:619:616-091/092:619:616.711-002

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНОГО ОСТЕОМИЕЛИТА У КОШЕК

Т.Н. Собчишина (ПГАА)

Ключевые слова: кошки, трубчатые кости, гнойный остеомиелит, гистологические исследования, биомин.

Key words: cats, tubular bones, purulent osteomyelitis, histological research, biomin.



В настоящее время в реконструктивной ветеринарной хирургии большой интерес уделяется материалам, которые могут выполнять функцию временного направляющего каркаса для регенерации также способные постепенно замещаются собственными тканями. В работе представлены результаты исследований по применению материалов на основе гидроксилапатита и в-трикальцийфосфата применяемых для оперативного лечения гнойного остеомиелита у кошек. Исследования проводили на кошках с клиническими признаками гнойного остеомиелита трубчатых костей. Были сформированы 2 группы животных. В первой группе использовали гранулированный имплантант Биомин-ГТ, во второй Биомин-гТлС (легированный серебром). Всем животным осуществляли некротомию и пластику костной полости, проводили курс антибиотикотерапии и для стимуляции репаративных процессов животным первой группы применяли катозал, а животным второй группы - румосол. В данной работе приведены данные гистологических исследований структуры длинных трубчатых костей исследованные интервалом в один, два и три месяца после лечения. Представлены результаты микроскопических исследований при различных методах лечения гнойного остеомиелита у кошек. По результатам гистологических исследований установлено, что наиболее эффективным для пластики костных дефектов после некротомии является гранулированный имплантант Биомин-гТлС. Данный имплантант полностью резорбировался на третий месяц исследований, усилил регенерацию костной ткани и способствовал ее полному восстановлению.

ВВЕДЕНИЕ

Оптимальным результатом лечебных мероприятий при остеомиелитах является полная ликвидация воспалительного очага и восстановление структуры пораженной кости. Вместе с тем, положительного эффекта может не быть, что связано с особенностями патологических изменений в тканях, а также со свойствами возбудителей и устойчивой инфицированностью тканей [3]. Современный этап развития реконструктивной ветеринарной хи-

рургии характеризуется интенсивными поисками новых эффективных средств. В последнее время внимание уделяется материалам, которые могут выполнять функцию временного направляющего каркаса для регенерации и постепенно замещаются собственными тканями. В литературе немало сообщений о целесообразности использования для пластики костных дефектов неорганической составляющей костной ткани - гидроксилапатита (ГАП), который имеет высокую биосовместимость и способность рассасываться [1, 2,

4]. Поэтому для наших исследований мы использовали материалы на основе ГАП и в-трикальцийфосфата $Ca_3(PO_4)_2$: Биомин-ГТ и Биомин-гТлС. Последний имеет асептическое действие и может использоваться в гнойной хирургии.

Цель данного исследования – установить гистологическую структуру длинных трубчатых костей при различных методах восполнения костных полостей, образованных вследствие оперативного лечения гнойного остеомиелита у кошек.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на кошках с клиническими признаками гнойного остеомиелита трубчатых костей. Всем животным осуществляли некроеквестрэктомии и пластику костной полости. Для животных первой группы использовали гранулированный имплантант Биомин-ГТ, а для второй – Биомин-гТлС (легированный серебром). Препараты Биомина (ООО «Рапид», Украина) изготовлены на основе керамического гидроксиллапатита – химического аналога минерального вещества костей млекопитающих. Для стимуляции репаративных процессов, антиоксидантной защиты организма в послеоперационный период животным первой группы применяли катозал, а животным второй группы – румосол. Препараты назначали в соответствии с инструкциями к их применению. Также в послеоперационном периоде всем животным проводили курс антибиотикотерапии (комбикел и линкомицин). Биоптат костной ткани исследовали с интервалом один, два и три месяца после лечения [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Через месяц после оперативного лечения гистологическими исследованиями костных биоптатов животных первой группы установлено наличие очаговых явлений лакунарной резорбции и уменьшение количества остеоцитов. Во всех исследуемых образцах определялись участки некроза костной ткани с формирова-

нием секвестров, отдельные из которых свободно располагались в полости абсцессов.

В полостях отдельных формирующих секвестров встречались очаговые кровоизлияния и скопления серозно-гнойного экссудата. В сосудистых каналах и межбалочных пространствах в отдельных случаях определялся фибринозно-гнойный воспалительный инфильтрат. Кровеносные микрососуды были с явлениями выраженного полнокровия, в некоторых микрососудах венозного типа наблюдались явления паретического расширения и краевое стояние форменных элементов.

В костномозговом канале диафиза кости располагалась жировая ткань, в эпифизах – красный костный мозг, в составе которого определялись гемопоэтические клетки на разных этапах развития, кровеносные микрососуды синусоидального типа, а также немногочисленные клеточные элементы воспалительного ряда. В некоторых исследуемых образцах имело место отслоение надкостницы с формированием поднадкостничных абсцессов. В таких случаях воспалительный процесс с кости распространялся на прилежащие мягкие ткани, в результате чего в поперечнополосатых мышцах наблюдалась воспалительная инфильтрация и плотное сращение последних с надкостницей.

У животных второй группы, которым применяли Биомин-гТлС, через месяц после лечения микроскопически в костных биоптатах также определяли воспалительные и деструктивные изменения: наличие формирующих секвестров, вокруг некоторых из них – разрастание грануляционной ткани.

Во всех исследуемых образцах имели место явления лакунарной резорбции, однако в отличие от предыдущей группы, в резорбционных полостях определялась грануляционная ткань со значительным количеством тонкостенных микрососу-

дов. Вблизи некротических участков находили фрагменты Биомин-гТлС (гидроксилапатит + b-трикальцийфосфат легированный серебром), которые имели вид бесструктурных масс, окрашенных несколько интенсивнее сохранившейся костной ткани, вокруг которых в ряде случаев также отмечалась клеточная реакция. Вокруг имплантантов в ряде случаев отмечалась клеточная реакция. Поднадкостничные абсцессы, по сравнению с предыдущей группой наблюдались гораздо реже.

Через два месяца у животных первой группы микроскопическими исследованиями костной ткани установлены явления лакунарной резорбции и некротические изменения в виде секвестров. Последние в большинстве случаев были окружены валом грануляционной ткани. В слоях грануляционной ткани непосредственно прилегающей к секвестру выявлялось значительное количество клеток макрофагального ряда и новообразованных сосудов. В наружных слоях грануляционного вала находилось значительное количество коллагеновых волокон, между которыми располагалось небольшое количество кровеносных микрососудов и молодых фибробластов. В сохранившихся участках костной ткани повсеместно наблюдалось полнокровие сосудов, периодически встречались мелкие периваскулярные кровоизлияния и немногочисленные лимфоцитарные инфильтраты.

В отдельных наблюдениях в прилегающих мягких тканях отмечались явления склероза, который, возможно, является результатом периоссальных воспалительных процессов.

В костях кошек второй группы при микроскопических исследованиях в этот период также преобладали явления лакунарной резорбции и секвестры, вокруг которых практически всегда определялась капсула. В отдельных случаях имел место процесс секвестрации с образова-

нием резорбционных полостей, заполненных грануляционной тканью. Фрагменты Биомин-гТлС (гидроксилапатит + b-трикальцийфосфат легированный серебром), по сравнению с предыдущим сроком исследований, имели существенно меньшие размеры. В большинстве случаев мы регистрировали полную или частичную резорбцию с явлениями выраженной макрофагальной реакции. В отличие от первой группы, в прилегающих к костям мягких тканях склеротические изменения были менее выражены, изредка в мышцах оказывались мелкоочаговые лимфоплазмоцитарные инфильтраты.

Через три месяца при микроскопическом исследовании в костях животных первой группы выявляли секвестры, окруженные капсулами. По сравнению с предыдущими исследованиями в секвестральных капсулах наблюдалось уменьшение количества кровеносных микрососудов, увеличение количества клеток фибробластического ряда и коллагеновых волокон.

Костномозговой канал был несколько сужен, в нем, как и раньше выявлялись липоциты и клеточные элементы гемопоэза. В сохранившейся ткани в несколько расширенных гаверсовых каналах располагались кровеносные микрососуды с явлениями полнокровия. Надкостница в ряде наблюдений была утолщена за счёт склеротических процессов, развившихся вследствие наблюдаемых ранее поднадкостничных абсцессов. Склеротические изменения имели место также и в прилежащих к кости мышцах.

При микроскопическом исследовании костей животных, которым в комплексной терапии гнойного остеомиелита применили Биомин-гТлС (гидроксилапатит + b-трикальцийфосфат легированный серебром), редко обнаруживали секвестры, окруженные соединительнотканной капсулой. В отличие от первой группы в отдельных случаях имела место резорбция

мелких секвестров. Пролиферация сосудов в гаверсовых каналах была более выраженной. Фрагменты Биомин-гТлС в микропрепаратах не встречались, что связано, видимо, с их полной резорбцией к данному сроку наблюдения. Как и в предыдущей группе, надкостница в большинстве наблюдений была утолщена, однако воспалительные и склеротические процессы в прилежащих мягких тканях были менее выражены.

Таким образом, гистологическими исследованиями установлено, что более эффективным для пластики костных дефектов после некросеквестрэктомии является Биомин-гТлС, который усиливает регенерацию костной ткани и способствует ее полному восстановлению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные указывают на выраженные остеопаративные свойства Биомин-гТлС. После пластики костной полости данным имплантантом происходит уменьшение воспалительного процесса в кости, его биодеградация с постепенным замещением костной тканью.

Pathological evaluation of the effectiveness of treatment of suppurative osteomyelitis in cats.

T.N. Sobchishyna.

SUMMARY

Now in reconstructive veterinary surgery the great interest is given to materials which can carry out function of a temporary directing framework for reparation, also capable gradually to be replaced with self tissue.

In work results of researches on application of materials on a basis of hydroksiappatite and b-tri-calciphosphate, applied to operative treatment of purulent osteomyelitis at cats, are presented. Researches were conducted on cats with clinical symptoms of purulent osteomyelitis of tubular bones. 2 groups of animals were created.

In the first group was used the granulated implant Biomin-GT, in second Biomin-gTIS

(alloyed by silver). All animal were carried out a necro-secvestor-ectomy and plasticity of a bone cavity, was conducted a course of antibiotic therapy and for stimulation of the reparative processes, to the animals of the first group, was applied katozal, and to the animals of the second group - rumosol. In this work data of histological researches of long tubular bones structure are provided, investigated by an interval in one, two and three months after treatment. Results of microscopic researches are presented at various methods of treatment of purulent osteomyelitis at cats. By results of histological researches, it is established, that the most effective for plasticity of bone defects after necro-secvestor-ectomy, is the granulated implant of Biomin-gTIS. This implant completely resorbed on the third month of researches, strengthened regeneration of bone tissue and promoted its complete recovery.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арсеньев И.Г. Экспериментально-морфологическое обоснование клинического применения деградируемых биоимплантантов в комплексном лечении переломов и ложных суставов длинных трубчатых костей // дис. канд. мед. наук И.Г. Арсеньев – Москва. -2007. – 200с.
2. Березенко М.Н. Стимуляция репаративного остеогенеза при лечении больных с переломами длинных трубчатых костей и шейки бедренной кости (клиническое исследование) // дис. канд. мед. наук : спец. М. Н. Березенко. – Москва. -2005. – 106с.
3. Григоровський В.В. Посттравматичні ураження кісток: патоморфологія та патогенез // автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук В.В. Григоровський. – Харків. -2001. – 38 с.
4. Ладонин С.В. Экспериментальное обоснование использования аллогенного деминерализованного костного имплантанта в комплексном лечении хронического остеомиелита // Морфологические



ФАРМАКОЛОГИЯ, ТОКСИКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ

УДК:619:616-092.19:616-089.163

СТРЕСС- ВЫЗВАННЫЙ КРАТКОВРЕМЕННОЙ 3-Х ЧАСОВОЙ ИММОБИЛИЗАЦИЕЙ У КРЫС

С.В. Винникова (ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ»)

Ключевые слова: стресс, кортикостерон, крысы, иммобилизация.

Key words: stress, corticosterone, rats, immobilization.



Цель исследований – изучение влияния кратковременного стресса и трофологического состояния организма на уровень кортикостерона и на функцию сердечно-сосудистой системы у крыс. Животные содержались в индивидуальных клетках и обеспечивались полноценным стандартным рационом, водой. Физиологическое состояние в норме: частота сердечных сокращений 300-600 ударов в минуту, частота дыхания 110-150 движений в минуту. Моделью кратковременного стрессорного воздействия применяли трёхчасовую иммобилизацию, в состоянии сытости и голода в течение 18-20 ч. Для стресса использовали специальные клетки-«норка» ограничивающие подвижность. Через 20 минут после начала стрессорного воздействия из хвостовой вены отбирали пробы крови для определения кортикостерона. Уровень кортикостерона в состоянии голода у животных подвергавшихся стрессу, в плазме крови через 20 минут после начала воздействия был на 26% выше ($p < 0,05$), чем у контрольных животных голодавших 18-20 часов ($33,8 \pm 4,3$ против $22,5 \pm 2,6$ мкг%). Кортикостерон у сытых крыс через 20 минут после начала иммобилизации был в 2 раза выше ($p < 0,05$), чем у сытых животных в контроле. В отдельной серии получены данные об уровне гормона у сытых крыс через 3 часа после иммобилизации, в конце воздействия уровень гормона оставался 2 раза выше, чем у контрольных животных. Данные подтверждают наличие стресса. В ходе стресса у животных отмечались возбуждения и беспокойства, безразличный взгляд, сильно выраженная одышка, частота дыхания до 200 движений в минуту, пульс до 700 сокращений в минуту, лёгкие судороги, снижение аппетита. При вскрытии у животных наблюдалась гиперемия мезентериальных сосудов, имелись точечные кровоизлияния в тонком отделе кишечника, ярко выраженный метеоризм кишечника, увеличения миокарда. При стрессе сытых и голодавших животных наблюдали повышение кортикостерона через 20 мин после начала воздействия, учащался пульс, дыхание, что подтверждало наличие стресса.

ВВЕДЕНИЕ

Стресс – синдром, который можно охарактеризовать, как психоиммунобиохимический ответ организма на чрезмер-

ный раздражитель[7]. Стресс - осознанно или неосознанно воспринимаемая угроза гомеостазу, при которой ответ имеет степень специфичности, зависящей, среди

других вещей, от особенностей «вызова» гомеостазу, восприимчивости организмом стрессора и способности совладать с ним [2,8,9]. Установлено, что при воздействии стресс-факторов изменяется и нарушается функция надпочечников и гипофиза. Происходит усиление секреции АКТГ и кортикостерона, изменяется функция со стороны желудочно-кишечного тракта, дыхательной, сердечно-сосудистой систем [2,3,4,8,9].

Целью настоящих исследований явилось изучение влияния кратковременного стресса и трофологического состояния организма, (сытость или голодание в течение 18-20 ч) на уровень гормона кортикостерона в плазме крови и на функцию сердечно-сосудистой системы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на 40 крысах, самцах линии Вистар с массой тела 160-230 г. Все животные содержались в индивидуальных клетках и обеспечивались полноценным стандартным рационом, водой. Далее животные были разделены на равные группы (в состоянии голода на 2 группы, в состоянии сытости на 4 группы).

Физиологическое состояние животных: частота сердечных сокращений в норме 300-600 ударов в минуту, частота дыхания 110-150 движений в минуту, артериальное давление 100-130 мм.рт.ст.

В виде модели кратковременного стрессорного воздействия применяли иммобилизацию в течение 3 часов, в состоянии сытости и голода в течение 18-20 ч. Для стрессорного воздействия использовали специальные клетки-«норка» ограничивающие подвижность (рис.1).

Через 20 минут после начала стрессорного воздействия из хвостовой вены отбирали пробы крови для определения уровня кортикостерона. Контролем пробы крови на гормон интактные животные. Концентрацию кортикостерона в плазме измеряли флюориметрическим микро-

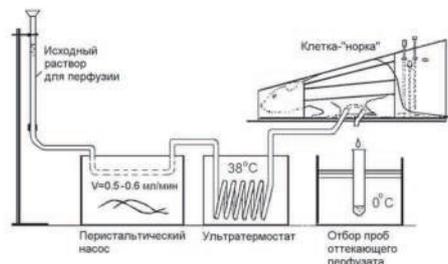


Рис.1. Клетка-«норка» для проведения хронических экспериментов.

тодом [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Уровень кортикостерона в состоянии голода (таблица №1) у опытных животных, подвергавшихся стрессу, в плазме крови через 20 минут после начала стрессорного воздействия был на 26% выше ($p < 0,05$), чем у контрольных животных голодавших 18-20 часов и не подвергавшихся стрессорному воздействию ($33,8 \pm 4,3$ против $22,5 \pm 2,6$ мкг%).

Уровень кортикостерона у сытых крыс (таблица №2) через 20 минут после начала иммобилизации в плазме крови был в 2 раза выше ($p < 0,05$), чем у сытых животных в контроле, то есть в отсутствие воздействия. В отдельной серии опытов мы получили также данные об уровне этого гормона у сытых крыс через три часа после иммобилизации. Можно видеть, что даже в конце стрессорного воздействия уровень этого гормона оставался примерно 2 раза более высоким, чем у контроль-

Таблица 1
Уровень кортикостерона (мкг%) в плазме крови голодавших крыс при стрессорном воздействии

Контроль (К)	$22,5 \pm 2,6$; (n=4)
Стресс (С)	$33,8 \pm 4,3$; (n=5) К/С ($p < 0,05$)

Таблица №2

Уровень кортикостерона (мкг%) в плазме крови сытых крыс при стрессорном воздействии

Вариант опыта	Уровень кортикостерона (мкг%)
Контроль (1), n=5	17,5 ± 2,3
Стресс (1), n=5	35 ± 3,8; C/K (p < 0,05)
Контроль (2), n=6	3,2 ± 0,71
Стресс (2), n=5	5,9 ± 1,5

Стресс (1)– через 20 минут после начала стрессорного воздействия, соответственно.

Стресс (2) - через 3 часа после начала стрессорного воздействия, соответственно.

ных животных, однако из-за большой вариабельности данных эти различия оказались статистически недостоверными. Полученные данные подтверждают наличие стресса у животных в условиях использованной нами.

В наших опытах в ходе стрессорного воздействия у животных отмечались признаки возбуждения и беспокойства, которые более выражены в состоянии голода, чем у сытых животных. У отдельных крыс наблюдалась безразличный взгляд, сильно выражена одышка, частота дыхания доходила до 200 движений в минуту, пульс доходил до 700 сокращений в минуту, лёгкие судороги. После стрессорного воздействия был снижен аппетит. При вскрытии у животных, подвергавшихся стрессу, наблюдалась гиперемия мезентериальных сосудов, имелись точечные кровоизлияния в тонком отделе кишечника, ярко выраженный метеоризм кишечника, увеличения миокарда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе трехчасовой иммобилизации как сытых, так и голодавших животных мы наблюдали у них повышение уровня кортикостерона в плазме крови через 20 мин после начала воздействия (по сравнению с аналогичным показателем в соответствующем состоянии в отсутствие воздействия), также учащалось дыхание и пульс, что подтверждало наличие стресса у животных в наших экспериментальных условиях[5,6,8,9].

Stress in rats induced by a short-term

at 3 hour immobilization.

S.V. Vinnikova.

SUMMARY

The purpose of researches – study of influence of a short-term stress and trophologic condition of the organism on corticosterone level and on function of cardiovascular system at rats. Animals were sheltered in individual cages and were provided with a full-fledged standard diet, water. Physiological state in norm: frequency of heart rate - 300-600 beats per minute, frequency of breath - 110-150 movements/minute. Model of short-term stress influence were a 3 hour immobilization, in a condition of satiety and hunger during 18-20 h. For a stress situation were used special cages - "little hole" limiting mobility. In 20 minutes after the beginning of stress influence were selected blood samples from a tail vein for corticosterone definition. Corticosterone level in blood plasma at animals in a condition of hunger(being exposed to a stress) after 20 minutes of the beginning of influence was 26% higher (p<0,05), than at control animals at hunger for 18-20 hours (33,8±4,3 against 22,5±2,6 mcg %). Corticosterone level at full rats in 20 minutes after the beginning of an immobilization was twice higher (p<0,05), than at full control animals. In a separate test were obtained data on hormone level at full rats in 3 hours after immobilization, at the end of stress – influence, level of a hormone remained 2 times higher, than at control animals. Data confirm stress existence. During a stress at animals

were registered agitation, anxiety, the blank look, breath frequency to 200 movements a minute, pulse to 700 movements / minute, slight spasms, decrease in appetite. When autopsy at animals the hyperemia of the mesenteric vessels was observed, there were dot hemorrhages in intestinal, fine meteorism of intestines, increase in a myocardium. At a stress of full and starving animals in 20 minutes after the beginning of influence was observed corticosterone increase, pulse, breath became frequent, that confirmed stress existence.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балашов Ю.Г. Флюориметрический микрометод определения кортикостероидов: сравнение с другими методами // Физиол. журн. -СССР. -1990 – Т.76. -№2. -С. 280-283.
2. Кокс Т. Стресс // Под ред. Г.И. Косицкого. -М.: Медицина. -1981. -213с.
3. Першин С.Б. Стресс и иммунитет. -М.: КРОН-ПРЕСС. -1996. -160с.
4. Робу А.И. Стресс и гипоталамические гормоны // Отв. Ред. В.Б. Розен. Кишинёв. «Штиинца». -1989. -220с.
5. Соколов В.Д. Фармакологическая и физическая коррекция стрессов и продуктивности животных // Учебное пособие. - Ленинград. -1990. -С. 1-31.
6. Соколов В.Д. Необходимость постоянной фармако-коррекции стрессов и иммунодефицитов животных «Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки» // Экспресс-инфо. С.-Петербург. -2001. -Вып. 9. -С. 3-4.
7. Соколов В.Д. Фармакологическая коррекция патологических синдромов (сооб. 2) В.Д. Соколов «Новые ветеринарные препараты и кормовые добавки» // Экспресс-инфо. С.-Петербург. -2002. -Вып. 12. -С. 3-4.
8. Goldstein D.S., Kopin I.J. Evolution of concepts of stress // Stress. -2007. -V.10. -№2. -P. 109-120.
9. Ladewig J. Chronic intermittent stress: a model for the study of long-term stressors // The biology of animal stress. Basic principles and implications for animal welfare, edited by Moberg GP and Mench JA. Wallingford. -Oxfordshire, UK: CAB International. -2000.

УДК 619:615

О БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ ДИЛАКТИН ФОРТЕ ПЛЮС В ПРОИЗВОДСТВЕ МЯСА КУР

И. В. Шамеко, Н.Л. Андреева (ФГБОУ ВПО СПбГАВМ)
В.В. Евелева (ГНУ ВНИИПАКК Россельхозакадемии)

Ключевые слова: пищевая добавка, мясо кур, срок годности
Key words: food additives, poultry, expiration date



Применение комплексных пищевых добавок в птицепереработке обеспечивает решение целого ряда актуальных проблем, в том числе повышения микробиологической безопасности полуфабрикатов и готовой продукции, увеличения сроков годности и повышения их конкурентоспособности на рынке.

Комплексные лактат-, ацетат- и пропионатсодержащие пищевые добавки характеризуются широким интервалом варьирования активной кислотности (от 2,1 до 6,5 ед. рН),

обеспечивают повышение стойкости продукта к микробной порче, ингибирование окислительной порчи жиров и стабилизацию органолептических характеристик, что обеспечивает эффективность их использования в различных технологиях переработки сырья животного происхождения.

В данной работе представлены результаты исследования токсикологической безопасности и эффективности применения комплексной пищевой добавки «Дилактин Форте Плюс» (ТУ 9199-093-00334557-2011) для пролонгирования сроков годности фасованного охлажденного мяса кур. Состав испытуемой добавки включает в преобладающем количестве молочную кислоту E270 и лактат натрия E325, а также уксусную кислоту E260 и пропионовую кислоту E280.

Показана безопасность испытуемой добавки: вводимая без разбавления в дозе 5000 мг/кг она не оказывает острого токсического действия на организм белых крыс. Выявлено, что при содержании 3% в мясо-пептонном бульоне эта добавка ингибирует развитие тест-культур бактерий *E.coli*, *St. aureus*, *Sal. typhimurium*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *A. baumannii*.

Эффективность применения комплексной пищевой добавки достаточно убедительно характеризуется изменением значений перекисного числа и количества летучих жирных кислот в мясе кур в процессе его хранения.

Исследованиями органолептических и физико-химических показателей констатировано, что мясо кур, обработанное с использованием комплексной пищевой добавки «Дилактин Форте Плюс», в течение 10 сут. хранения сохраняет потребительские свойства свежего мяса.

ВВЕДЕНИЕ

Применение комплексных пищевых добавок в птицепереработке обеспечивает решение целого ряда актуальных проблем, в том числе повышения микробиологической безопасности полуфабрикатов и готовой продукции, увеличения сроков годности и повышения их конкурентоспособности на рынке.

По данным Международной программы развития птицеводства в России в настоящее время констатируется, что темпы потребления мяса птицы опережают производство. Растущий спрос на эту продукцию стимулирует рост цен и расширяет возможности импортеров в присутствии на отечественном рынке. Вступление России в ВТО актуализирует проблемы повышения микробиологической безопасности мясной продукции и стабилизации потребительских свойств её в процессе хранения.

На основе результатов многолетних исследований, проводимых в ГНУ ВНИИПАКК Россельхозакадемии, выяв-

лено, что для обеспечения безопасности и пролонгирования сроков годности продукции переработки сельхозсырья с успехом могут быть использованы комплексные лактат-, ацетат- и пропионатсодержащие пищевые добавки [1-3]. Добавки этой серии характеризуются широким интервалом варьирования активной кислотности (от 2,1 до 6,5 ед. рН), обеспечивают повышение стойкости продукта к микробной порче, ингибирование окислительной порчи жиров и стабилизацию органолептических характеристик, что обеспечивает эффективность их использования в различных технологиях переработки сырья животного происхождения.

В настоящее время для антимикробной обработки тушек птицы используют зарегистрированные и разрешенные Роспотребнадзором в качестве технологических вспомогательных средств следующие дезинфектанты: перекись водорода, сепакол (хлорид цетилпиридина), надуксусная кислота (пероксиуксусная кислота) [4-7].

С точки зрения безопасности в технологиях поверхностной обработки мяса птицы предпочтительнее использовать комплексные пищевые добавки на основе органических кислот и их солей, имеющих статус GRAS. К числу широко применяемых пищевых добавок для снижения микробной обсемененности пищевой продукции относятся такие органические кислоты, как молочная, уксусная и пропионовая. Совместное применение молочной и уксусной кислот в составе различных комплексных пищевых добавок усиливает подавляющее действие на рост и размножение бактерий и способствует улучшению как технологических, так и органолептических показателей мяса [8-10].

В данной работе представлены результаты исследования токсикологической безопасности и эффективности применения комплексной пищевой добавки «Дилактин Форте Плюс» (ТУ 9199-093-00334557-2011) для пролонгирования сроков годности фасованного охлажденного мяса кур.

Состав испытуемой добавки включает в преобладающем количестве молочную кислоту E270 и лактат натрия E325, а также уксусную кислоту E260 и пропионовую кислоту E280.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Безопасность комплексной пищевой добавки «Дилактин Форте Плюс» определяли по результатам токсикологических исследований.

При определении острой токсичности в качестве подопытных животных использовали белых крыс в возрасте 2 мес. и цыплят-бройлеров в возрасте до 1 мес. В опытных группах вводили испытуемую добавку в нативной форме (без разбавления водой) однократно утром натощак: белым крысам внутривентрикулярно в дозе 5000 мг/кг, цыплятам - с помощью зонда в зоб в дозе 6000 мг/кг; в контрольных группах крысам и цыплятам вводили дис-

тиллированную воду аналогичными приемами в тех же количествах. Продолжительность наблюдения за подопытными животными составила 14 сут. На 2-й, 7-й, 14-й день исследований проводили взвешивание животных и птицы, на 15-й день - взвешивание и последующие эвтаназия и вскрытие для их патолого-анатомической оценки.

Определение субхронической токсичности добавки проводили на белых крысах. В опытной группе добавку вводили в виде разбавленного (1/2 C_{исх.}) водного раствора внутривентрикулярно в течение 10 сут. утром натощак в дозе 5000 мг/кг/сутки, в контрольной группе - дистиллированную воду аналогичным образом в той же дозе. Длительность эксперимента 11 сут., по завершении которого был произведен забор крови у крыс и проведены её клинические и биохимические исследования.

Эффективность применения комплексной пищевой добавки «Дилактин Форте Плюс» оценивали по результатам исследования антагонистической активности добавки по отношению к потенциально-опасным микроорганизмам, а также по изменению органолептических, физико-химических и микробиологических показателей качества обработанного водными растворами добавки мяса кур.

Исследования антагонистической активности добавки проводили методом последовательных посевов тест-культур бактерий *A. baumannii*, *Ps. fluorescens*, *Ps. aeruginosa*, *E.coli*, *St. aureus*, *Sal. Typhimurium* на мясо-пептонном бульоне и мясо-пептонном агаре и соответствующим культивированием бактерий на указанных средах в присутствии добавки при температуре 37°C в течение 1 сут.

Опытные образцы мяса кур (части тушек кур) охлаждали в водном растворе испытуемой пищевой добавки, а контрольные - в водопроводной воде, после чего образцы упаковывали в пищевую

пленку и хранили при температуре (4±2) °С. Микробиологические, органолептические и физико-химические показатели опытных и контрольных образцов определяли с использованием стандартизованных и принятых в исследовательской практике методов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При определении острой токсичности комплексной пищевой добавки «Дилактин Форте Плюс» установлено, что в течение всего эксперимента подопытные белые крысы и цыплята-бройлеры, получавшие добавку, были подвижны, активно поедали корм и пили воду, угнетенного состояния не наблюдалось. Динамика их массы тела была положительной в течение всего периода наблюдения как в опытных, так и в контрольных группах. Анатомирование подопытных животных также не выявило наличия изменений, характеризующих интоксикацию их организма, что свидетельствует об отсутствии острого токсического действия комплексной пищевой добавки «Дилактин Форте Плюс».

При оценке субхронической токсичности комплексной пищевой добавки «Дилактин Форте Плюс» выявлено, что показатели клинических и биохимических анализов крови лабораторных животных в опытной группе незначительно

отличались от аналогичных показателей в контрольной группе, о чем свидетельствуют представленные на рис. 1 и 2 результаты в относительных единицах, полученных исходя из средних арифметических значений исследуемых показателей в опытных и контрольных группах. Значения показателей крови животных в контрольных группах приняты за 100%.

Исследованиями антагонистической активности добавки по отношению к потенциально-опасным микроорганизмам *A. baumannii*, *Ps. fluorescens*, *Ps. Aeruginosa*, *E. coli*, *St. aureus*, *Sal. typhimurium* показано, что присутствие 3% добавки в мясо-пептонном бульоне является достаточным для подавления роста всех испытываемых тест-культур (табл. 1).

Полученные результаты оценки антагонистической активности добавки по отношению к тест-культурам потенциально-опасных микроорганизмов подтверждены данными микробиологических испытаний мяса кур, обработанного водным раствором добавки. Установлено, что предложенная добавка инактивирует рост потенциально опасных микроорганизмов *E. coli*, *Proteus*, БГКП (колиформы), выявленных в исходных образцах мяса кур (до обработки) и в контрольных - при их хранении. На рис. 3 показана динамика общего микробного числа

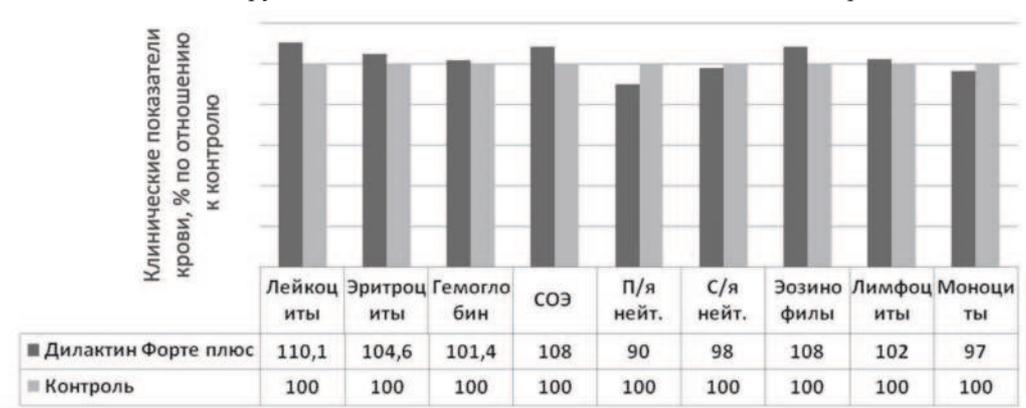


Рис. 1. Сравнительная оценка клинических показателей крови крыс в относительных единицах в опытных (Дилактин Форте Плюс) и контрольных группах (Контроль)

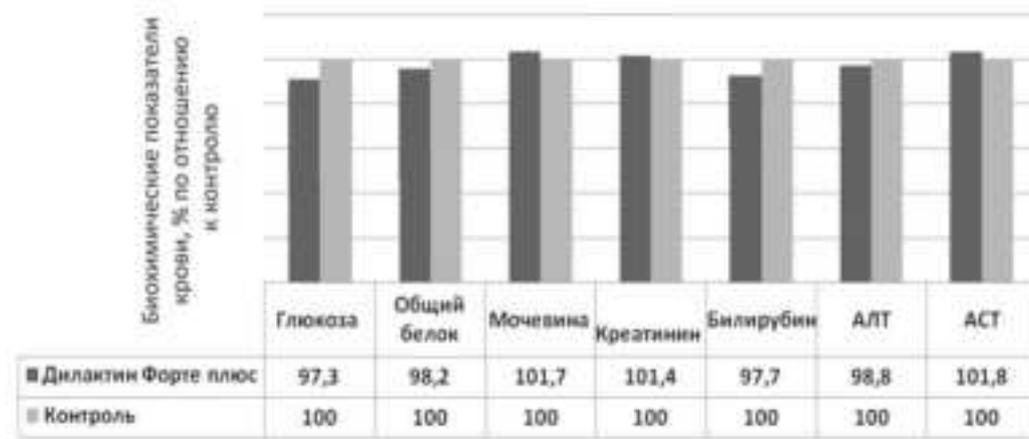


Рис. 2. Сравнительная оценка биохимических показателей крови крыс в относительных единицах в опытных (Диалактин Форте Плюс) и контрольных группах (Контроль)

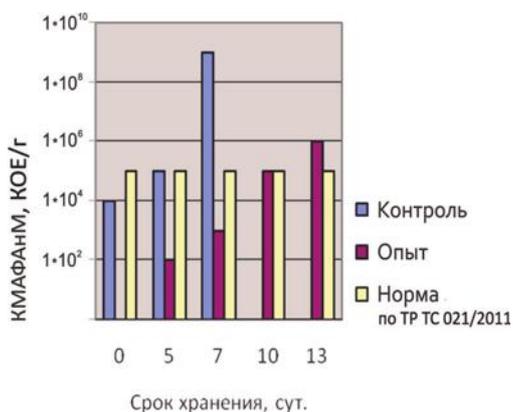


Рис. 3 - Показатели КМАФАнМ в мясе птицы в зависимости от сроков хранения

(КМАФАнМ) охлажденного мяса птицы в процессе его хранения.

Эффективность применения комплексной пищевой добавки достаточно убедительно характеризуется изменением значений перекисного числа и количества летучих жирных кислот в мясе кур в процессе его хранения. Приведенные на рис. 4 и 5 данные отражают ингибирующее действие добавки на процессы окислительной порчи мяса кур в процессе хранения.

Исследованиями органолептических и физико-химических показателей констатировано, что мясо кур, обработанное с

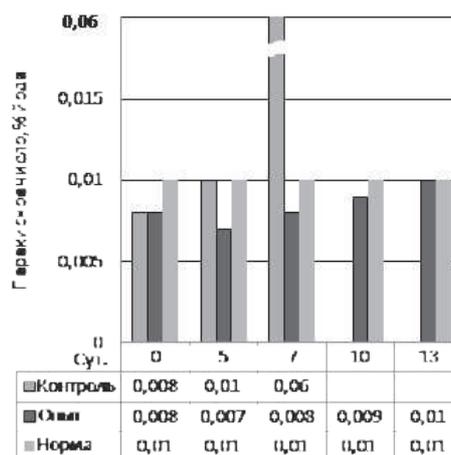


Рис. 4. Количественные изменения перекисного числа в мясе птицы в процессе хранения

использованием комплексной пищевой добавки «Диалактин Форте Плюс», в течение 10 сут. хранения сохраняет потребительские свойства свежего мяса и по всем нормируемым показателям качества соответствует требованиям ГОСТ Р 51944-2002 в то время, как контрольные образцы мяса через 5 сут. хранения имели признаки порчи.

Таким образом, применение комплексной пищевой добавки «Диалактин форте

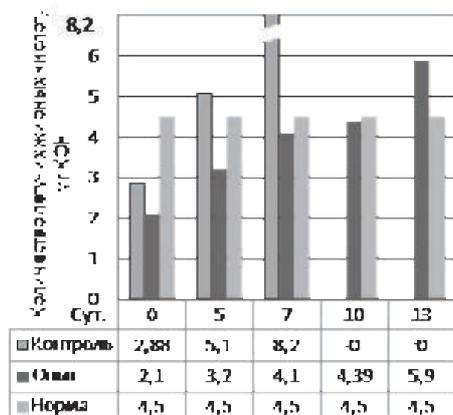


Рис. 5. Количественные изменения летучих жирных кислот в мясе птицы в процессе хранения

плюс», разработанной ГНУ ВНИИПАКК и выпускаемой ООО «ИНПАКК» (г. Санкт-Петербург, Россия), обеспечивает повышение микробиологической безопасности и пролонгирование сроков годности охлажденного мяса кур в процессе хранения при низких положительных температурах.

Стабилизация потребительских свойств мяса кур (частей тушек кур) при хранении обусловлена формированием в поверхностном слое антимикробного защитного слоя и инактивированием биохимических процессов окислительной порчи.

About safety and efficiency of application of a food additive of dilaktin forte plus in production of chicken meat.

I.V. Shameko, N.L. Andreeva, V.V. Eveleva.

SUMMARY

Use of complex dietary supplements in a poultry meat processing provides the solution of a number of actual problems, including increase of microbiological safety of half- and prepared foods, increase in expiry dates and increase of their competitiveness in the market.

Complex of lactate -, acetate - and propionate-containing food additives are charac-

terized by a wide interval of a variation of active acidity (from 2, 1 to 6, 5 units pH), provides increase of product resistance to microbe contamination, inhibition of oxidizing damage of fats and stabilization of organoleptic characteristics, that provides efficiency of their use in various technologies of processing of raw materials of an animal origin.

In this work are presented results of research of toxicological safety and efficiency of the use of complex dietary supplement "Dilactin Forte Plus" (TU 9199-093-00334557-2011) for prolongation of expiration dates of the packed-up cooled poultry meat. The content of tested additive includes E270 milk acid and E325 sodium lactate in prevailing quantity, and also E260 acetic acid and propionic acid E280. Safety of the tested additive is shown: added without dilution in a dose of 5000 mg/kg, it has no sharp toxic effect on an organism of white rats. It is revealed, that at the concentration of 3-% in meat-peptone broth this additive inhibits development of test cultures of microbes *E.coli*, *St. aureus*, *Sal. typhimurium*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *A. baumannii*.

Efficiency of the use of complex dietary supplement is rather convincingly characterized by change of values of peroxide number and amount of volatile fatty acids in poultry meat in the course of its storage.

By researches of organoleptic, physical and chemical indicators, it is noted, that poultry meat, processed with the use of complex dietary supplement «Dilactin Forte Plus» keeps consumer properties of fresh meat during 10 days of storage.

ЛИТЕРАТУРА

1. Евелева В.В., Черпалова Т.М., Филимонова И.Н. Научные разработки в области повышения качества и безопасности пищевых продуктов // Инновационные технологии пищевых добавок. Юбилейный сборник научных трудов / Под редакцией д-ра техн. наук Т.А. Никифоровой; ГНУ ВНИИ пищевых ароматизаторов, кислот

- и красителей Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, 01-02 июня 2011 г. – СПб. - 2011. – С. 159-167.
2. Патент РФ 2273445 А 23 В 4/12, А 23 В 4/027. Способ производства фаршевых мясных продуктов / Евелева В.В., Филимонова И.Н. - № 2004112859; заявл. 26.04.2004; опубл.10.04.2006.
3. Патент РФ 2366191 А 23 В 4/12, А 23 В 4/027. Способ обработки сырых тушек птицы / Евелева В.В., Андреева Н.Л., Ярошенко В.С. - №2007137875; заявл. 12.10.2007; опубл. 20.04.2009.
4. Письмо Роспотребнадзора №01/9115-0-31 от 18.06.2010 «О списке дезинфектантов, разрешенных в Российской Федерации», утв. Г.Г. Онищенко.
5. Гуцин В.В. Безопасность продуктов питания – одна из основных проблем птицепромышленности / В.В. Гуцин, Г.Е. Русанова, Н.И. Риза-Заде // Материалы 17-й Международной конференции ВНАП «Инновационные разработки и их освоение в промышленном производстве». Сергиев Посад.- 2012. - С. 448-450.
6. Митрофанов Н.С. Микробиология охлажденного мяса птицы / Н.С. Митрофанов // Мясная индустрия. -2008. - №4. - С.30-34.
7. Сэмс Р.А. Переработка мяса птицы / Под ред. Алана Р. Сэмса; пер. с англ., под науч. ред. В.В. Гущина. – СПб.: Профессия. -2007. – 432 с.
8. Андреева Н.Л. Токсикологическая оценка пищевых добавок и препаратов для обработки мяса птицы / Н.Л. Андреева, И.В. Морозова, В.В. Евелева // Сборник материалов международной науч.-практ. конф. «Инновационные технологии – основа модернизации отраслей производства и переработки сельскохозяйственной продукции» ГНУ Поволжский науч.-исслед. ин-т производства мясомолочной продукции Россельхозакадемии, Волгоград, 5–7 июля 2011 г. – Волгоград. -2011. – С. 250-251.
9. Debevere J.M. The use of buffered acidulant systems to improve the microbiological stability of acid foods / J.M. Debevere // Food Microbiology. - 1987. - N 4. - P. 105-114.
10. Morais, H. Departamento de Tecnologia dos Produtos Agrarios Estacao Agronomica Nacional Portugal / H. Morais, A. Ramos, C. Ramos, L. Gomes // Agron. Lusit Est. Agron. Nac. – 2000. - V.48. - № 1-2. - P. 5-16.

УДК 619:606:616.61

ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК У КОТОВ ПРИ ОСТРОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

А.И. Мазуркевич, А.Л. Бобось (НУБиП Украины, г. Киев)

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, острая почечная недостаточность, коты, биохимические показатели.

Key words: stem cells, acute renal failure, cats, biochemical parameters.

В настоящее время большой интерес представляет собой новое направление клеточной биологии – клеточная и тканевая инженерия, раздел прикладной науки дающий возможность обеспечивать восстановление поврежденных тканей в организме за счет

трансплантации клеток, выращенных *in vitro*. В работе представлены результаты исследований по применению алогенных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) для восстановления выделительной функции почек у кошек при экспериментальной острой почечной недостаточности (ОПН). В опыте участвовали 9 кошек со средней живой массой 2,5 кг. Животные были разделены на 3 группы по три животного в каждой (1 группа – контроль, интактные животные; 2 группа – животные с смоделированной ОПН; 3 группа – животные с смоделированной ОПН с введения им МСК. ОПН вызывали внутримышечным введением 50%-ого водного раствора глицерола в дозе 8 мл/кг массы тела. Через 48 ч. после введения глицерола, животным третьей опытной группы внутривенно (в бедренную вену) вводили МСК в количестве 5×10^6 в 10 мл физиологического раствора. Биохимические исследования крови проводили на 3, 7, 14 и 21 сутки эксперимента. С целью исследования уровня выделительной и электролитно-регуляторной функции почек в пробах сыворотки крови определяли содержимое мочевины, креатенина и мочевой кислоты, а также концентрацию ионов К, Са, Р, Na. В работе представлена динамика изменений биохимических показателей крови опытных и контрольной группы животных. Показана эффективность применения алогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга с лечебной целью при экспериментально-смоделированной острой почечной недостаточности почек кошек.

ВВЕДЕНИЕ

Достижение клеточной биологии привели к формированию нового направления – клеточной и тканевой инженерии, которая дает возможность обеспечивать восстановление поврежденных тканей в организме за счет трансплантации клеток, выращенных *in vitro* [3].

Наиболее перспективным в данном отношении оказалось использование мезенхимальных стволовых клеток (МСК). В первую очередь это обусловлено доступностью источников их получения, возможностью быстрого наращивания клеточной массы *in vitro* и наличием иммуномоделирующих свойств, которые разрешают их успешное применение алогенному реципиенту [7].

В ветеринарной медицине довольно часто встречаются случаи заболеваний с синдромом острой почечной недостаточности (ОПН). Известно, что потеря значительного количества клеток при острой почечной недостаточности приводит к резкому нарушению функции почек. Поскольку острая почечная недостаточность развивается вследствие повреждений клубочков и канальцев, а в 40 % случаев –

именно вследствие острого некроза канальцев с дальнейшей потерей их специфических функций, применение МСК, которые, как известно, имеют способность восстанавливать эпителий разрушенных канальцев, могло бы дать положительные результаты [4]. В связи с этим, особой актуальности приобретают исследования, посвященные восстановлению выделительной функции почек и устранение синдрома острой почечной недостаточности с помощью МСК.

Целью нашей работы было выучить эффективность применения алогенных мезенхимальных стволовых клеток для восстановления выделительной функции почек у кошек при экспериментальной острой почечной недостаточности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты на животных проведены с соблюдением требований Закона Украины "О защите животных от жестокого обращения" (2006) и положений "Европейской конвенции относительно защиты позвоночных животных, которых используют в экспериментальных и других научных целях" (1986).

В опытах было использовано 9 кошек

со средней живой массой 2,5 кг. Животные были разделены на 3 группы по три животного в каждой (1 группа – контроль, интактные животные; 2 группа – животные с смоделированной ОПН; 3 группа – животные с смоделированной ОПН с введения им МСК). Все подопытные животные содержались в клетках на протяжении всего периода исследований.

Котов 2-й и 3-й групп выдерживали 24 часа без пищи, после чего моделировали им острую почечную недостаточность внутримышечным введением 50%-ого водного раствора глицерола в дозе 8 мл/кг массы тела в равных частях в участки задних лап. Уже через сутки у этих животных развилась ОПН с характерными для нее признаками [6].

Через 48 ч. после моделирования у котов вышеупомянутой патологии почек, животным третьей исследовательской группы внутривенно (в бедренную вену) вводили МСК в количестве 5×10^6 , полученных с костного мозга животных по методике запатентованной сотрудниками кафедры физиологии, патофизиологии и иммунологии животных НУБиП Украины, иммобилизованных в 10 мл физиологического раствора [5]. Контрольной группе животных вводили физиологический раствор. На 7, 14 и 21 сутки проводили отбор крови из сосудистых предварительно установленных катетеров.

Биохимические показатели сыворотки крови исследовали с помощью автоматического биохимического анализатора VITROS-250 (США) согласно добавленной к нему инструкции. С целью исследования уровня выделительной и электролитическо-регуляторной функции почек в пробах сыворотки крови определяли содержание мочевины, остаточного азота мочевины ОАМ, креатенина и мочевой кислоты, а также концентрацию ионов К, Са, Р, Na.

Статистическую обработку цифровых данных осуществляли с помощью пакета

статистических программ Microsoft Excel. При этом определяли среднюю арифметическую величину (М), среднее отклонение ($\pm m$) и критерий достоверности (t). Статистически достоверным результат считали разность между величинами, при которой коэффициент (Р) не превышал значения 0,05, что есть общепринятым в биологических исследованиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Как видно из данных, приведенных в таблице 1, в животных 2-й группы уже на 3-е сутки опыта в сыворотке крови достоверно возрастает уровень мочевины в 6,5 раз, креатенина в 10 раз и концентрации мочевой кислоты на 6,8%. Задержка их в организме является характерным признаком возникновения нарушений выделительной функции почек и развития ОПН [1].

Как видно из таблицы, высочайший уровень мочевины зарегистрировано на 3-е сутки после моделирование ОПН, когда в организме образовывается избыток продуктов обмена веществ, в том числе аммиака и азотосодержащих соединений. Аммиак как чрезвычайно токсичная для клеток нервной системы соединение, подлечит обезвреживанию в тканях путем образования нейтральных соединений – аминокислот, аминов и мочевины. Благодаря этому, содержимое аммиака поддерживается в крови и тканях на ничтожно малом уровне [1].

Очевидно, возможное повышение уровня мочевины на 3-е сутки эксперимента связано не только с задержкой мочевиновыделения, которое регистрируется клинически, а и усилением процессов мочевинообразования в печени вследствие образования излишка аммиака за массового разрушения клеток в почках под влиянием введенного глицерола. Дальнейшее снижение уровня мочевины в крови до 30,1 ммоль/л на 7-е сутки эксперимента и до 19 ммоль/л на 21 день эксперимента указывает, с одной стороны,

на снижение активности процессов мочевинообразования (через уменьшение уровня аммиака в крови), а с другой – на постепенное, хотя и незначительное, восстановление выделительной функции почек.

Как известно, мочевая кислота – конечный продукт обмена пуриновых основ – аденозина и гуанозина, азотосодержащее низкомолекулярное вещество, которое образовывается при деградации эндогенных нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), а также в результате катаболизма нуклеиновых кислот, которые поступают с пищей. Из печени транспортируется плазмой а почки, где фильтруется и выделяется порядка 70% данного соединения. Другое количество мочевой кислоты удаляется через желудочно-кишечный тракт. Поскольку мочевая кислота (основная часть мочевой кислоты) выводится из организма почками, ее уровень в крови повышается при снижении выделительной функции почек [4]. Достоверное повышение мочевой кислоты в сыворотке крови уже с 3-о дня исследований сравнительно с контрольной группой животных свидетельствует о нарушении выделительной функции почек.

Креатенин, как известно, образовывается в мышцах в результате неферментативного отщепления фосфатной группы от креатинфосфату, а также спонтанного превращения креатина в креатенин. Креатенин выводится из крови почками

и относится к так называемым "безпороговым" веществам. В почечных клубочках он свободно фильтруется и, не подвергаясь обратному всасыванию или дополнительной секреции в канальцах, полностью выводится из организма почками с мочой. Поэтому увеличение уровня креатенина в сыворотке крови указывает на уменьшение уровня почечной фильтрации, т.е. снижение функции почек [4]. Очевидно, повышение уровня креатенину в сыворотке крови на 3-е сутки эксперимента в 10 раз сравнительно с контролем связано не только с нарушением выделительной функции почек, а еще и с массивным высвобождением миоглобина через атрофию мышечной ткани в результате введения глицерола. Дальнейшее снижение данного метаболита указывает на постепенное, хотя и незначительное, восстановление выделительной функции почек, а также на снижение концентрации миоглобина в плазме крови.

Как известно, почками принадлежит важнейшая роль в регуляции электролитного гомеостаза в организме. Поэтому характер их колебания свидетельствует о наличии нарушений функциональных возможностей почек в условиях развития острой почечной недостаточности. Показатели динамики содержания электролитов приведены в табл. 2.

Как видно из таблицы, уровень калия на 14-е сутки опыта после моделирования ОПН достоверно повышается с постепен-

Таблица 1
Динамика изменений содержания мочевины, мочевой кислоты и креатенина в сыворотке крови котов при экспериментальной острой почечной недостаточности (n=3; M±m)

№	Показники	Контроль	3 доба	7 доба	14 доба	21 доба
1	Мочевина, ммоль/л	7,3±0,6	48,7±0,9*	30,1±1,9***	29,6±1,5***	19,5±1,6***
2	Мочевая кислота, мкмоль/л	14,7±0,9	15,7±1,4*	16,3±0,9*	15,7±0,8*	16,3±0,4**
3	Креатенин, мкмоль/л	77±4,5	778±4,1***	265±8,1***	269,7±10,8***	169,7±6,6**

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ сравнительно с контролем

ным его снижением до 21 суток в стадию восстановления функций. Как известно, повышение уровня калия в крови свидетельствует о снижении интенсивности его выделение из организма. Такое явление наблюдается при почечной недостаточности в стадии олигурии. Повышение уровня кальция в крови на 14-е сутки исследований свидетельствует, очевидно, о наличии некроза канальцев почек, который, как известно, наблюдается при ОПН [1].

Одновременно явление гиперфосфатемии, что наблюдается через сутки после моделирования ОПН, может оказывать содействие образованию соединений фосфора с кальцием и откладыванием кальция в тканях как реакции на повреждение клеток.

Следует отметить, что уже через сутки после моделирования острой почечной недостаточности в крови животных наблюдается достоверное снижение уровня натрия, которое, очевидно, связанное с потерей этого электролита с мочой [2].

Итак, результаты исследования динамики биохимических показателей крови за экспериментально-смоделированной ОПН у котиков показывают, что под влиянием введенного глицерола происходит нарушение функционального состояния почек, которое типичное для острой почечной недостаточности.

Результаты изучения динамики биохимических показателей сыворотки крови котиков 3-й группы после введения им в кровь МСК в количестве 5×10^6 приведены в табл. 3.

Так, у исследовательских животных, которым через 48 часов после моделирования острой почечной недостаточности ввели МСК, уровень мочевины снизился к контрольным показателям и свидетельствует о восстановлении функции почек уже на 7-е сутки с дальнейшим снижением, на 21-е сутки – снижению ниже уровня против показателей контрольной группы животных. С одной стороны такая динамика указывает на возможность существенной активизации выделительной функции почек, с другой - на возможное снижение содержимого циркулирующего аммиака к критическому уровню после интенсивного разрушения белков в предыдущие дни, когда происходило разрушение эпителия канальцев и других клеток в вследствие активного рабдомиолиза.

Уровень мочевой кислоты в сыворотке крови достоверно снизился к физиологическим границам сравнительно с контролем через 14 дней после введения МСК, что свидетельствует о восстановлении выделительной функции почек. Динамика содержимого мочевой кислоты, приведенная в табл. 3, указывает на восстановление фильтрационной функции

Уровень мочевой кислоты в сыворотке крови достоверно снизился к физиологическим границам сравнительно с контролем через 14 дней после введения МСК, что свидетельствует о восстановлении выделительной функции почек. Динамика содержимого мочевой кислоты, приведенная в табл. 3, указывает на восстановление фильтрационной функции

Таблица 2
Динамика изменений содержания электролитов в сыворотке крови котиков при экспериментальной острой почечной недостаточности (n=3; M±m)

№	Показники	Контроль	3 доби	7 діб	14 діб	21 доба
3	Натрий, ммоль/л	1,71±0,017	1,52±0,015**	1,33±0,012	1,61±0,014**	1,51±0,021**
4	Калий, ммоль/л	5,1±0,2	5,4±0,2	5,5±0,2	6,2±0,1**	5,4±0,1
5	Кальций, ммоль/л	2,7±0,02	2,46±0,03**	1,97±0,1***	2,9±0,04**	2,76±0,04
6	Фосфор, ммоль/л	2,4±0,03	3,8±0,2**	2,6±0,1	2,6±0,05**	2,4±0,03

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ сравнительно с контролем

Таблица 3

Динамика биохимических показателей сыворотки крови котов после введения МСК при острой почечной недостаточности (n=3; M±m)

№	Показники	Контроль	7 доба	14 доба	21 доба
1	Мочевина, ммоль/л	7,3±0,6	7,1±0,5	5,1±0,04	5,9±0,07***
2	Креатенин, мкмоль/л	77±4,5	74±5,2	84,3±0,9	72,7±0,4*
3	Натрий, дмоль/л	1,71±1,7	1,56,3±2,7**	1,57±0,6***	1,47±1,2***
4	Калий, ммоль/л	5,1±0,2	4,3±0,3*	5,3±0,04	7,1±0,3**
5	Кальций, ммоль/л	2,7±0,02	2,4±0,2	2,5±0,01***	2,5±0,03**
6	Фосфор, ммоль/л	2,4±0,03	1,6±0,1**	2,1±0,02***	1,7±0,2*
7	Мочевая кислота, мкмоль/л	14,7±0,9	14±0,01**	14,3±0,4**	14,7±1,5*

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ сравнительно с контролем

почек.

Содержимое креатенина уже с 7 дня эксперимента снизилось к уровню контроля, а на 21-е сутки даже ниже уровня контроля, что, очевидно свидетельствует о восстановлении фильтрационной и выделительной функций почек и снижение в организме источника предшественников образования этого соединения.

Под влиянием введенных МСК улучшается и электролитный гомеостаз организма.

Данные, приведенные в табл. 3 на 7-е сутки эксперимента свидетельствуют о развитии явления гипокалиемии сравнительно с контролем, что, возможно, обусловленная следствием мышечной атрофии, которая имела место в первые сутки развития ОПН и об усилении процессов рабдомиолиза.

Уровень натрия в сыворотке крови с 7-о дня исследований снизился к физиологической норме, что свидетельствует о восстановлении выделительной функции почек, поскольку последний регулируется и выводится именно почками.

Как известно, обмен кальция тесно связан с обменом фосфора. Поскольку фосфор фильтруется в почечных клубочках, а реабсорбируется в почечных канальцах, то его исследование есть диагностирующей составной почечных патологий. Излишек данных элементов регулируются удалением их излишка почками

[1]. Результаты исследований, приведенные в табл. 3 свидетельствуют о тенденции к развитию гипофосфатемии, что, очевидно, обусловлено избыточным его выделением с мочой.

Уровень кальция достиг уровня 2-ой исследовательской группы, который, вероятно, свидетельствует о восстановлении фильтрационной и реабсорбционной функций почек.

Итак, данные табл. 2 указывают на очищение организма, в первую очередь, от креатенина, мочевины и мочевой кислоты. Также восстанавливается реабсорбция минеральных элементов. Такие показатели указывают на нормализацию структуры почек и связанные с ней функции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование эффективности применения алогенных МСК клеток костного мозга с лечебной целью при экспериментально-смоделированной острой почечной недостаточности почек котов показали высокий положительный эффект по восстановлению функционального состояния почек уже с 14 дня исследований.

Impact mesenchymal stem cells for renal excretory function recovery in cats by experimental acute renal failure.

A.Y. Mazurkevich, A.I. Bobos'.

SUMMARY

At present time the great interest represents the new direction of cellular biology –

cellular and tissue engineering, the division of applied science, giving the chance to provide restoration of the damaged tissues in an organism due to transplantation of the cells, which have been grown up by *in vitro*. In our work are presented results of researches on application of the alogenic mesenchymal stem cells (MSC) for restoration of secretory function of kidneys at cats at the experimental sharp kidney insufficiency (SKI). 9 cats participated in experiment with an average live weight of 2,5 kg. Animals were divided into 3 groups on three animals in each (1 group – control, intact animals; the 2-nd group – animals from simulated SKI; the 3-d group – animals from simulated SKI after injection of MSC. SKI was provoked by intramuscular injection of 50% glycerol water solution I in a dose of 8 ml/kg of body weight. In 48 h. after glycerol injection, an animal of the 3-d test group was injected intravenously (in a femoral vein) MSC in amount of 5×10^6 in 10 ml of physiological solution. Biochemical blood tests were carried out for 3,7,14 and 21 days of experiment. With a research objective of the level of secretory and electrolyte-regulatory functions of kidneys, in samples of blood serum were defined urea contents, creatinin and uric acid, and also concentration of ions K, Ca, P, Na. In our work dynamics of biochemical indicators changes in blood of animals from test and control groups are presented. Efficiency of application of the alogenic mesenchymal stem cells of marrow with the medical purpose at experimentally simulated sharp kidney insufficiency of cats is shown.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каньшина Н.Ф. Патологоанатомическая диагностика острой почечной недостаточности. Методические рекомендации / Н.Ф. Каньшина. – М.: СХ. – 1976.– 20с.
2. Карташов М.І., Тимошенко О.П., Кібкало Д.В. та ін. Ветеринарна клінічна біохімія. – Харків. -2010. –400с.

3. Кругляков П.В. Влияние трансплантации мезенхимальных стволовых клеток на течение экспериментального инфаркта миокарда. – М.: Российская государственная библиотека. -2006. –160с.
4. Кучеренко Ю. Л. Болезни почек кошек и собак // Диагностика и лечение. – К.: Здоровье. -2006. –95с.
5. Мазуркевич А.Й., Малюк М.О., Ковпак В.В., Данілов В.Б., Харкевич Ю.О. МПК А61К 35/28. Спосіб отримання фракції моноклеарних клітин кісткового мозку котів із високою проліферативною активністю. -2010.
6. Chander V. Reversal of Experimental Myoglobinurie Acute Renal Failure in Rats by Quercetin, a Bioflavonoid // Phamakologi.– 2004. – Vol. 2773. – № 1. – P. 49–56.
7. Friedenshtein A.J. Osteogenic stem cells in bone marrow // Hematology. –1976, № 4. – P. 267–274.



САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА РЫБ ПРИ ТРИЕНОФОРОЗЕ, В ПРЭСНОВОДНЫХ ВОДОЕМАХ ЯКУТИИ, С УЧЕТОМ ИНТЕНСИВНОСТИ ИНВАЗИИ

М.А. Громова, М.Х. Малтугуева ФГОУ «Якутская государственная сельскохозяйственная академия», г.Якутск.

Ключевые слова: рыба, плероцеркоиды, триенофороз, пресноводные водоемы, санитарная оценка рыбы, интенсивность инвазии. **Key words:** fish, plerocercoids, trienoforoz, freshwater ponds, sanitary assessment of fish, the intensity of infestation.



Цель исследований – изучение физико-химических показателей мышц рыбы пораженной триенофорозом с разной степенью инвазии.

При изучении микробной обсемененности мясо больных рыб исследовали по следующим показателям: КАМФАНМ, наличие сальмонелл, кишечной палочки, протей, стафилококков.

Физико-химические исследования проводили с определением: аммиака и сероводорода (качественные реакции), реакции на пероксидазу, реакции с сернокислой медью и концентрации водородных ионов (рН).

При бактериоскопии мазков из поверхностных слоев мышц больной рыбы обнаружены кокки и палочки в количестве 6-7 в нескольких полях зрения; общая микробная обсемененность КАМФАНМ рыбы составила $1 \times 10^4 \pm 50$ КОЕ/г триенофорозом в начальной стадии заболевания были выделены сальмонеллы из жабр (идентифицирован серовариант *S. enteritidis*); золотистый стафилококк (*St. aureus*) из мышечной ткани; кишечная палочка (*E. coli*) из жабр и мышечной ткани; протей (*Pr. vulgaris*) из печени; с поверхности кожного покрова и мышечной ткани рыб с сильной интенсивностью инвазии, выделен золотистый стафилококк. У рыб, пораженных плероцеркоидами триенофороза при слабой и средней инвазии физико-химические показатели, находятся в пределах требований к доброкачественной рыбе, при сильной инвазии рН составила 7,1, H_2S — положительная реакция.

Химический состав мышечной ткани пораженных триенофорозом рыб показал, что при слабой и средней интенсивности инвазии количество белка в мышечной ткани снижалось соответственно на 3,8%, жира на 5,8%, калорийность мяса на 10,8%, а уровень влаги увеличивался на 2,6%. При сильной интенсивности инвазии указанные показатели были ниже на 7,8%, 15,1%, 23,8%, а увеличение влаги на 16,3%. Полученные данные свидетельствуют о том, что рыба с сильной интенсивности инвазии в ветеринарно-санитарном отношении представляет опасность как пищевой продукт.

ВВЕДЕНИЕ

Рыба относится к ценным пищевым продуктам. Однако различные болезни

тормозят производство и снижают товарные и санитарные качества рыбы и рыбных продуктов.

Всего в пресных водоемах Якутии обитают 40 видов рыб, а также гибриды. Рыбы в каждом водоеме образуют множество популяций, и все они генетически уникальны и неповторимы. Для жителей Республики Саха (Якутия) рыба является одним из основных продуктов питания, ее употребляют как в сыро-мороженном виде, так и в различных видах обработки.

Вместе с тем рыба достаточно часто поражается различными видами болезней, но чаще всего у рыбы обнаруживают паразитарные болезни, инвазированность и интенсивность заражения которыми постоянно возрастают. Изменения химических, гидрологических, климатических и других факторов приводит к различным нарушениям в физиологии и сопротивляемости организма, что приводит к развитию различных заболеваний.

До настоящего времени в научной литературе и действующих санитарных правилах нет каких-либо указаний по санитарной оценке рыб при зараженности рыб плероцеркоидами *triaenophorus*.

В республике Саха (Якутия) зарегистрированы два вида триенофороза: *T.nodulosus* и *T. crassus*.

Ленточные черви рода *Triaenoporus* – широко распространенные паразиты пресноводных рыб большей части Голарктики. Цикл их развития сложный, протекает со сменой окончательного и двух промежуточных хозяев, обитающих в водной среде. Окончательными хозяевами этих цестод служат преимущественно щуки, вторыми промежуточными хозяевами – многочисленные виды рыб, первыми – веслоногие ракообразные. Некоторые виды *Triaenoporus* представляют серьезную опасность для рыб, вызывая на фазе плероцеркоида в ряде случаев массовое заболевание и даже гибель ценных пород рыб.

В кишечнике окончательного хозяина паразитирует гермафродитное половозрелое поколение. Весной половозрелые чер-

ви покидают кишечник щуки и попадают во внешнюю среду. Сроки развития червей претерпевают изменения соответственно колебаниям температуры. В северных реках наблюдается задержка половозрелых червей *T. crassus* в кишечнике щук до конца июня и середины июля. В яйцах червей развиваются ресничные личинки – корацидии. Плавающих в воде корацидиев заглатывают веслоногие рачки – первые промежуточные хозяева. В полости тела развиваются паразитические личинки – процеркоиды. Зараженных циклопов поедают многие виды рыб – вторые промежуточные хозяева.

Во внутренних органах (чаще печени) и мускулатуре рыб, развивается следующая личиночная фаза – плероцеркоид. При заглатывании таких рыб щукой в ее кишечнике из плероцеркоида развиваются взрослые черви.

В целях усиления постоянного ветеринарного контроля за рыбой и качеством пищевой продукции, получаемой из рыб, как возможных источников инвазии, необходимо прежде всего решить вопросы санитарной оценки рыб, в частности при триенофорозе с учетом интенсивности инвазии. Для этого исследовали свежие и свежемороженые рыбы разных видов из пресноводных водоемов Якутии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в лаборатории ЯРВИЛ и на кафедре ветеринарно – санитарной экспертизы патанатомии и гигиены Якутской Государственной Сельскохозяйственной Академии, в соответствии с нормативными документами (ГОСТ, СанПиН и методические рекомендации). Наиболее часто встречалась зараженность плероцеркоидами триенофороза у сигов и сибирской ряпушки.

С целью изучения воздействия паразита на организм рыб изучали физико-химические показатели проб мышц как здоровой, так и пораженной триенофорозом с разной степенью инвазии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведения органолептической оценки рыб, пораженных триенофорозом, установлено: при слабой инвазии, рыба внешне выглядит здоровой. Рыбы с высокой интенсивностью инвазии отличаются от здоровой - весом и размером промысловой длины. У некоторых особей с высокой интенсивностью инвазии наблюдалось, что чешуя не достаточно увлажнена, с трудом выдергивается, глаза тусклые, жабры имеют слабо – серый цвет, плотно прижаты к телу.

При изучении микробной обсемененности мясо больных рыб исследовали по следующим показателям: КМАФАнМ, наличие сальмонелл, кишечной палочки, протей, стафилококков. При проведении исследований больной рыбы на наличие в органах и тканях сопутствующей микрофлоры установили следующее:

- при бактериоскопии мазков из поверхностных слоев мышц обнаружены кокки и палочки в количестве 6-7 в нескольких полях зрения;
- общая микробная обсемененность (КМАФАнМ) рыбы составила $1 \times 10^4 \pm 50$ КОЕ/г;
- при поражении триенофорозом в начальной стадии заболевания были выделены сальмонеллы из жр (идентифицирован серовариант *S. enteritidis*); золотистый стафилококк (*St. aureus*)- из мышечной ткани; кишечная палочка (*E. coli*) -из жабр и мышечной ткани; протей (*Pr. vulgaris*)- из печени;
- с поверхности кожного покрова и мышечной ткани, выделен золотистый стафилококк у рыб с сильной интенсивностью инвазии;

У клинически здоровой рыбы были выделены в единичных случаях кишечная палочка и протей из жабр.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что рыба с сильной интенсивности инвазии в ветеринарно-санитарном отношении представляет

опасность как пищевой продукт. Кроме того, следует учитывать, что заболевание сопровождается наличием возбудителей вторичных инфекций, в частности сальмонелл, при наличии которых такая рыба не подлежит свободной реализации.

Физико-химические исследования проводили с определением: аммиака и сероводорода (качественные реакции), реакции на пероксидазу, реакции с сернокислой медью и концентрации водородных ионов (рН).

Нами было установлено, что у рыб, пораженных прлериоцеркоидами триенофороза при слабой и средней инвазии физико-химические показатели, находятся в пределах требований к доброкачественной рыбе, т.е. рН колебалась от 6,6 до 6,68, при определении H_2S -отрицательный результат, с $CuSCO_4$ -смесь слегка помутнела; при сильной инвазии рН составила 7,1; H_2S - положительная реакция. Можно сделать заключение о том, что мясо рыбы относится к сомнительной свежести.

Химический состав мышечной ткани пораженных триенофорозом рыб показал, что при слабой и средней интенсивности инвазии количество белка в мышечной ткани снижалось соответственно на 3,8%, жира на 5,8%, калорийность мяса на 10,8%, а уровень влаги увеличивался на 2,6%. При сильной интенсивности инвазии указанные показатели были ниже на 7,8%, 15,1%, 23,8% , а увеличение влаги на 16,3%. В качестве контроля исследовано мясо здоровой рыбы (сибирской ряпушки).

Уменьшение уровня белка, жира, золы, калорийности свидетельствуют о глубоком нарушении белкового, жирового и минерального обменов в организме больных рыб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Всю вылавливаемую из неблагополучных по триенофорозу, пораженную рыбу необходимо предварительно сортировать.

Рыба с низкой и средней степенью инвазии подлежит обезвреживанию путем тепловой обработки: проварка при достижении температуры +80° С в толще куска рыбы в течении 5-7 минут с момента закипания или замораживания при температуре - 15°С в течение 6 суток . Рыба с сильной степенью инвазии должна быть направлена на корм животным или на утилизацию.

Sanitary assessment of fishes at Tri-aenophorus, in fresh-water reservoirs of Yakutia, taking into account intensity of an invasion.

М.А. Gromova, М.Н. Maltuguyeva.

SUMMARY

The purpose of researches – studying of physical and chemical indicators of muscles of fish, infected triaenophoroses with different intensity of invasion.

When studying a microbe dissemination meat of sick fishes were investigated on the following indicators: КМАФАнМ, salmonella spp., E.Coli spp., proteus spp., Staph spp.,. Physic- chemical researches were conducted with definition: ammonia and hydrogen sulfide (high-quality reactions), reaction to a peroxidase, reaction with sulfate copper and concentration of hydrogen ions (pH).

At a bacterioscopy of dabs from surface muscles layers of sick fish cocci and sticks in number of 6-7 in several fields of vision were found; the general microbe dissemination (КМАФАнМ) of fish were $1 \cdot 10^4 \pm 50$ CFU/gr.; at triaenophoroses invasion in an initial stage of infection salmonella from gills (the serovariant of S. enteritidis was identified) were allocated; Staph. aureus from muscular tissue; E. coli from gills and muscles; Pr. vulgaris from a liver; from a skin surface and muscles of fishes with strong intensity of an invasion, was allocated Staph. aureus. At fishes, infected with plerocercoides of triaenophoroses at a weak and average invasion, physical-chemical indicators were within limits of requirements for

good-quality fish; at a strong invasion pH was 7,1, H₂S -positive. Chemical content of muscle tissue of fishes infected with triaenophoroses showed that at weak and average intensity of an invasion the amount of protein in muscular tissue decreased respectively for 3,8%, fat for 5,8%, meat calories content for 10,8%, and level of moisture increased for 2,6%. At strong intensity of an invasion indicators, mentioned above, were lower at 7,8%, 15,1%, 23,8%, and increase in moisture was 16,3%. The obtained data state that fish with strong intensity of an invasion in the veterinary and sanitary relation constitutes danger as foodstuff.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горлов И.Ф. Биологическая ценность основных пищевых продуктов животного и растительного происхождения. -Волгоград. -2000. -264с.
2. Куперман Б.И. Ленточные черви рода Triaenophorus – паразиты рыб. - Л.: Наука. -1973. - 207с.
3. Макаров В.А., Боровков М.Ф., Ермолаев А.П. и др. Практикум по ветеринарно-санитарной экспертизе с основами технологии продуктов животноводства.- ВО: «Агропромиздат». -1987. -271с.
4. Скурихина И.М., Волгарева М.Н. Химический состав пищевых продуктов: сравнительные таблицы содержания основных пищевых веществ и энергитической ценности пищевых продуктов. -М: «Агропромиздат». -1987.



БИОХИМИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 639.113.5:612.3:619:616.3-084

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ, ЦЕОЛИТА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЖЕЛУДКА ГО- ЛУБОГО ПЕСЦА ПРИ ГИПОВИТАМИНОЗЕ В₁.

Н.В. Мантатова, А.С. Тасарунова (*Бурятская ГСХА им.В.Р.Филиппова*) г. Улан-Удэ,
С.Е.Санжиева (ВСГУТУ) г. Улан-Удэ, Ч.Б.Кушеев (*Иркутская ГСХА*) г. Иркутск

Ключевые слова: желудок, песец, гастрограмма, гиповитаминоз В₁, пивные дрожжи, цеолит. **Key words:** stomach, polar fox, hypovitaminosis, beer yeast, zeolite.



В настоящее время электрофизиологические методы исследования находят широкое применение в медицине и ветеринарии. Это связано с тем, что электрическая активность живой клетки, ткани, органа, бесспорно, отражает определенные физико-химические сдвиги, происходящие при их жизнедеятельности. Целью нашего исследования была оценка влияния пивных дрожжей, цеолита на электрическую активность желудка голубого песца при гиповитаминозе В₁.

Биоэлектрическую активность гладкой мускулатуры желудка регистрировали при помощи отечественного электрогастрографа ЭГС-4м.

Уровень пировиноградной кислоты (ПВК) определяли колориметрическим методом; тиаминдифосфатный эффект – ТДФ по Берестову В.А., (2000).

После проведенного эксперимента у зверей опытных групп уровень пировиноградной кислоты понизился незначительно и в среднем составил 374,7±4,09 ммоль/л, уровень ТДФ-эффекта остался в пределах 36,0%.

Положительное влияние пивных дрожжей в комплексе с цеолитом и природного цеолита голубым песцам на течение обменных процессов при В₁-гиповитаминозном состоянии в наших опытах необходимо связывать с нормализацией усиленных процессов моторно-эвакуаторной функции желудка: на 30-е сутки СВА до 11,0±0,62 (P≤0,001), ЧИ до 3,5 ±0,12 (P≤0,001), ОУБАЖ до 65,5±0,32 (P≤0,001); у песцов СВА до 11,5±0,87 мВ (P≤0,05), ЧИ до 3,6±0,10 в мин. (P≤0,01), ОУБАЖ до 62,4±1,20 усл. ед. (P≤0,001) против результатов контрольной группы.

Восстановление уровней биоэлектрической активности желудка как показателей их двигательной деятельности непосредственно обязано высоким адсорбционным, ионообменным и биокаталитическим свойствам природных цеолитов, которые активно реализуются в условиях среды желудка.

Стабилизация уровня ПВК в сыворотке крови зверей непосредственно обязана пивным дрожжам, поскольку они содержат самый полный комплекс витаминов группы В, которые улучшают течение обменных процессов, нормализуют функцию внутренних органов, в том числе уровень биоэлектрической активности желудка. Фармакологическое действие различных комплексов, приготовленных на основе пивных дрожжей, осу-

ществляется за счет входящих в их состав биологически активных веществ, способствующих профилактике нарушений углеводного обмена веществ и повышению резистентности организма зверей.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время электрофизиологические методы исследования находят широкое применение в медицине и ветеринарии. Это связано с тем, что электрическая активность живой клетки, ткани, органа, бесспорно, отражает определенные физико-химические сдвиги, происходящие при их жизнедеятельности. Исследования электрических потенциалов позволяют получить достаточно точные показатели морфофункционального состояния тканей и органов [1].

Достоинства методов исследования электрических проявлений жизнедеятельности клеток, тканей и органов объясняются универсальностью, надежностью, динамичностью и локальностью электрических потенциалов, обусловленных их природой [1,2,4].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты по изучению биоэлектрической активности желудка голубых песцов, терапевтическая оценка влияния цеолита, пивных дрожжей в комплексе с природным цеолитом, проведены на голубых песцах в ОАО «Читинское зверохозяйство» Забайкальского края.

Для регистрации биопотенциалов в кардиальный, донный и пилорический отделы желудка голубого песца вживляли электроды, изготовленные из платиновой проволоки сечением 0,5 мм. К электродам припаивали многожильные медные проводки сечением 0,5 мм с полихлорвиниловой изоляцией. Проводки электродов выводили наружу в области холки норки.

Биоэлектрическую активность гладкой мускулатуры желудка регистрировали при помощи отечественного электрогастрографа ЭГС-4м.

При анализе электрогастрограмм учи-

тывали:

1. Частотный спектр волнового процесса;
2. Величину амплитуды записанных потенциалов;
3. Общий уровень биоэлектрической активности желудка;
4. Скорость нарастания или убывания потенциалов.

Биопотенциалы у животных регистрировали с разных отделов желудка (кардиальной, донной и пилорической), в разные сроки – до и после кормления на 14-е, 21-е и 30-е сутки эксперимента. Всего от 7 животных с гиповитаминозом В1 было получено свыше 120 электрогастрограмм.

Уровень пировиноградной кислоты (ПВК) определяли колориметрическим методом; тиаминдифосфатный эффект – ТДФ по Берестову В.А., (2000).

Клинически гиповитаминоз В1 проявлялся угнетением и отказом от корма, бледностью слизистых оболочек, нарушением координации движений, возникновением судорог, понижением температуры тела от 1,5 до 2°C.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты собственных исследований электрической активности желудка песцов на фоне терапевтической оценки влияния пивных дрожжей в сочетании с природным цеолитом в дозе 5мл/3г/кг живой массы зверей на 14-е, 21-е и 30-е сутки до кормления показывают достоверное увеличение СВА, ОУБАЖ и ЧИ на 14-е сутки ($P \leq 0,01$), в сравнении с биопотенциалами на 21-е и 30-е сутки (таблица 1).

ЭГГ - электрогастрография; ОУБАЖ – общий уровень биоэлектрической активности желудка; ЧИ – чистота импульса; СВА – средняя величина амплитуды колебаний.

После кормления песцов на фоне экспериментальной терапии пивными дрожжами в сочетании с цеолитом отмечаем

Таблица 1
Электрическая активность желудка песцов, получавших пивные дрожжи в сочетании с природным цеолитом на 14-е, 21-е и 30-е сутки (M+m, n=7)

Срок, суток	Условие исследования	Показатели		
		СВА(мВ)	ЧИ(в мин.)	ОУБАЖ (усл.ед.)
14 До кормления	Контроль	7,0±1,1	3,1±0,4	62,0±1,1
	Опыт (цеолит+пивные дрожжи)	11,5±1,1**	5,0±0,4***	69,3±1,4***
21 До кормления	Контроль	7,7±1,3	2,5±0,5	60,4±3,4
	Опыт (цеолит+пивные дрожжи)	12,6±1,2	3,5±0,3	69,5±2,3
30 До кормления	Контроль	8,1±1,2	2,2±0,3	60,0±2,5
	Опыт (цеолит+пивные дрожжи)	11,2±1,3	3,0±0,3	67,8±2,4*
14 После кормления	Контроль	11,4±1,4	2,7±0,3	64,0±3,1
	Опыт (цеолит+пивные дрожжи)	15,3±1,3	3,5±0,8	73,1±4,6
21 После кормления	Контроль	11,5±2,1	3,8±0,5	75,0±2,3
	Опыт (цеолит+пивные дрожжи)	15,0±1,2	4,5±0,6	65,5±2,5**
30 После кормления	Контроль	13,6±0,4	4,0±0,1	67,8±0,2
	Опыт (цеолит+пивные дрожжи)	11,0±0,6***	3,5 ±0,1***	65,5±0,3***

Примечание: достоверность различий с контролем* - $P \leq 0,05$ **; $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

понижение электрической активности желудка в опытной группе на 21-е и 30-е сутки эксперимента. Общий уровень биоэлектрической активности желудка на 21-е сутки понижался на 12,5% ($P \leq 0,01$), на 30-е сутки – 3,3% ($P \leq 0,001$); СВА – на 19,1% ($P \leq 0,001$), ЧИ – на 12,5%. На 14-е сутки достоверных изменений выявлено не было.

Тиаминдифосфатный эффект зверей до скармливания пивных дрожжей повышался до 32%, на 14-й день последний не изменялся на 21-е и 30-е сутки понижался до 29-27%. Анализ исследований сыворотки крови на уровень ПВК показывает, что на фоне применения пивных дрожжей в комплексе с цеолитом уровень ПВК понижается с 420,3±4,06 до 284,0±4,16 ммоль/л в опытной группе, по сравнению с таковой в контрольной (261,2±3,05

ммоль/л). У опытных зверей восстанавливается цвет слизистых оболочек, температура тела, исчезает шаткая походка.

Анализируя полученные результаты биоэлектрической активности желудка песцов, получавших цеолит на 14-е, 21-е и 30-е сутки при гиповитаминозе В₁, выявлено повышение показателей электрограмм до приема корма, на 14-е и 21-е сутки ($P \leq 0,01$), в сравнении с биопотенциалами желудка на 30-е сутки до кормления, где не наблюдается изменений электрической активности желудка (таблица 2). ТДФ-эффект у песцов увеличился до 40,0%, уровень ПВК в контрольной группе находился на уровне 284,0±4,12 ммоль/л, повышаясь в опытных группах в среднем от 408,9 до 465,7 ммоль/л.

У песцов после приема корма на 14-е

Таблица 2

Электрическая активность желудка песцов, получавших природный цеолит, 14-е, 21-е и 30-е сутки, (M+m, n=7)

Срок, Суток	Условие исследования	Показатели		
		СВА, (мВ)	ЧИ, (в мин.)	ОУБАЖ, (усл.ед.)
14 До кормления	Контроль	6,3±1,15	2,5±0,21	60,0±1,57
	Опыт (цеолит)	11,2±1,27**	3,7±0,16***	67,1±1,30***
21 До кормления	Контроль	9,0±0,31	2,3±0,31	63,1±2,14
	Опыт (цеолит)	13,1±0,27***	3,3±0,50	70,3±2,50*
30 До кормления	Контроль	8,3±0,39	2,6±0,40	61,3±2,08
	Опыт (цеолит)	12,0±0,25	3,3±0,25	66,0±2,28
14 после кормления	Контроль	9,0±1,30	3,9±0,35	65,2±2,45
	Опыт (цеолит)	14,5±1,18***	4,7±0,40	79,0±2,86***
21 после кормления	Контроль	15,6±1,10	4,1±0,37	74,4±2,03
	Опыт (цеолит)	11,2±1,11	3,6±0,41	67,2±3,07
30 после кормления	Контроль	14,0±0,36	3,9 ±0,04	68,4±1,11
	Опыт (цеолит)	11,5±0,87*	3,6±0,10**	62,4±1,20***

Примечание: достоверность различий с контролем* - $P \leq 0,05$ ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

сутки применения цеолита отмечаем увеличение общего уровня биоэлектрической активности желудка (в контрольной группе он составил 65,2±2,45 усл.ед., в опытной 79,0±2,86 усл.ед. ($P \leq 0,001$) и средней величины амплитуды колебаний СВА в контроле 9,0±1,30 мВ, в опыте – 14,5±1,18 мВ ($P < 0,001$), тогда как частота импульсов в минуту достоверно не изменяется. На 30-е сутки скармливания природного цеолита у песцов после кормления отмечаем понижение электрической активности желудка до физиологических норм: СВА – до 11,5±0,55 мВ т.е. на 17,8% ($P \leq 0,05$), ОУБАЖ до 62,4±1,20 усл.ед. или на 8,7% ($P \leq 0,001$), ЧИ 3,6±0,10 в мин., или на 7,6% ($P \leq 0,01$) (таблица 1).

После проведенного эксперимента у зверей опытных групп уровень пировиноградной кислоты понизился незначитель-

но и в среднем составил 374,7±4,09 ммоль/л, уровень ТДФ-эффекта остался в пределах 36,0%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Положительное влияние пивных дрожжей в комплексе с цеолитом и природного цеолита голубым песцам на течение обменных процессов при В₁-гиповитаминозном состоянии в наших опытах необходимо связывать с нормализацией усиленных процессов моторно-эвакуаторной функции желудка: на 30-е сутки СВА до 11,0±0,62 ($P \leq 0,001$), ЧИ до 3,5 ±0,12 ($P \leq 0,001$), ОУБАЖ до 65,5±0,32 ($P \leq 0,001$); у песцов СВА до 11,5±0,87 мВ ($P \leq 0,05$), ЧИ до 3,6±0,10 в мин. ($P \leq 0,01$), ОУБАЖ до 62,4±1,20 усл. ед. ($P \leq 0,001$) против результатов контрольной группы.

Восстановление уровней биоэлектрической активности желудка как показателей их двигательной деятельности непо-

средственно связано высоким адсорбционным, ионообменным и биокаталитическим свойствам природных цеолитов, которые активно реализуются в условиях среды желудка.

Стабилизация уровня ПВК в сыворотке крови зверей непосредственно обязана пивным дрожжам, поскольку они содержат самый полный комплекс витаминов группы В, которые улучшают течение обменных процессов, нормализуют функцию внутренних органов, в том числе уровень биоэлектрической активности желудка. Фармакологическое действие различных комплексов, приготовленных на основе пивных дрожжей, осуществляется за счет входящих в их состав биологически активных веществ, способствующих профилактике нарушений углеводного обмена веществ и повышению резистентности организма зверей.

The analysis of the influence of beer yeast zeolite on electrical activity of the stomach of a polar fox suffering from hypovitaminosis B₁.

N.V. Mantatova, A.C. Tasarunova, S.E. Sanzhieva, Ch. B. Kusheev.

SUMMARY

At present time electrophysiological methods of research find broad application in medicine and veterinary science. It is connected with the fact that, electric activity of living cell, tissue, body, undoubtedly, reflects the certain physical and chemical shifts happening at their live-activity. The assessment of influence of beer yeast, zeolite on electric activity of a stomach of a blue polar fox at B₁-hypovitaminosis, was the purpose of our research.

Bioelectric activity of smooth muscles of a stomach was registered by means of national electro-gastrograph EGS-4M. Level of purivic acid (PVC) was determined by colorimetric method; tiamindifosphate effect – TDF according to Berestov V.A. (2000). After the conducted experiment at animals of test groups, level of purivic acid declined

slightly and was at average - $374,7 \pm 4,09$ mmol/l, level of TDF-effect remained within 36,0%.

Positive influence of beer yeast in a complex with zeolite and natural zeolite on the course of exchange processes at B₁-hypovitaminosis condition at blue polar foxes, in our experiences is essential to connect with normalization of the strengthened processes of stomach motor-evacuation functions: at the 30-th days of SVA to $11,0 \pm 0,62$ ($P \leq 0,001$), ChI to $3,5 \pm 0,12$ ($P \leq 0,001$), OUBAZh to $65,5 \pm 0,32$ ($P \leq 0,001$); at polar foxes SVA to $11,5 \pm 0,87$ mV ($P \leq 0,05$), ChI to $3,6 \pm 0,10$ in min. ($P \leq 0,01$), OUBAZh to $62,4 \pm 1,20$ conv., units. ($P \leq 0,001$) vs results of control group.

Restoration of levels of bioelectric activity of a stomach as indicators of their motive activity are directly obliged to high adsorptive, ion-exchanging and biocatalytic properties of natural zeolites, which are actively realized in the conditions of the stomach environment.

PVC level stabilization in blood serum of animals is directly obliged to beer yeast, as they contain the fullest complex of vitamins of group B, which improve the course of exchange processes, normalize function of an internal organs, including level of bioelectric activity of a stomach. Pharmacological action of various complexes, prepared on the basis of beer yeast, is carried out due to biologically active agents, which were their part, promoting prevention of violations of a carbohydrate metabolism and resistance increase of an animal organism.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коган А.Б. Техника физиологического эксперимента. -М. -1967. - 795с.
2. Ламкин Л.И. Электрофизиология. -М.-1977. - 232с.
3. Лапиков С. Применение комплексов макро -и микроэлементов с пивными дрожжами для профилактики болезней животных // Ветеринария сельскохозяйственных животных. -М. -2009, № 12. -С .

45-48.

4. Мосин В.В. Эффективность надплевральной новокаиновой блокады при снижении биоэлектрической активности гладкомышечных органов // Современные

вопросы электрофизиологии. -Новосибирск. -1975. -С. -122-124.

5. Тарнуев Ю.А. Электрогастрография в ветеринарии: автореф. дис. д-ра. ветеринар. наук. -Улан-Удэ. -1982. -С. 75-80.

УДК 619:616-092.9+577.27+616-002.32:636.7

ПОКАЗАТЕЛИ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ СОБАК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ КАТАРАЛЬНОМ ГИНГИВИТЕ

Н.В. Семанюк, Н.М. Хомин

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологии имени С.З.Гжицкого, г. Львов, Украина

Ключевые слова: собаки, хронический катаральный гингивит, иммунитет, жидкость ротовой полости. **Key words:** dogs, immunity, chronical catarrhal gingivitis, cavity liquid.



Цель исследования - изучение состояния местного иммунитета полости рта у собак при различной тяжести течения хронического катарального гингивита (ХКГ) путем исследования ротовой жидкости.

Объект исследования - жидкость ротовой полости 20 взрослых беспородных домашних собак, в которой определяли состояние клеточных мембран по активности кислой фосфатазы, уровень воспалительных процессов в ротовой полости по содержанию белка, показатели местного иммунитета по активности лизоцима и содержанию секреторного IgA, а также иммуноглобулинов IgA, IgM и IgG. Состояние неспецифической резистентности в полости рта определяли путем исследования системы перекисного окисления липидов - антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) по активности в ротовой жидкости супероксиддисмутазы и каталазы, содержания ТБК-активных продуктов и величины антиоксидантной - прооксидантного индекса - по отношению активности каталазы к содержанию ТБК-активных продуктов.

Результаты проведенных иммунологических исследований показали, что у больных собак в жидкости ротовой полости при легкой степени ХКГ отмечается достоверное повышение содержания основного антимикробного фактора неспецифического иммунитета - лизоцима по сравнению со здоровыми животными. При средней и тяжелой степени ХКГ отмечается снижение уровня лизоцима в жидкости ротовой полости собак. При этом достоверное снижение изучаемого показателя было только при тяжелой степени хронического катарального гингивита.

Установлено, что при ХКГ отмечается нарастание активности кислой фосфатазы, увеличение содержания общего белка и нарушение в системе перекисного окисления липидов - антиоксидантной защиты.

ВВЕДЕНИЕ

Хронический катаральный гингивит (ХКГ) является распространенным забо-

леванием у собак западного региона Украины. Важную роль в патогенезе ХКГ играет состояние местного иммунитета,

который обеспечивает защиту полости рта. Основное влияние на состояние специфических, неспецифических, гуморальных и клеточных механизмов иммунитета осуществляет автофлора слизистой оболочки ротовой полости. От способности автофлоры противостоять внешним воздействиям зависит уровень в ней патогенных и условно - патогенных микроорганизмов [3,4].

Длительное взаимодействие между микробами и тканями пародонта способствует ослаблению специфического иммунного ответа и неспецифических факторов защиты полости рта [1,5]. Однако, в литературе нами обнаружены лишь единичные сообщения об изменении отдельных иммунологических показателей у людей с заболеваниями слизистой оболочки ротовой полости, в то время как сведений относительно состояния местного иммунитета полости рта у собак с хроническим катаральным гингивитом не находили.

Известно, что в состав ротовой жидкости входит суммарный секрет слюнных желез, а также слущенный эпителий и продукты жизнедеятельности микрофлоры полости рта. Кроме того, в жидкость полости рта из внутренней среды поступают итермедиаты, биорегуляторы и конечные продукты обмена. Это обеспечивает интеграционную функцию ротовой жидкости и определяет ее роль в поддержании динамического постоянства внутренней среды организма [1].

Именно поэтому целью нашего исследования было изучить состояние местного иммунитета полости рта у собак при различной тяжести течения ХКГ путем исследования ротовой жидкости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проводили на 20 взрослых беспородных домашних собаках весом 10-30 кг, которые по клиническим проявлением патологического процесса в деснах были разде-

лены на 4 группы (по 10 собак в каждой): контрольную - здоровые животные, 1-ю исследовательскую - с легкой степенью хронического катарального гингивита, 2-ю - со средней и 3-ю исследовательскую - с тяжелой степенью заболевания. Объектом исследования была жидкость ротовой полости, в которой определяли состояние клеточных мембран по активности кислой фосфатазы (КФ), уровень воспалительных процессов в ротовой полости по содержанию белка, показатели местного иммунитета по активности лизоцима и содержанию секреторного IgA (SIgA), а также иммуноглобулинов IgA, IgM и IgG. Состояние неспецифической резистентности в полости рта определяли путем исследования системы перекисного окисления липидов - антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) по активности в ротовой жидкости супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, содержания ТБК-активных продуктов и величины антиоксидантной - прооксидантного индекса (АРИ) - по отношению активности каталазы к содержанию ТБК-активных продуктов [2]. Полученный цифровой материал обработан методами вариационной статистики на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Excel "Statistica 7".

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Воздействие микрофлоры мягких зубных отложений, которой в последние годы отводят ведущую роль в этиологии гингивита, влияет на состояние тканей и местный иммунитет (табл. 1). Свидетельством этого является рост в ротовой жидкости активности кислой фосфатазы, которая является маркером состояния клеточных мембран. При легком течении ХКГ у собак, активность фермента была достоверно выше относительно контрольного показателя, на 26,3 %, при средней тяжести - на 58,0% и тяжелой степени - более чем в два раза.

Кроме нарушения целостности кле-

Таблица 1

Активность кислой фосфатазы и содержание белка в жидкости ротовой полости собак с хроническим катаральным гингивитом, $M \pm m$, $n = 10$

Показатели	Группы			
	контрольная	исследовательские		
		I	II	III
Кислая фосфатаза, мккат/л	0,38±0,02	0,48±0,03*	0,60±0,05***	0,86±0,08***
Содержание белка, г/л	1,54±0,06	2,00±0,13**	2,38±0,18***	3,06±0,22***

Примечание: в этой и в следующих таблицах степень достоверности по сравнению с данными контрольной группы: - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Таблица 2

Показатели местного иммунитета ротовой полости собак с хроническим катаральным гингивитом, $M \pm m$, $n=10$

Показатели	Группы			
	контроль	исследовательские		
		I	II	III
	10,2±0,50	12,6±0,50**	10,0±0,40	8,6±0,30*
SIg A, г/л	0,42±0,02	0,36±0,01**	0,44±0,03	0,49±0,01**
Ig A, г/л	0,28±0,01	0,29±0,02	0,32±0,03	0,35±0,02**
IgM, г/л	0,20±0,02	0,21±0,01	0,24±0,01	0,29±0,02**
Ig G, г/л	0,42±0,03	0,48±0,02	0,50±0,04	0,56±0,05*

точных мембран, микробные токсины вызвали усиление воспалительного процесса в деснах, на что указывает достоверный рост в ротовой жидкости собак исследовательских групп содержания общего белка, а именно: в I-й группе на 30%, во II-й - на 54,5% и в III-й группе – почти вдвое по сравнению с показателем животных контрольной группы. Белки, содержащиеся в выделениях желез ротовой полости, способны ингибировать болезнетворную активность бактерий.

Развитие патологических изменений в полости рта сопровождалось и изменениями в ней показателей иммунной защиты (табл. 2).

Результаты проведенных иммунологических исследований показали, что у больных собак в жидкости ротовой полости при легкой степени ХКГ отмечается достоверное повышение содержания основного антимикробного фактора неспецифического иммунитета - лизоцима по

сравнению со здоровыми животными. При средней и тяжелой степени ХКГ отмечается снижение уровня лизоцима в жидкости ротовой полости собак. При этом достоверное снижение изучаемого показателя было только при тяжелой степени хронического катарального гингивита ($p < 0,05$).

Сравнение содержания SIgA в жидкости ротовой полости больных собак в зависимости от степени тяжести показало, что при легкой степени болезни уровень секреторного IgA оказался достоверно ниже на 14,3% по сравнению со здоровыми собаками. В меру нарастания степени тяжести воспалительного процесса в деснах, происходит увеличение его содержания, причем у больных животных с тяжелой степенью течения – достоверно на 16,7%. Исследованиями уровня сывороточных иммуноглобулинов в ротовой жидкости собак с ХКГ установлено, что достоверное повышение уровня сыворо-

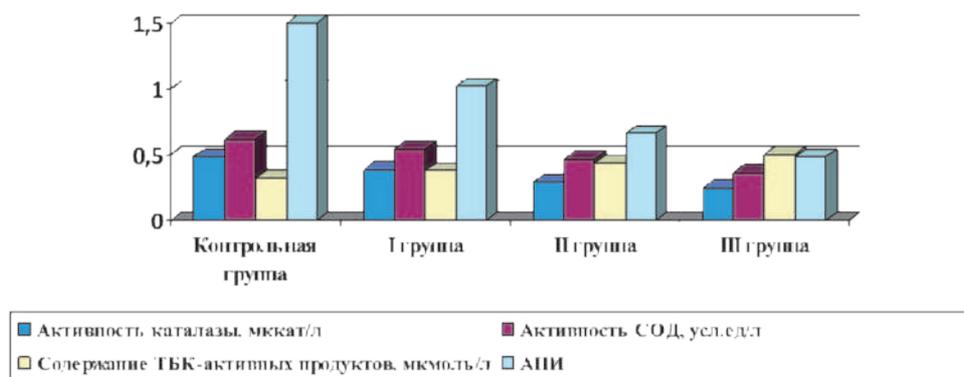


Рис.1. Активность основных ферментов антиоксидантной защиты у больных и здоровых собак

точных иммуноглобулинов в ротовой жидкости наблюдалось только у собак с тяжелой степенью. Вероятно такие изменения возникают вследствие системного включения синтеза этих иммуноглобулинов в ответ на агрессию патогенной микрофлоры зубной бляшки.

Таким образом, в ротовой жидкости собак с ХКГ с увеличением степени воспаления в тканях пародонта происходит повышение уровня сывороточных иммуноглобулинов, усиление антителообразования (повышение уровня SIgA), что свидетельствует об активизации гуморального специфического иммунитета (В - системы), снижении уровня лизоцима в ротовой жидкости и указывает на подавление гуморальных факторов неспецифической резистентности.

В жидкости ротовой полости больных собак отмечено достоверное снижение активности основных ферментов антиоксидантной защиты - каталазы и супероксиддисмутазы. При легкой степени заболевания активность изучаемых ферментов была ниже соответственно на 23 и 29% , при средней - на 85 и 82% и при тяжелой степени заболевания – более чем вдвое (рис. 1). Снижение активности антиоксидантной системы у собак исследовательских групп вызывает повышение интенсивности перекисного окисления

липидов по сравнению со здоровыми животными, о чем свидетельствует увеличение в ротовой жидкости содержания ТБК-активных продуктов при легкой степени заболевания на 25 %, при средней – на 37% и при тяжелой степени заболевания соответственно на 56%.

Рост перекисного окисления липидов в жидкости ротовой полости больных собак привел к снижению антиоксидантно-прооксидантного индекса (АРИ) по сравнению со здоровыми животными, который характеризует состояние ПОЛ-АОЗ, при легкой степени заболевания в 1,54 раза, при средней - вдвое и при тяжелой - втрое, что подтверждает сдвиг равновесия этой системы в сторону интенсификации ПОЛ. Все это свидетельствует о нарастании напряженности местного иммунитета полости рта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Тяжесть течения ХКГ у собак сопровождается возрастанием в жидкости ротовой полости активности кислой фосфатазы и увеличением содержания общего белка.

2. На основании биохимических исследований ротовой жидкости у собак с ХКГ определены нарушения в системе ПОЛ-АОЗ, на что указывает снижение активности К, СОД и индекса АПИ при

одновременном росте уровня ТБК-активных продуктов.

3. Результаты исследований подтверждают необходимость проведения при ХКГ у собак мероприятий по восстановлению системы ПОЛ-АОЗ вместе с коррекцией микрофлоры в ротовой полости.

The ardices of local immunity of cavity in dogs at chronical catarrhal snhibitis.

N.V. Semaniuk, N.M. Khomyun.

SUMMARY

Research objective - studying of a condition of local immunity of an oral cavity at dogs at various gravity course of the chronic catarrhal gingivitis (CCG) by research of oral liquid.

Object of research - liquid of a mouth of 20 adult street domestic dogs, in which were determined a condition of cell membranes by activity of acid phosphatase, level of inflammatory processes in a mouth by protein content, indicators of local immunity by lyzocym activity and by the maintenance of secretory IgA, and also immunoglobulins IgA, IGM and IgG. Condition of nonspecific resistance in an oral cavity was determined by research of lipids peroxidation - antioxidant protection (POL- AOZ) by activity in oral liquid of superoxide dismutase and catalase, maintenance TBK-active products and antioxidant value - a pro-oxidative index - by the relation of activity of a catalase to maintenance of TBK-active products.

Results of the conducted immunological researches showed, that at sick dogs in mouth liquid at easy degree of CCG, reliable increase of the quantity of the major antimicrobial factor of nonspecific immunity - lyzocym in comparison with healthy animals, is noted. At the moderate and heavy degree of CCG decrease of lyzocym level in a mouth liquid of dogs is noted. At the same time, reliable decrease of a studied indicator was only at heavy degree chronic catarrhal gingivitis.

It is established, that at CCG, increase of activity of acid phosphatase, increase in the

content of the general protein and violation at the system of lipid peroxidation - antioxidant protection - are noted.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быков И.М. Биохимия ротовой и десневой жидкости. - Краснодар. -2008. - 100с.
2. Влізло В.В. Лабораторна діагностика у ветеринарній медицині. - Львов. -2008. - 112с.
3. Гильмиярова Ф.Н. Аналитические подходы к изучению показателей метаболизма в ротовой жидкости. - М.: Известия. - 2006. - 312с.
4. Данилевский Н. Ф. Заболевания слизистой оболочки полости рта. - К. -2001. - 271с.
5. Левицкий А.П. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: Метод. рекомендации. - Одесса. -2010. - 16с.

ВЛИЯНИЕ ГЕНА KCNQ3 НА СОДЕРЖАНИЕ ЖИРА В МОЛОКЕ КОРОВ

Ю.В. Мукий, М.Г. Смарагдов (СПбГАВМ)

Ключевые слова: одиночные нуклеотидные полиморфизмы (SNP), локусы количественных признаков (QTL), молочный скот, хромосома BTA14, ген KCNQ3, % жира, количество жира (выход). **Key words:** SNP, QTL, milk cattle, chromosome BTA14, KCNQ3 gene, fat percentage (FP) or fat content, fat yield (FY).

Цель исследования - проверка эффекта SNP rs41580517 в гене KCNQ3 на ассоциацию с содержанием жира в молоке.

Исследовали 103 быка черно-пестрой породы. Амплификацию проводили используя термоциклер Терцик и реактивы фирмы "Fermentas". Реакционная смесь 30 мкл включала: 50–100 нг ДНК, по 5 пм праймеров, 1.5 мМ MgCl₂, 0.2 мМ dNTP и 0.3 ед. *Taq*-полимеразы. 35 циклов при режиме: 92°C 1 мин, 60°C 1 мин, 72°C 1 мин, и 1 цикл 10 мин при 72°C. Продукты ПЦР-реакции анализировали в 1.5%-ном агарозном геле. Для статистической оценки полученных данных использовали программы ANOVA и HAR-LOVIEW 4.2.

Полученные данные приведены в таблице.

Влияние SNP rs41580517 на содержание жира в молоке дочерей (+/- к сверстницам) быков черно-пестрой голштигнизированной породы

Генотип быков	% быков из 103 гол.	% жира в молоке	Количество жира в молоке, кг
CC	0,07	0,037 ± 0,014	3,03 ± 2,63
GG	0,31	0,009 ± 0,009	0,39 ± 1.10
CG	0,62	-0,007 ± 0,005	1,91 ± 0.66

Прогенотипированы 103 быка черно-пестрой породы ОАО "Невское" на наличие нуклеотидной замены С(Г) в интроне гена KCNQ3 (rs41580517). Установлено доминирование аллеля G по сравнению с С. При разных генотипах CC, GG, CG показатели жира в молоке коров изменяются. Таким образом, очевидна ассоциация SNP (rs41580517) гена KCNQ3 с содержанием жира в молоке коров черно-пестрой породы.

ВВЕДЕНИЕ

Обнаружение генов, ответственных за такие экономически важные признаки у молочного скота как удой, количество и % жира и белка в молоке, является сложной задачей. Эти количественные признаки полигенны и контролируются кумулятивным действием многих генов. Кроме того, число взаимодействующих генов неизвестно. Факторы окружающей среды

также могут усложнить процесс, так как они оказывают смешанное влияние на фенотипы [2,4]. Тем не менее, последние события в области молекулярной биологии и статистической методологии допускают возможность локализовать регионы генов в геноме или хромосомы, отвечающие за ряд интересующих признаков [3,5].

В настоящее время BTA14 у крупного

рогатого скота является одной из наиболее изученных хромосом по локусам количественных признаков (QTL). Проведено большое количество исследований QTL для различных признаков и обнаружено в общей сложности 126 QTL в этой хромосоме. Большинство QTL локализованных на BTA14 связаны с молочной продуктивностью: это удой (MY), процентное содержание жира (FP), выход жира (FY), процент белка (PP) и выход белка (PY) [1-4]. Другие признаки, такие как воспроизводство (REPRO): легкость отела, способность к быстрому осеменению, частота образования двоен; клинические: число соматических клеток в молоке, клиническое проявление мастита, анатомические: строение вымени (расположение сосков, ширина вымени и другие признаки) также исследованы на BTA14.

Исследуемый ген KCNQ3 относится к семейству KCNQ1-5, локализован также на 14 хромосоме. Это ген потенциал зависящего калиевого канала K^+ . Калиевые каналы это структуры, которые обеспечивают поток ионов калия через мембрану нейронов и обнаружены практически во всех типах клеток у млекопитающих. Семейство данных генов контролирует возбудимость мембраны соматических клеток, передачу нейротрансмиссивного сигнала в нервной системе. Известно, что мутации в генах семейства KCNQ приводят к уменьшению K^+ потенциала, следствием чего является сверхвозбудимость клеточных мембран. Этот механизм взаимосвязан с образованием и выделением молочного жира [6].

Целью исследования являлась проверка эффекта SNP rs41580517 в гене KCNQ3 на ассоциацию с содержанием жира в молоке.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для генотипирования быков в отношении аллелей соответствующих SNP была использована ДНК, выделенная из

спермы 103 быков черно-пестрой породы ОАО "Невское". Данные быки прошли племенную оценку модифицированным методом сравнения со сверстницами (ММСС). Использовались ранее сконструированные аллель-специфичные праймеры с применением программы Primer3 и базы полного сиквенса генома крупного рогатого скота Btau5.2. таким образом, чтобы проверить все известные missens замены в экзонах гена KCNQ3. Амплификация осуществлялась с применением реактивов фирмы "Fermentas" (Латвия) и термоциклера Терцик (ДНК-Технология, Москва). Реакционной смесью включала на 30 мкл: 50–100 нг ДНК, по 5 пмоль праймеров, 1.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTP и 0.3 ед. Taq-полимеразы. Всего 35 циклов при следующем режиме: 92°C 1 мин, 60°C 1 мин, 72°C 1 мин, и 1 цикл 10 мин при 72°C. Продукты ПЦР-реакции анализировали в 1.5%-ном агарозном геле. Для статистической оценки полученных данных использовался дисперсионный анализ с помощью программы ANOVA. Расчеты неравновесия по сцеплению (LD), измеряемые как коэффициент корреляции в квадрате (r^2) между SNPs осуществляли с помощью программы HAPLOVIEW 4.2.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных экспериментов получены следующие данные, которые приведены в таблице 1.

Из таблицы 1 видно, что аллель G преобладает в генотипах изучаемых быков. Эта замена находится в маркерном rs41580517 гена KCNQ3. С помощью программы ANOVA был проведен дисперсионный анализ и установлено, что аллели С и G локализованные в rs41580517 влияют на изменение содержания жира в молоке. Для того чтобы выявить взаимодействие соседних SNP, которые могут тоже быть причинными рассчитывали LD (неравновесие по сцеплению) между ними. Из предыдущих работ [1] нами установлено, что есть 4 SNP находящиеся в

Таблица 1
Влияние SNP rs41580517 на содержание жира в молоке (+\ к сверстникам) быков черно-пестрой голштинизированной породы

Генотип быков	% быков из 103 гол.	% жира в молоке	Количество жира в молоке, кг
CC	0,07	0,037 ± 0,014	3,03 ± 2,63
GG	0,31	0,009 ± 0,009	0,39 ± 1.10
CG	0,62	-0,007 ± 0,005	1,91 ± 0.66

наибольшем неравновесии по сцеплению с и изучаемым маркером rs133813481, rs109909704, rs110344676, rs110140024, которые также расположены в интроне гена KCNQ3. Их LD по отношению к маркеру составляет соответственно $r^2=0,51; 0,4; 0,3; 0,47$. Полное LD равняется 1. В данном случае этого не наблюдается. LD между маркерным и SNP расположенными по краям гена KCNQ3 $r^2=0,04$. Следовательно они не находятся в одном гаплотипе, а это снижает вероятность их совместной ассоциации с анализируемым признаком.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из полученных данных установлено влияние гена KCNQ3 на содержание жира в молоке коров черно-пестрой породы.

Association set a marker in the gene KCNQ3 with a fat content in the milk of cows black-and-white breed.

U.V. Muky,

M.G. Smaragdite.

SUMMARY

Research objective - analyze of the effect of SNP rs41580517 in the gene KCNQ3 on association with the content of fat in milk.

Were tested 103 bulls of black- motley breed. Amplification was carried out using a thermocycler Tertsik and reagents of company "Fermentas". Reactionary mix 30 mcl included: 50–100 ng DNA, of 5 pm primers, 1,5 mM of MgCl₂, 0,2 mM of dNTP and 0.3 units of a Taq-polymerase. 35 cycles at a mode: 92 °C at 1 min., 60 °C at 1 min., 72°C

1 min., and 1 cycle of 10 min. at 72 °C. Products of PCR-reaction were analyzed in 1.5% agarose gel. For a statistical assessment of the obtained data was used the ANOVA and HAPLOVIEW 4.2 programs.

The obtained data are provided in the table.

Table. Influence of SNP rs41580517 on the content of fat in milk

of daughters (+ \-to contemporaries) bulls of black and motley golshtinofrize breed.

Genotype bulls of

CC 0,07 0,037 ± 0,014 3,03 ± 2,63

GG 0,31 0,009 ± 0,009 0,39 ± 1.10

CG 0,62 - 0,007 ± 0,005 1,91 ± 0.66

Genotyped 103 bulls of black and motley

Genotype bulls	% of bulls from the 103 animals	fat % in milk	Amount of fat in milk, kg
CC	0,07	0,037 ± 0,014	3,03 ± 2,63
GG	0,31	0,009 ± 0,009	0,39 ± 1.10
CG	0,62	-0,007 ± 0,005	1,91 ± 0.66

breed from farm "Nevskoye" for existence of nucleotide replacement of C(G) in an intron of the gene KCNQ3 (rs41580517). Was established domination of allele G in comparison with C. At various genotypes - CC, GG, CG fat indicators in milk of cows change. Thus, the SNP (rs41580517) association of a gene KCNQ3 with the content of fat in milk of cows of black and motley breed is obvious.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мукий Ю.В. Поиск и изучение SNP, ассоциирующих с молочной продуктивностью в гене KCNQ3 у крупного рогато-

го скота. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. СПб. №1-2013. С. 116-119.

2. Boichard D., Grohs C., Bourgeois F. *et al.* Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds. Genet. Sel. Evol. 2003; 35:77-101.

3. Casas E., Shackelford S.D., Keele J.W., Koohmaraie M, Smith TP, Stone RT. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. J. Anim. Sci. 2003; 81:2976-2983.

4. Gutiérrez-Gil B., Wiener P., Nute G.R. *et al.* Detection of quantitative trait loci for

meat quality traits in cattle. Anim. Genet. 2008; 39:51-61.

5. Kim J.J., Farnir F., Savell J., Taylor J.F. Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between *Bos taurus* (Angus) and *Bos indicus* (Brahman) cattle. J. Anim. Sci. 2003; 81:1933-1942.

6. MacNeil M.D., Grosz M.D. Genome-wide scans for QTL affecting carcass traits in Hereford x composite double backcross populations. J. Anim. Sci. 2002; 80:2316-2324.

УДК 619:616.995.121.3

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИРА-СЫРЦА ЛОСЕЙ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)

В.П. Агеев, А.В. Аргунов, Л.С. Дьячковская (ФГБОУ ВПО Якутская ГСХА)

Ключевые слова: лось, жир, химический состав, физико-химические показатели.

Key words: elk, fat, chemical composition, physical and chemical parameters.

Лось относится к животным, представляющим в последние годы большой научный интерес и значительную хозяйственную ценность. Целью данных исследований является изучение химического состава жира-сырца лосей разного пола и упитанности. Исследован жир от 12 туш лосей разного пола и упитанности, добытых путем отстрела в охотничьих угодьях центральных улусов (районов) Республики Саха (Якутия) в осенне-зимний период. Жир-сырец лоса представляется в виде мелких долек, окруженных рыхлой соединительной тканью. Цвет белый, консистенция при температуре 18-20% твердая, крошащаяся. Запах слабый, специфический, приятный. Химический состав жира-сырца зависит от возраста, пола и упитанности животного. При одинаковых показателях упитанности животных в жире-сырце, полученном от самок, жира больше, чем у самцов. Подкожный жир-сырец лоса средней упитанности содержит: жира -79-81%, влаги - 14-16%, белков - 2,3-3,3%, минеральных веществ - 0,3-0,5%. Основным критерием, определяющим его пищевую ценность, является содержание чистого жира, основного энергетического вещества. Жир лоса имеет высокую температуру плавления (46-48°C). Вытопленный жир лоса представляет однородную массу в виде небольших крупинок, напоминает топленое сливочное масло. Консистенция твердая, вкус и запах специфический, приятный. В расплавленном состоянии жир прозрачный. Тугоплавкость жира лоса объясняется значительным содержанием высокомолекулярных жирных кислот. Температура застывания составляет 30-36,1°C у околочечного жира и 30-32°C у подкожного. Кислотное число в среднем равно 1,29 для околочечного и 1,15 для подкожного жира. Перекисное число в среднем составляет 0,007 для околочечного и 0,005 для подкожного жира. Исследования показывают, что органолептические и физико-химические показатели характеризуют жир лоса как ценный пищевой продукт питания.

ВВЕДЕНИЕ

Лось относится к животным, представляющим в последние годы большой научный интерес и значительную хозяйственную ценность. В условиях республики Саха (Якутия) дикие копытные животные (лоси, косули) становятся дополнительным резервом получения высококачественного, диетического мяса. Лосятину является биологически полноценным, качественным питательным продуктом, отличающимся высокими пищевыми свойствами и по содержанию незаменимых аминокислот, витаминов Е и группы В превосходит говядину[2,3].

Существенное влияние на пищевую ценность мяса оказывает количественный и качественный состав жира-сырца лосей. Жир является основным источником энергии и определяет вкусовые свойства мяса и бульона. Жировая ткань состоит из жира, влаги, белков, витаминов и минеральных веществ. Качество её определяется составом жира.

Существенную роль в химическом составе жира играет упитанность животных. Известно, что содержание ненасыщенных жирных кислот в жире откормленных животных в два раза больше, чем у животных неупитанных [1,4].

Целью наших исследований явилось изучение химического состава жира-сырца лосей разного пола и упитанности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Определение химического состава жира-сырца лосей проводились с 2009 по

2011гг. Исследования проводились в Якутской республиканской ветеринарно-испытательной лаборатории и на кафедре ветеринарно-санитарной экспертизы факультета ветеринарии ЯГСХА. Химический состав жира определяли по общепринятыми методами.

Нами исследован жир от 12 туш лосей разного пола и упитанности, которые были добыты путем отстрела в охотничьих угодьях центральных улусов (районов) Республики Саха (Якутия) в осенне-зимний период.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Жир-сырец лосей представляется в виде мелких долек, окруженных рыхлой соединительной тканью. Цвет белый, консистенция при температуре 18-20°С твердая, крошащаяся. Запах слабый, специфический, приятный.

Химический состав жира-сырца зависит от возраста, пола и упитанности животного

Полученные нами данные представлены в таблице 1.

Подкожный жир-сырец лосей средней упитанности содержит: жира -79-81%, влаги – 14-16%, белков – 2,3-3,3%, минеральных веществ – 0,3-0,5%.

Из приведенной таблицы видно, что химический состав жира-сырца колеблется в довольно широких пределах.

Наблюдается прямая зависимость в содержании жира, влаги и белков.

Количество минеральных веществ относительно стабильно. На содержание

Таблица 1
Средний химический состав жира-сырца лосей в зависимости от пола и упитанности в %

Упитанность	Пол	Жир	Влага	Белки	Минеральные вещества
высшая	самка	88,0	10,0	1,5	0,5
	самец	85,0	17,0	2,3	0,7
средняя	самка	85,0	11,0	3,4	0,6
	самец	83,0	13,0	3,3	0,7
Говяжий жир-сырец					
высшая		88,58	9,45	1,62	0,35
средняя		78,86	20,95	4,19	1,0

Физико-химические показатели жира лося

Показатели	Околопочечный жир		Подкожный жир		Говяжий жир
	Колебания	Средняя	Колебания	Средняя	
Температура плавления, °С	47-48,6	48,0	45-47,0	46,0	42-52,0
Температура застывания, °С	30-36,1	33,0	30-32,0	31,0	34-38,0
Коэффициент преломления при 60°С	1,4570 -1,4579	1,4574	1,4568 – 1,4573	1,4570	1,4510 – 1,4539
Кислотное число	1,16-1,30	1,29	1,2-1,4	1,15	1,2-2,5
Перекисное число	0,006-0,008	0,007	0,004-0,006	0,005	-

жира, влаги и белков основное влияние оказывает не только упитанность, но и пол.

Основным критерием, определяющим его пищевую ценность, является содержание чистого жира, основного энергетического вещества.

При одинаковых показателях упитанности животных в жире-сырце, полученном от самок, жира больше, чем у самцов.

Жир лося имеет довольно высокую температуру плавления (46-48°С). Вытопленный жир лося представляет однородную массу в виде небольших крупинок, напоминает топленое сливочное масло. Консистенция твердая, вкус и запах специфический, приятный. В расплавленном состоянии жир прозрачный. Тугоплавкость жира лося объясняется значительным содержанием высокомолекулярных жирных кислот. Поскольку этот показатель косвенно отражает не только химический состав, но и степень усвояемости, следовательно, питательная ценность жира лося примерно может быть приравнена к говяжьему жиру.

В отличие от говяжьего, жир лося характеризуется более устойчивой точкой плавления, а, следовательно, и составом жирных кислот, что объясняется постоянством поедаемых кормов.

У подкожного жира, в сравнении с

внутренним жиром, температура плавления ниже (45-47°С). Это показывает, что в околопочечном жире содержится больше высокомолекулярных жирных кислот и усвояемость его снижается.

Полученные нами физико-химические показатели топленого подкожного и околопочечного жира лося представлены в таблице 2.

Температуру подкожного жира, равную 46°С, а внутреннюю – 48°С, следует считать характерной для лося при определении его видовой принадлежности.

Температура застывания жира ниже точки плавления на 15°С.

У околопочечного жира она колеблется в пределах 30-36,1°С, у подкожного – 30-32°С.

Судя по показателям кислотного числа, в свежем жире лося содержание свободных жирных кислот несколько повышенное (1,2-1,4) в сравнении с жиром домашних убойных животных.

Кислотное и перекисное числа косвенно указывают на недостаточную устойчивость жира лося в условиях получения и предшествующего хранения мяса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение химического состава жира лосей, входящих в охотничий промысел диких животных в Республике Саха (Якутия), имеет большое значение в оцен-

ке качества жира. Наши исследования показали, что органолептические и физико-химические показатели характеризуют жир лося как ценный пищевой продукт питания.

Chemical composition of fat raw of elks in the conditions of the Republic of Sakha (Yakutia)

V.P. Ageev, A.V. Argunov, L.S. Dyachkovskaya.

SUMMARY

Elk is one of the animals, that at the recent years present big scientific interest and great economic value. Aim of this study was to analyze chemical composition of elk raw fat, received from the animals of different sex and nutritional state. Fat from 12 elk carcasses of different sex and nutritional state were analyzed, hunted at the hunters states of the central regions of the Republic Saha-Jakuti at the autumn-winter period. Elk raw-fat is presented at the form of small lobulus, circled by loose connective tissue. It is of white color, consistency at the temperature 18-20 °C is hard, crumbly. Smell specific, feeble, admirable. Chemical composition depends on the animal age, sex and nutritional status. At the same nutritional status, raw-fat received from female elk contains more fat than from male. Subcutaneous raw-fat of the elk of an average nutritional status contains: fat - 79-81 %, moisture -14-16 %, protein - 2,3-3,3 %, mineral substances - 0,3-0,5 %. The main criteria, defining its nutritional value, is content of pure fat, main energy source. Elk fat possesses high level of melting temperature (46-48 °C). Melted elk fat presents uniform mass of the small particles, resembles melted butter. Hard consistency, odor and taste specific, admirable. At the liquid matter of status fat is transparent. Refractoriness of elk fat is defined by significant content of high-molecular fatty acids. Freezing temperature is 30-36,1 °C, for pararenal and

subcutaneous 30-32 °C. Average acid number for pararenal fat is 1.29 and 1,15 for subcutaneous. Average peroxide number is 0,007 for pararenal and 0,005 for subcutaneous fat. Analyzed data show that organoleptic and physicochemical parameters characterize elk fat as valuable product food.

ЛИТЕРАТУРА

1. Житенко П.В., Боровков М.Ф. Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов животноводства. – М.: Колос. -2000.
2. Кузьмичева М.Б. Российский рынок пищевых животных жиров // Мясная индустрия. -2005, -№ 4.
3. Малтугуева М.Х., Иванов И.С. Методические указания «Организация проведения самостоятельных практических занятий по ветеринарно-санитарной экспертизе на предприятиях мясной и молочной промышленности». – Якутск. -2000.
4. Метрели Т.В. Биохимия животных. – СПб.: Издательство Лань. -2005.

ИНДИКАЦИЯ РЕОВИРУСА МЕТОДОМ ПЦР

М.А. Ефимова, Х.З. Гафаров, Т.Х. Фаизов, Н.И. Хаммадов
ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)

Ключевые слова: реовирус типа I, крупный рогатый скот, ПЦР.

Key words: Reovirus type I, cattle, PCR



Реовирусная инфекция крупного рогатого скота имеет важное значение в инфекционной патологии крупного рогатого скота. У телят она проявляется пневмонитами в первые 3 месяца жизни, взрослых животных протекает латентно. Доказано, что у крупного рогатого скота реовирусная инфекция играет определенную роль в патологии плода и новорожденного теленка.

Изучена распространённость реовирусной инфекции среди поголовья крупного рогатого скота Приволжского Федерального округа. Серопозитивность скота различной возрастной категории к реовирусу типа I составила от 11,1% до 66,7%.

С целью индикации генома реовируса типа I нами была использована полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) на фрагмент S2 и L3, для амплификации этих локусов использовали праймеры: S2-26: 5'-GCGCTGCGTTCCTATTCAAGACT-3', S2-563: 5'-TAGTTCATGAGAAGCTGGTTCAC-3' (Muscillo M. et al., 2001) и REOL3 F: 5'-CAGTCGACACATTTGTGGTC-3', REOL3R: 5'-GCGTACTGACGTGGATCATA-3' (Spinner M. L., Di Giovanni G. D. 2001), соответственно. Обратную транскрипцию проводили в одной реакции с ПЦР.

Амплификацию проводили на программируемом термоциклере «Терцик». Амплифицированные фрагменты идентифицировали путем электрофореза продуктов реакции в 2% агарозном геле с бромистым этидием с последующим выявлением на ультрахемоскопе. В качестве контролей использовали инактивированные вирусные суспензии парвовируса типа I и реовируса типа I.

Результаты индикации реовируса в пробах клинического и патологического материалов, подтвердили причастность реовируса в респираторно-кишечной и репродуктивной патологии КРС. Положительный результат ОТ-ПЦР, от общего числа исследованных проб, составил 8,3%. Показана принципиальная возможность индикации реовирусной РНК, используя праймеры S2 и L3, которые в ПЦР показали идентичные результаты амплификации. В практических целях, для идентификации реовируса, предпочтительнее использовать ПЦР с применением праймеров на ген L3, который инициирует синтез ампликона молекулярной массой 320 п.о. При этом полосы ДНК проявляются более мажорнее, следовательно результат ПЦР легче интерпретировать.

ВВЕДЕНИЕ

Реовирусная инфекция КРС известна с 1959 года и имеет важное значение в инфекционной патологии крупного рогатого скота. У телят она проявляется пневмонитами

в первые 3 месяца жизни [1]. У взрослых животных протекает латентно. Неоспоримо доказано, что у крупного рогатого скота реовирусная инфекция играет определенную роль в патологии

плода и новорожденного теленка [2]. Реовирусы млекопитающих относятся к семейству Reoviridae, роду orthoreovirus, геном вируса представлен десятью сегментами дцРНК, для которой характерна высокая температура плавления и малый температурный интервал денатурации, устойчивость к панкреатической рибонуклеазе. Нуклеотидный состав реовирусной РНК содержит одинаковое число пуриновых и пиримидиновых оснований, что указывает на взаимную комплементарность двух цепей РНК. В вирионах обнаружено 9 полипептидов с мол. м. 38 – 155 кД, три из которых (M2, S1, S4) входят в состав наружного капсида [3,4].

Основную роль в диагностике реовирусной инфекции занимают лабораторные исследования, которые включают обнаружение антител в сыворотке крови больных и переболевших животных в реакции нейтрализации (РН), в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и методом иммуноферментного анализа, а также выделение возбудителя из патологического материала в культурах клеток. Однако эти методы трудоемки, требуют значительных затрат времени и не всегда обладают достаточной чувствительностью. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) по сравнению с другими методами обладает более высокой чувствительностью при сохранении специфичности и позволяет выявить в исследуемой пробе генетический материал (ДНК, РНК) инфекционных агентов.

Проведенными нами ранее исследованиями поголовья крупного рогатого скота в различных регионах Приволжского Федерального округа установлена серопозитивность их к реовирусу от 11,1% до 66,7%, что указывает на циркуляцию этого возбудителя. В дальнейшем, с целью индикации генома реовируса нами была использована полимеразная цепная реакция.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для индикации реовируса типа I исследованию подвергнуто 12 проб клинического и патологического материалов (смывы с носовой полости, сперма, кусочки селезенки, лимфатических узлов, легких, кишечника, органы абортированных плодов). Нуклеиновые кислоты выделяли из биологических образцов с использованием набора реагентов для выделения ДНК в соответствии с инструкцией к набору «Пробоподготовка универсальная».

Индикацию реовируса типа I проводили методом ОТ-ПЦР на фрагмент S2 и L3, для амплификации этих локусов использовали праймеры: S2-26: 5'-GCGCTGC-GTTCSTATTCAAGACT-3', S2-563: 5'-TAGTTCATGAGAAGCTGGTTCAC-3' (Muscillo M. et al., 2001) и REOL3 F: 5'-CAGTCGACACATTTGTGGTC-3', REOL3R: 5'-GCGTACTGACGTGGATCA-TA-3' (Spinner M. L., Di Giovanni G. D. 2001), соответственно. Обратную транскрипцию проводили в одной реакции с ПЦР.

Синтез олигонуклеотидных праймеров производился в ООО «Биотех-Индустрия» (г. Москва).

Реакционная смесь для проведения ОТ-ПЦР в конечном объеме 25мкл содержала: 5 мкл РНК, 10пМ каждого праймера (1мкл), 2мкл смеси dNTP_s, 25 ед. MMLV(AMV)-ревертазы (2,5мкл), 1,25ед. TaqF-полимеразы (0,25мкл), 10х буфер 10мМ трис-HCl (pH 9,0), 50мМ KCl, 1,5 мМ MgCl₂, 0,1% тритон X-100 (2,5мкл), вода деионизированная 12,5мкл. Для амплификации локуса S2 использовали следующий температурный режим: 37⁰С – 45 мин; 94⁰С – 4 мин (1 цикл); 94⁰С – 15 мин; 50⁰С – 1 мин; 72⁰С – 1 мин (40 циклов); 72⁰С – 7 мин (1 цикл), для амплификации локуса L3 – 37⁰С – 45 мин; 94⁰С – 4 мин (1 цикл); 94⁰С – 30 сек; 55⁰С – 1 мин; 72⁰С – 30 сек (40 циклов); 72⁰С – 7 мин (1 цикл).

Амплификацию проводили на про-

граммируемом термоциклере «Терцик». Амплифицированные фрагменты идентифицировали путем электрофореза продуктов реакции в 2% агарозном геле с бромистым этидием с последующим выявлением на ультрамикроскопе. В качестве контролей использовали инактивированные вирусные суспензии парвовируса типа I и реовируса типа I.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты постановки ОТ-ПЦР по выявлению реовируса в испытуемых пробах представлены на рисунках 1 и 2.

При амплификации реовируса на locus S2 образуется ампликон молекулярной массой 538 п.о. На рисунке 1 видно, что трек №14 имеет полосу указанной молекулярной массы, данный образец является положительным контролем. Проба №8 имеет полосу идентичной контролю молекулярной массы, следовательно эта проба дала позитивную реакцию на наличие в образце искомого участка РНК,



Рис. 1. Амплификация локуса S2
Обозначения: М – ДНК Маркер; 1 – 12 испытуемые пробы; 13 – парвовирус типа I (положительный контроль); 14 – реовирус типа I (отрицательный контроль).



Рис. 2. Амплификация локуса L3
Обозначения: М – ДНК Маркер; 1 – 12 испытуемые пробы; 13 – парвовирус типа I (положительный контроль); 14 – реовирус типа I (отрицательный контроль).

характеризующего присутствие реовируса типа I.

В результате амплификации со специфичными нуклеиновыми кислотами реовируса праймеры L3 инициируют синтез ампликона молекулярной массой 320 п.о. На рисунке 2 видно, что пробы №14 и 8 имеют характерную полосу, соответственно они положительны в ПЦР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования подтверждают причастность реовируса в респираторно-кишечной и репродуктивной патологии КРС, положительный результат ОТ-ПЦР был получен в 1 случае (8,3% от общего числа проанализированных проб).

Показана принципиальная возможность индикации реовирусной РНК, используя праймеры S2 и L3, которые в ПЦР показали идентичные результаты амплификации. Однако в варианте с использованием праймера L3 полосы ДНК более мажорнее, следовательно результат ПЦР легче интерпретировать. В практических целях, для идентификации реовируса, предпочтительнее использовать ПЦР с применением праймеров на ген L3.

PCR detection of reovirus.

М.А. Efimova, Н.З. Gaffarov, Т.Н. Faizov, N.I. Hammad.

SUMMARY

Reovirus infection of cattle is important in infectious disease of cattle. Calves pnevmoenteritami it appears in the first 3 months of life , adult animals occurs latently . Proved that cattle reovirus infection plays a role in the pathology of the fetus and newborn calf.

Prevalence of reovirus infection of cattle population of the Volga Federal District. Seropositivity of cattle of different age groups to reovirus type I ranged from 11.1% to 66.7%.

In order to display the genome of reovirus type I , we used the polymerase chain reaction reverse transcription (RT- PCR) on

the S2 moiety and L3, the loci of these amplification primers : S2- 26 :

5'-GCGCTGCGTTCCTATTCAAGACT-3',
S2- 563: 5'-TAGTTCATGAGAAGCTGGTTCAC-3'

(Muscillo M. et al., 2001) and
REOL3 F: 5'-CAGTCGACACATTTGTGGTC-3',
REOL3R:5'-GCGTACTGACGTGGATCATA-3

(Spinner ML, Di Giovanni GD 2001), respectively. Reverse transcription was performed in a single PCR reaction .

Amplification was carried out on a programmable thermal cycler " Tertsik ". The amplified fragments were identified by electrophoresis of the reaction products in a 2% agarose gel followed by ethidium bromide for detection ultrahemоскопе . As a control, inactivated viral suspension parvovirus reovirus type I and type I.

Results indicate reovirus in clinical trials and pathological material , confirmed the involvement of reovirus in the intestinal respiratory and reproductive disease of cattle . A positive result by RT-PCR of total proissledovannyh samples was 8.3 % . The principal possibility of indicating reovirus RNA using primers S2 and L3, which showed identical PCR amplification results . For practical purposes , identifying the reovirus is preferable to use PCR using primers for the gene L3, which initiates synthesis of an amplicon of 320 bp molecular weight The bands of DNA appear more majeure therefore PCR result is easier to interpret .

ЛИТЕРАТУРА

1. Самуйленко А.Я. Инфекционная патология животных: В 2т. /Самуйленко А.Я., Соловьева Б.В., Непоклонова Е.А., Воронина Е.С. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – 1911с.
2. Трофимов Н.М. Изучение роли реовирусной инфекции в патологии плода и новорожденного.- дис. ...канд. вет. наук: / Н.М. Трофимов. М., - 1975.
3. Berard, A. Mammalian reoviruses: propagation, quantification, and storage / A. Berard, K. M Coombs // Current protocols in microbiology- 2009.- Ch. 15.- 15p.
4. Chandran, K. The σ region of outer-capsid

protein μ 1 undergoes conformational change and release from reovirus particles during cell entry./ K. Chandran, J.S.L. Parker, M. T. Ehrlich. // J. Virol. - 2003. - 77:13361-13375.

5. Muscillo M. A new RT-PCR method for the identification of reoviruses in seawater samples. / M. Muscillo, G. La Rosa, C. Marianelli, S. Zaniratti, M.R. Capobianchi, L. Cantiani and A. Carducci //Wat. Res. Vol. 35, No. 2, pp. 548-556, 2001

6. Spinner M. L. and Di Giovanni G. D. Detection and Identification of Mammalian Reoviruses in Surface Water by Combined Cell Culture and Reverse Transcription-PCR. / M. L. Spinner and G. D. Di Giovanni //Applied and Environmental Microbiology, July 2001, p. 3016–3020.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА МОЛОЗИВА КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ- СВИНОМАТОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ АНТИСТАФИЛОКОККОВЫМ ПРЕПАРАТОМ

С.Ю. Корзенников (ФГОУ СПбГАВМ)

Ключевые слова: мастит, свиноматка, поросята, лимфоциты.

Key words: mastitis, sow, piglet and lymphocytes.

Цель исследований - оценка состава «соматических клеток» в молозивный период у здоровых свиноматок и его изменения при развитии воспаления молочной железы. Вместе с этим несомненный интерес представляет клеточный состав молозива и молока свиноматок при лечении мастита с применением антистафилококкового препарата, стимулирующего активность регионарной иммунной системы молочной железы.

В течение 3 дней брались образцы молозива путём нанесения на предметное стекло, с последующей фиксацией клеток молозива, которая проводилась парами формальдегида. Мазки окрашивались по Грамму и проводился подсчёт клеточного состава молозива, с помощью иммерсионной оптической системы светового микроскопа.

Исследования показали, что уровень лимфоцитов при лечении свиноматки антистафилококковым препаратом выше, чем у животных с маститом. У некоторых свиноматок лимфоциты составляли 90-92%. Отмечается более быстрое подавление воспалительного процесса, в молозиве появляются и палочкоядерные лейкоциты. У таких свиноматок поросята чаще сосут вылеченную долю, диарея отмечается реже, так как поросята получают необходимое количество молозива.

ВВЕДЕНИЕ

Воспаление молочной железы – мастит является одной из серьезных проблем промышленного свиноводства (4). Вследствие мастита у свиноматок снижается или полностью прекращается секреция молока, ухудшается качество единственного и незаменимого источника питания поросят в первые дни жизни - молозива. Это приводит к высокой заболеваемости новорожденных поросят диспепсией и гибели приплода (до 80%). Поэтому очень важным моментом является своевременное выявление маститов и их лечение на ранней стадии (3). Наиболее часто при мастите свиноматок выделяются *S.aureus* (28,1%) и *E.coli* (15,3%) в удельном весе ассоциативной микрофлоры преобладают *Staphylococcus* и *Streptococcus*

(35.7%) (2). Гнойно-катаральный, серозный, геморрагический и фибринозный воспалительные процессы в молочной железе свиноматок чаще обусловлены ассоциациями *Staphylococcus* + *Streptococcus*, абсцедирующий мастит - ассоциациями, включающими микроорганизмы - *E.coli*, *P.vulgaris* и *Ps. aeruginosa*. Как видно наиболее частой причиной маститов является *S.aureus*, который попадает с молозивом поросятам и может являться причиной диареи в будущем (1).

Целью представленной работы является оценка состава так называемых «соматических клеток» в молозивный период у здоровых свиноматок и его изменения при развитии воспаления молочной железы. Вместе с этим несомненный интерес представляет клеточный состав

молозива и молока свиноматок при лечении мастита с применением препарата, стимулирующего активность регионарной иммунной системы молочной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в ООО «Рюрик-Агро». Было сформировано 3 группы подобранные по принципу аналогов (живая масса, возраст, происхождение). В первую группу входили клинически здоровые свиноматки второго, третьего и четвёртого опоросов. Свиноматки трёх породные (DYL, LYL, YLY), вес животных составлял от 200-280 килограмм живого веса, количество сосков от 12-14, соски были не повреждены, поросята могли получать молозиво. Во вторую группу входили свиноматки с клиническими признаками мастита (второго, третьего и четвёртого опоросов). Мастит был катарального типа - общее состояние животных было без изменений, повышение температуры тела отмечалось крайне редко, молочная железа была уплотнена, незначительно увеличена в размере, болезненность была слабо выражена. В третью группу входили свиноматки с клиническими признаками катарального мастита второго, третьего и четвёртого опоросов, которым в области паховых лимфатических узлов наносился антистафилококковый препарат, содержащий стафилококковый анатоксин, диметилсульфоксид (димексид) и ланолин. В течение 3 дней брались образцы молозива путём нанесения на предметное стекло, с последующей фиксацией клеток молозива, которая проводилась парами формальдегида. Затем мазки окрашивались по Грамму, и проводился подсчёт клеточного состава молозива, с помощью иммерсионной оптической системы светового микроскопа.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Как мы видим в нормальном молозиве первого дня после опороса клеточный

состав весьма беден. Воспаления железы нет, лимфоцитов не много, как и других клеток. В мазках отмечается появление эозинофилов, палочкоядерные, лимфоцитов, но в небольшом количестве (Рис 1а). На второй день после рождения поросят клеточный состав молозива существенно изменяется, в основном за счет присутствия палочкоядерных нейтрофилов (Рис. 1б). Клеточная картина отображает нормальное физиологическое функционирование молочной железы в молозивный период.

Во второй группе результаты были следующими: В молозиве из маститной доли присутствует большое количество лимфоцитов, что говорит о воспалительном процессе, протекающем в поражённой доле. Тем более, что одной из причин маститов у свиноматок является присутствие *S.aureus*. Остальные клетки присутствуют в незначительном количестве (Рис.1 в, г). Обращает внимание, что наряду со значительным количеством лимфоцитов в поле зрения присутствуют и клетки эпителия, содержащие крупные

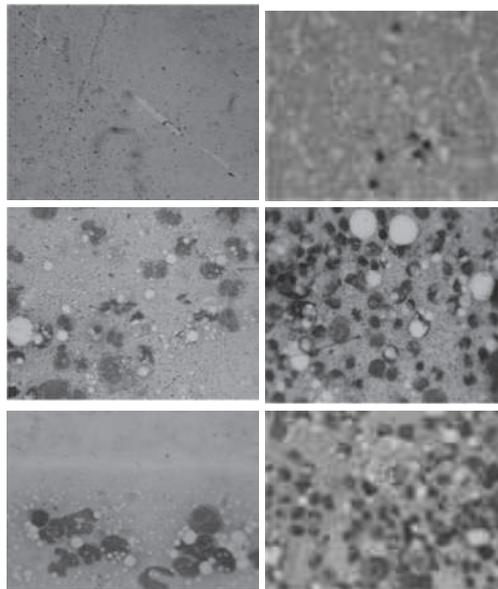


Рис. 1 (а, б, в, г, д, е) Молозиво 1 день

молочные жировые шарики.

В третьей группе результаты были следующими: В молозиве от свиноматки с маститом, которой наносился лечебный препарат, присутствует большое количество лимфоцитов (Рис.1д) в некоторых мазках это около 90 %, что является одним из показателей местной реакции организма на воспалительный процесс в молочной железе. Отмечено значительное присутствие полиморфноядерных лейкоцитов. Молочная железа становилась более мягкой, поросётам было легче сосать молозиво, диарея отмечалась очень редко. Поражённый железистый пакет продолжает функционировать.

Морфологические особенности клеточного состава (содержания лейкоцитов) в молозиве полностью соответствуют и данным количественного анализа лейкограммы молозива (Табл. 1).

Рассматривая своеобразие молозивного периода у свиноматок необходимо отметить что на второй день после опороса в молозиве отмечается наличие значительного количества лейкоцитов нейтрофильного ряда (в основном палочкоядерных лейкоцитов). Это явление находится

в полном соответствии с характерным для большинства млекопитающих животных процессом формирования структуры молочной железы, обусловленным реактивацией регионарной иммунной системы. Непосредственно перед родами в молочной железе происходит накопление лейкоцитов, расчищающих пространство альвеол и протоков и подготавливающих структуру молочной железы к интенсивному процессу образования молока (5). В случае развития воспалительного процесса характер лейкограммы существенно меняется, в мазке молозива присутствуют в основном лимфоциты. В случае стимулирования иммунной системы молочной железы за счет подведения антигенной детерминанты (стафилококкового анатоксина) к регионарным паховым лимфоузлам лимфоцитарный профиль клеточного состава молозива существенно дополняется присутствием лейкоцитов нейтрофильного ряда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение исследования продемонстрировало, что уровень лимфоцитов при местном стимулировании выше, чем у свиноматки с маститом, у которых, уро-

Таблица №1

Клеточный состав (лейкограмма) молозива здоровых, больных маститом и пролеченных свиноматок (данные в таблице приведены в % соотношении)

№ молозиво	П.	С.	Э.	Б.	Л.	М.
1 день	0	0	2	0	4	4
2 день	96	4	0	0	0	0
М+М						
1 день	12	12	0	0	76	0
2 день	13	9	1	0	77	0
М+М+П						
1 день	6	10	1	0	83	0
2 день	22	11	5	0	62	0

Примечание: N - молозиво- молозиво от клинически здоровых свиноматок.

М+М - молозиво от свиноматок с клиническими признаками мастита.

М+М+П - молозиво от свиноматок с клиническими признаками мастита , которым наносился антистафилококковый препарат на область паховых лимфатических узлов.

П. – палочкоядерные, С. – сегментоядерные, Э. – эозинофилы, Б.- базофилы, Л.- лимфоциты, М.- моноциты.

вень лимфоцитов остаётся невысоким. У некоторых свиноматок лимфоциты составляли 90-92% (при местном стимулировании иммунной системы). Отмечается более активная борьба с воспалительным процессом, причем в молозиве появляются и палочкоядерные лейкоциты. У таких свиноматок поросята чаще сосут поражённую долю, диарея отмечается реже, так как поросята получают необходимое количество молозива, а также более полноценно могут противостоять инфекционным заболеваниям.

Detection of the cells content of a colostrum of clinically healthy and suffering mastitis sows.

S. Korennikov.

SUMMARY

The purpose of researches - a structure assessment of "somatic cells" during the colostrum period at healthy sows and its change at inflammation development of a mammary gland. Together with it, of undoubted interest are composition of colostrum cells and of the milk of sows at mastitis treatment with application of the anti-staphylococci medicine, stimulating activity of regional immune system of a mammary gland.

Within 3 days colostrum samples were collected by drawing on subject glass, with the subsequent fixing, which was carried out by vapors of formaldehyd. Smears were painted on Gram and calculation of colostrum cells, by means of immerse optical system of a light microscope, was carried out.

Researches showed that level of lymphocytes at treatment of a sow by anti-staphylococci medicine was higher, than at animals with mastitis. At some sows lymphocytes level were 90-92%. Faster suppression of inflammatory process is noted, in colostrum there are also stab leukocytes. At such sows' pigs suck the cured share more often, diarrhea is noted less often, as pigs receive necessary amount of colostrum.

ЛИТЕРАТУРА

1. Плешакова В.И., Семенов А.В., Машнин Д.В. Микрофлора при маститах свиноматок // Роль ветеринарного образования в подготовке специалистов агропромышленного комплекса: Сборник науч. тр. ИВМ ОмГАУ - Омск, 2003. - С. 207-211.
2. Семенов А. В. Характеристика микрофлоры и патоморфологические изменения молочной железы при маститах у свиноматок : автореф. дис. ... канд. вет. наук : спец. 16.00.03 / Семенов Анатолий Владимирович ; Омск. гос. аграр. ун-т, Омск, 2004. - 19 с. - ил. - Библиогр.: 6 назв. 2005-4/35810
3. Анохин Б. Новое в лечении поросят при диспепсии / Б. Анохин, В. Лопатин // Свиноводство. - 2001. - № 1. - С. 22-23.
4. Серебряков В. В. Микробиоценоз репродуктивных органов и молочной железы свиноматок при синдроме метрит-мастит-агалактии : автореф. дис. ... канд. вет. наук : спец. / Омск. гос. аграр. ун-т, Омск, 2009. - 18 с. - ил. - Библиогр.: 4 назв.
5. Скопичев В.Г., Максимюк Н.Н. Молоко Изд. «Перспект науки» 2011



ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ И ПОВТОРНОСТИ ТЕСТИРОВАНИЯ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР В ТЕСТЕ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ»

Е.В. Шекунова^{1,2}, В.А. Кашкин^{1,2}, М.Н. Макарова¹, В.Г. Макаров¹

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

Ключевые слова: доклинические исследования, поведение, крысы линии Вистар, тест «Открытое поле». **Keywords:** preclinical studies, behavior, rats of Wistar, test "open field"



Методика анализа поведения лабораторных животных в «открытом поле» широко используется при проведении доклинических исследований. Тест «открытое поле» используется как для оценки влияния фармакологических препаратов на ориентировочно-исследовательскую активность животных, выявления побочных эффектов препаратов, так и для изучения специфической анксиолитической активности веществ. Существует ряд факторов, которые существенно влияют на поведение грызунов при проведении данного теста. Среди этих факторов – генетически детерминированные, такие как линия и пол экспериментальных животных. Большое значение имеют условия, в которых проводится тест, например, освещенность поля, время суток, сезонность. Повторность тестирований также оказывает влияние на поведенческие параметры: при каждом последующем помещении животного в «открытое поле» происходит снижение ориентировочно-исследовательской активности. Целью данного исследования было определение влияния частоты тестирования на поведение крыс линии Вистар в «открытом поле». Также оценивалось влияние содержания животных (групповое или изолированное) на параметры поведения, регистрируемые в тесте «открытое поле». Было показано, что у самцов, но не у самок, крыс происходит снижение ориентировочно-исследовательской активности при проведении двух последовательных тестов с интервалом в 14 дней. Значимое снижение двигательной активности (и относительная «стабилизация» поведенческих параметров) у самок наблюдалась к третьему тесту при проведении тестирования с интервалом в 2 дня. Содержание в изоляции (две недели до начала эксперимента) привело к увеличению двигательной и ориентировочно-исследовательской активности самок крыс. Таким образом, при проведении повторных тестирований фармакологических веществ на одних и тех же животных следует учитывать тот факт, что предварительное двукратное помещение животных в «открытое

ВВЕДЕНИЕ

Методика анализа поведения лабораторных животных в «открытом поле» широко используется при проведении

доклинических исследований. Данный подход позволяет визуализировать даже незначительные отклонения в поведении животных, вызванные действием фарма-

кологических препаратов, что дает возможность оценить как выраженность нежелательных побочных эффектов, так и выявить специфическую активность препаратов.

Несмотря на кажущуюся простоту выполнения, при планировании и проведении данного поведенческого теста необходимо учитывать довольно много факторов, которые могут существенно повлиять на полученные результаты, затруднить их воспроизведение и интерпретацию. Так поведение различных линий лабораторных животных одного и того же вида в «открытом поле» может довольно сильно различаться (Asano et al., 1986; Schmitt, Hiemke, 1998; Carola et al., 2002). Линия животных также часто определяет наличие или отсутствие половых различий в поведении (Paré и Redei, 1993; Meziane et al 2007). В то же время данные, полученные в разных лабораториях, могут противоречить друг другу, что обусловлено различными условиями проведения теста и довольно высокой индивидуальной вариабельностью, (Kawaguchi et al., 2009; Chelaru et al., 2012; Padilla, 2009).

Одним из наиболее существенных и хорошо известных исследователям факторов, влияющим на поведение крыс и мышей в «открытом поле», является освещенность поля (Choleris et al., 2001). Изменение интенсивности освещения позволяет анализировать как нормальное поведение (слабое освещение или освещение, моделирующее сумерки), так и оценивать уровень тревожности (при уровне освещенности, превышающем 400 люкс). Большое влияние на активность животных оказывает время тестирования, так как локомоторная активность лабораторных животных изменяется в соответствии с циркадианными ритмами (Pruet , Belzung, 2003).

Первичное помещение животного в «открытое поле» вызывает поведенческий

ответ, который во многом определен повышением уровня тревожности, поэтому именно изучение поведения при первом предъявлении «открытого поля» рассматривается как инструмент для изучения специфической анксиолитической активности фармакологических препаратов (Choleris et al., 2001). Также анализ поведения при самом первом помещении животного в «открытое поле» является одним из способов изучения эмоциональной реактивности: оценивается количество дефекаций и выраженность характерного для грызунов позитивного тигмотаксиса, то есть поведения избегания открытых пространств и предпочтения мест в углах поля или у стен (Ramos, Mormede, 1998). Показано, что именно тигмотаксис наиболее чувствителен к действию анксиолитиков (Schmitt, Hiemke, 1998). Повторное многократное помещение животного в одни и те же условия при проведении теста ведет к снижению активности (Walsh, Cummins, 1978), происходит угасание ориентировочно-исследовательского поведения, исчезает эффект «новизны», что может рассматриваться как примитивная форма обучения. Это результат нормальной адаптационной деятельности нервной системы. Нарушения же данной формы обучения, то есть отсутствие «забывания», может свидетельствовать о нарушении когнитивных функций мозга, что является моделью нарушения памяти при определенных воздействиях (Huang et al., 2013).

Угасание реакции на новизну у нормальных животных ведет к изменению поведенческих показателей и необходимости учитывать этот фактор при планировании и проведении эксперимента. В данном исследовании было проанализировано влияние различных временных промежутков между тестами на поведение животных в «открытом поле». Также было изучено влияние условий содержания (изолированное или групповое содер-

жание) на поведение животных в «открытом поле».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные и условия их содержания.

Эксперименты выполнены на самцах и самках крыс линии Вистар массой 200-250 г (питомник «Рапполово», Россия). Животных содержали в условиях 24-х часового фоторежима (12 ч день:12 ч ночь, включение света в 8:00), контролируемой температуры (22°C±2°C) и влажности (65%±10%) воздуха при свободном доступе к очищенной воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм). Для содержания животных использовали индивидуальные или групповые пластмассовые клетки с проволочной металлической крышкой и подстилом из стружки дерева лиственных пород. Изолированно содержащиеся крысы находились в условиях индивидуального размещения две недели до начала эксперимента. Все животные были приучены к рукам экспериментатора до начала экспериментов.

Дизайн эксперимента

Изучение двигательной и исследовательской активности животных в открытом поле проводилось в два этапа. Целью первой серии экспериментов являлось изучение влияния двухнедельного интервала между повторными тестированиями на поведение самцов и самок крыс в «открытом поле». Животные содержались в группах по 8 особей каждого пола. В первой серии было протестировано 9 самцов и 10 самок крыс.

На втором этапе эксперимента изучалась поведение самок крыс, содержащихся либо в группах по 8 особей, либо индивидуально, при повторных тестированиях в «открытом поле». Четыре тестирования проводились с интервалом в 2 дня. Было протестировано 11 групповых и 10 изолированно содержащихся самок. У всех самок на протяжении всего эксперимента для определения стадии эстрального цик-

ла брали влагалищные мазки. В дни тестирований забор материала проводился после теста.

Оборудование

Для изучения активности животного использовалась установка «открытое поле» размером 100см x 100см x 30см, разделенная на 16 квадратов. Эксперименты проводились в дневное время с 13 до 16 часов при искусственном освещении, освещение поле было равномерным, интенсивность освещения была умеренной (200 люкс).

Методология

В начале теста животное высаживалось в центр поля. Время теста составляло 5 минут. Поведение регистрировалось с помощью компьютерной программы «Ethograph» (version 2.07, RITEC, St. Petersburg, Russia). Регистрировались следующие показатели (общая длительность и частота элементов поведения за время наблюдения):

- Локомоция (в центре)
- Локомоция (вдоль стен)
- Сидение (в центре)
- Сидение (в углу)
- Сидение (у стены)
- Сидение с принюхиванием (в центре)
- Сидение с принюхиванием (в углу)
- Сидение с принюхиванием (у стены)
- Подъемы на задние лапы (в центре)
- Подъемы на задние лапы (в углу)
- Подъемы на задние лапы (у стены)
- Грумминг (в центре)
- Грумминг (в углу)
- Грумминг (у стены)
- Заглядывания в отверстия
- Отряхивания (частота)
- Чесание
- Количество дефекаций
- Количество уриаций

По окончании теста животное высаживалось обратно в домашнюю клетку, установка «открытое поле» протиралось 3% раствором перекиси водорода.

Статистическая обработка

Для удобства обработки и упрощения представления результатов, полученные значения зарегистрированных параметров были обобщены. В статистическую обработку были взяты следующие показатели: общая продолжительность локомоции за время наблюдения (сумма продолжительности локомоции в центральных квадратах поля и вдоль стен), общая продолжительность сидения (сидение и сидение с приноживанием), продолжительность пребывания в центре поля, общая продолжительность подъемов на задние лапы, общая продолжительность груминга, количество заглядываний в отверстия, количество пристеночных подъемов на задние лапы (подъемы на задние лапы в углу и у стены). Полученные данные обрабатывались с помощью однофакторного дисперсионного анализа с повторными измерениями (программа SPSS v16). Последующие попарные межгрупповые сравнения осуществлялись при помощи теста Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Поведение самцов и самок крыс при первичном помещении в «открытое поле» существенно не различалось (табл.1). Несмотря на то, что продолжительность локомоции и подъемов на задние лапы у самок была несколько больше по сравнению с самцами, а продолжительность груминга – меньше, эти различия не были статистически значимы. В целом, дисперсионный анализ с повторными измерениями выявил достоверное влияние фактора «пол животного» только на количество пристеночных стоек ($F_{1,17}= 4,97$; $p<0,05$). Фактор «повторность тестирования» был статистически значим при анализе продолжительности локомоции, продолжительности подъемов на задние лапы, пребывания в углу и частоты пристеночных стоек, однако последующие межгрупповые сравнения показали, что поведенческие параметры различались между первым и вторым тестированиями только у самцов (табл.1).

Таблица 1
Продолжительность или количество поведенческих элементов в тесте «открытое поле» у самцов и самок крыс при повторных тестированиях (M±m)

Элементы поведения	Самцы (n=9)		Самки (n=10)	
	1 тест	2 тест	1 тест	2 тест
Продолжительность локомоции (сек)	75,5±12,1	49,2±9,9#	81,1±11,0	69,2±10,1
Продолжительность подъемов на задние лапы (сек)	23,0±3,3	11,7±2,9#	30,5±5,6	26,6±5,2
Продолжительность груминга (сек)	38,4±15,8	26,2±6,9	16,4±5,1	17,6±3,9
Время пребывания в центре (сек)	10,2±3,5	6,3±2,0	11,4±4,3	13,1±3,3
Время пребывания в углах поля (сек)	159,7±21,5	209,4±14,5#	146,6±15,6	164,7±16,0
Количество заглядываний в отверстия	17,8±2,2	11,9±2,6	17,8±3,8	19,7±3,5
Количество пристеночных подъемов на задние лапы	16,6±,2	6,7±1,2#	19,7±1,9	15,0±2,7*

Примечание: * - $p<0,05$, критерий Бонферрони, достоверные отличия поведения самок по сравнению с самцами, тест 2; # - $p<0,01$, критерий Бонферрони, достоверные отличия при повторном проведении теста «открытое поле» по сравнению с тестом 1 у самцов.

Повторное проведение теста «открытое поле» с интервалом в две недели между тестами показало, что поведение самцов изменилось по сравнению с первым тестом: ориентировочно-исследовательская активность снизилась. У самок, хотя и наблюдалась тенденция к снижению двигательной и ориентировочно-исследовательской активности при проведении второго теста, однако эти изменения не были статистически достоверными. Таким образом, при интервале в 14 дней между тестами наблюдалось изменение показателей поведения самцов, связанное с повторным помещением в одни и те же условия, в то же время у самок существенно влияния повторного тестирования на поведенческие показатели выявлено не было.

Целью второго эксперимента было изучение динамики изменений поведенческих показателей при повторном тестировании с интервалом в 2 дня. Эксперименты были проведены на самках, содержащихся либо в изоляции, либо в группах.

Поведение в «открытом поле» изолированно содержащихся самок существенно отличалось от поведения содержащихся в группе самок (табл.2). При обработке полученных данных с помощью дисперсионного анализа с повторными измерениями подтвердилось влияние фактора «изолированное или групповое содержание» на такие поведенческие параметры как продолжительность локомоции ($F_{1,19}= 5,39$; $p<0,05$), подъемов на задние лапы ($F_{1,19}=6,70$; $p<0,05$), время пребывания в центре ($F_{1,19}= 5,03$; $p<0,05$). Изолированно содержащиеся крысы были более подвижны, проявляли большую исследовательскую активность, меньшую тревожность (табл.2). Эти данные говорят о важном влиянии условий содержания животных на поведенческие показатели. Анализ влияния стадии эстрального цикла на поведенческие параметры не вы-

явил значимости этого фактора в данном эксперименте, что может быть обусловлено небольшим размером выборки и довольно существенной индивидуальной вариабельностью поведения (данные не представлены).

В целом, при каждом последующем повторном тестировании активность как групповых, так и изолированно содержащихся крыс, несколько снижалась, что говорит о постепенной адаптации животных к условиям теста. Наблюдалась тенденция и к снижению времени пребывания в центре поля, однако эта тенденция не была статистически достоверной ни у групповых крыс ($p=0,06$), ни у изолированно содержащихся животных ($p=0,07$).

Таким образом, при интервале между тестированиями в 2 дня изменение поведенческих показателей наблюдалось уже ко второму тесту, между третьим и четвертым тестированием не было статистически значимой разницы, что говорит о развитии габитуации (привыкания) к условиям теста, что привело к относительной стабилизации уровня поведенческой активности.

Габитуация к условиям теста ведет к снижению ориентировочно-исследовательской активности крыс. Динамика изменений этой формы поведения также зависит от многих факторов. Так в данном эксперименте повторное тестирование самцов крыс через 14 дней привело к снижению этого вида активности, в то время как поведение самок практически не изменилось. Отсутствие угасания у самок во многом может быть обусловлено флуктуациями гормонального фона. Известно, что во время фаз эструса и/или проэструса, в основном, наблюдается увеличение двигательной активности крыс, изменение уровня тревожности (Frye et al., 2000; Devall et al., 2009). В данном эксперименте во время повторного тестирования количество крыс, находящихся в фазах эструса и/или проэструса, могло

Таблица 2
Влияние условий содержания и повторности тестирования на поведение самок крыс в «Открытом поле». Данные представлены как продолжительность или количество поведенческих элементов (M±m)

Элементы поведения	Условия содержания	1 тест	2 тест	3тест	4 тест
Продолжительность локомоции (сек)	Групповое	68,1±10,2	55,8±10,6	48,1±7,2*	37,6±6,3**
	Изолированное	108,8±11,1###	86,1±10,1#	56,0±10,1**	61,0±9,4**#
Продолжительность подьемов на задние лапы (сек)	Групповое	19,8±3,3	13,2±2,9*	14,7±1,9	12,5±2,6*
	Изолированное	32,8±5,3#	29,8±5,4###	27,1±4,9#	28,9±7,6#
Продолжительность груминга (сек)	Групповое	14,9±4,2	10,6±3,2	9,8±2,6	17,6±5,2
	Изолированное	7,3±2,4	11,6±4,1	16,4±4,9	15,1±4,7
Время пребывания в центре (сек)	Групповое	29,3±6,0	23,7±7,6	11,1±3,3	16,0±3,9
	Изолированное	41,6±7,8	37,6±6,2	26,2±5,6#	24,8±5,1
Время пребывания в углах поля (сек)	Групповое	77,5±23,6	103,0±19,6	133,6±14,1	142,8±16,0
	Изолированное	60,1±11,7	73,4±15,5	113,5±16,9**	97,2±17,5*
Количество заглядываний в отверстия	Групповое	12,5±2,0	13,7±2,1	13,3±2,9	8,9±2,2
	Изолированное	13,4±2,6	14,7±3,1	13,2±3,3	15,1±2,0
Количество пристеночных подьемов на задние лапы	Групповое	11,6±1,5	7,7±1,7	8,8±1,2	7,5±1,3**
	Изолированное	15,8±2,5	13,5±2,1	12,3±1,8	12,1±2,6

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, критерий Бонферрони, достоверные отличия поведения изолированно содержащихся самок от групповых самок; # - $p < 0,05$, ### - $p < 0,01$, критерий Бонферрони, достоверные отличия при повторном проведении теста «открытое поле» по сравнению с тестом I

превышать таковое во время первого тестирования. Изменение уровня поведенческой активности, обусловленное изменениями гормонального фона, могло привести к тому, что активность крыс через две недели во время второго тестирования не снизилась. В следующей серии экспериментов, где формирование экспериментальных групп происходило с учетом фазы эстрального цикла, при четырех последовательных помещениях самок в «открытое поле» с интервалом в 2 дня значимое угасание реакции произошло, в основном, к третьему тесту, то есть именно к третьему тесту наблюдалась «стабилизация» поведенческих показателей.

Существенное влияние на результаты оказал и способ содержания животных. У животных, содержащихся изолированно, наблюдалось усиление ориентировочно-исследовательской активности, тенденция к снижению уровня тревожности по сравнению с животными, содержащимися в группе. Эффект изоляции был очевиден уже после двухнедельного периода изоляции. Соответственно, если в задачи эксперимента входит оценка анксиолитического действия препарата, то использование изолированно-содержащихся крыс может не дать достоверных результатов. Динамика угасания ориентировочно-исследовательской активности у изолированных и групповых крыс не различалась.

Следует отметить, что, несмотря на максимальную стандартизацию процедуры проведения тестирования и анализа полученных результатов, данные, собранные в различное время года на животных одной линии из одного и того же питомника, могут различаться. Так в данной работе самки линии Вистар, использованные в первом и во втором эксперименте, были получены из одного питомника, но в разное время, эксперименты проводились с интервалом в четыре месяца. Хотя условия тестирования практически иден-

тичны, полученные результаты различаются (см. табл.1 и табл.2). Этот фактор также необходимо учитывать при планировании и проведении экспериментов. Крайне желательно, чтобы, например, эффекты различных доз одного фармакологического препарата или сравнение эффектов двух и более веществ оценивались в пределах одного эксперимента, параллельно, на животных одной партии в одних и тех же условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повторное помещение самцов крыс линии Вистар в установку «открытое поле» с интервалом в две недели приводит к снижению активности животных. У самок 14-дневный перерыв между повторными тестированиями не привел к значимому снижению двигательной и ориентировочно-исследовательской активности.

Проведение повторных тестирований с интервалом в 2 дня ведет к снижению активности, которое стабилизируется уже к третьему тесту. Таким образом, при необходимости проведения повторных тестирований фармакологических веществ на одних и тех же животных следует учитывать тот факт, что предварительное двукратное помещение животных в «открытое поле» приводит к относительной стабилизации уровня поведенческой активности.

Условия содержания животных (групповое содержание или изолированное) существенно изменяет уровень активности крыс в «открытом поле»: ориентировочно-исследовательская и двигательная активность изолированно содержащихся крыс увеличивается по сравнению с крысами, которые содержатся в группе.

Influence of contents and retesting behavior Wistar rats in the test "open field".

E.V. Shekunova, V.A. Kashkin, M.N. Makarova, V.G. Makarov.

SAMMARY

The open field test has become a very widely used tool in behavioral research. The open field test is normally used to evaluate whether behavior of animal, such as locomotion or exploratory behavior, is affected by drugs. Most typically the open field test is used to evaluate side effects of drug. Also this method can be utilized for the investigation of anxiolytic agent. Behavior of rodents in the open field depends on genetic factors such as strain and sex. A partial list of the factors that can influence results includes: level of illumination, time of day of testing. In addition, upon repeated testing, animals quickly habituate to the open field and their locomotion tends to decrease across testing sessions. The aim of the present study was to estimate the effects of repeated testing and housing conditions (grouped vs isolated) on the open field activity of Wistar rats. It was found that locomotion and exploratory activity of male rats but not female rats decreased when they were re-tested two weeks later. In the second part of this experiment female Wistar rats were exposed to the open field test every 2 days. The third exposure resulted in decreasing of open field activity. Isolated female rats (isolation during two weeks before the experiment) were significantly more active than their grouped counterparts. Therefore, upon two repeated testing Wistar rats habituate to the open field and their activity reaches a stable level. It is important if experimental design imply repeated testing.

ЛИТЕРАТУРА

1. Asano Y. Characteristics of open field behavior of Wistar and Sprague-Dawley rats // *Exp Anim*. 1986. 35. 505-508
2. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice // *Behav Brain Res*. 2002. 134:49-57.
3. Chelaru MI, Yang PB, Dafny N. Sex differences in the behavioral response to methylphenidate in three adolescent rat strains (WKY, SHR, SD) // *Behav Brain Res*. 2012. 226. 8-17.
4. Cholieris E., Thomas A.W., Kavaliers M., Prato F.S. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2001. 25. 235-260.
5. Devall AJ, Liu ZW, Lovick TA. Hyperalgesia in the setting of anxiety: sex differences and effects of the oestrous cycle in Wistar rats // *Psychoneuroendocrinology*. 2009. 34. 587-96.
6. Frye CA, Petralia SM, Rhodes ME. Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety tasks coincide with increases in hippocampal progesterone and 3alpha,5alpha-THP // *Pharmacol Biochem Behav*. 2000. 67. 587-596.
7. Huang E, Ngo M, Yee S, Held L, Norman K, Scremin AM, Scremin O. Repeated blast exposure alters open field behavior recorded under low illumination // *Brain Res*. 2013. 1529.125-133.
8. Kawaguchi M, Irie K, Morohoshi K, Watanabe G, Taya K, Morita M, Kondo Y, Imai H, Himi T. The ontogeny of exploratory behavior in male and female adolescent rats (*Rattus norvegicus*) // *Neurosci Res*. 2009. 65.136-140.
9. Meziane H, Ouagazzal AM, Aubert L, Wietrych M, Krezel W. Estrous cycle effects on behavior of C57BL/6J and BALB/cByJ female mice: implications for phenotyping strategies // *Genes Brain Behav*. 2007. 6.192-200.
10. Padilla E, Barrett D, Shumake J, Gonzalez-Lima F. Strain, sex, and open-field behavior: factors underlying the genetic susceptibility to helplessness. *Behav Brain Res*. 2009. 201. 257-264.
11. Paré WP, Redei E. Sex differences and stress response of WKY rats // *Physiol Behav*. 1993. 54. 1179-1185.

12. Prut L., Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review // European Journal of Pharmacology 2003. 463. 3 – 33
13. Ramos A, Mormede O. Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach // Neurosci Biobehav Rev 1998. 22. 33-57.
14. Schmitt U, Hiemke C. Combination of open field and elevated plus-maze: a suitable test battery to assess strain as well as treatment differences in rat behavior // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatr 1998. 22. 1197-215.
15. Walsh RN, Cummins RA. The open-field test: a critical review // Psychol Bull 1976. 83. 482-504.

УДК 615.273.5

ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ ГЕМОСТАЗА У КРЫС

В.А. Кашкин, А.П. Соколова, Т.В. Абрашова, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров (СПб ИФ)

Ключевые слова: гемостаз, коагуляция, тромбоциты, доклинические исследования крысы. **Key words:** hemostasis, coagulation, platelets, pre-clinical studies, rats.



Целью данного исследования была оценка системы гемостаза у крыс (один из самых распространённых видов лабораторных животных), а также сравнительная оценка полученных результатов со справочной литературой и данными из других лабораторий.

Исследование провели на беспородных крысах, в возрасте 30 дней, в количестве 40 самцов и 40 самок.

У опытных всех животных был произведен забор крови из хвостовой вены для оценки показателей гемостаза (количество тромбоцитов, тест на агрегацию тромбоцитов с адреналином, АЧТВ, ПВ, фибриноген тест и определение спонтанной фибринолитической активности цельной крови). Как дополнительный критерий функциональной активности тромбоцитов учитывали такие показатели, как РСТ (platelet crit – тромбокрит), PDW (platelet distribution width – ширина распределения тромбоцитов по объему), MPV (mean platelet volume – средний объем тромбоцитов).

В ходе эксперимента были определены нормальные критерии для крыс, как наиболее часто используемых лабораторных животных. Однако необходимо учитывать вариабельность показателей у животных в зависимости от породы, возраста и пола.

Также было показано, что оценка показателей коагуляторной способности крови информативна и должна быть включена в план доклинических исследований лекарственных средств. Причём особую важность эти данные имеют при оценке лекарственных средств, применяющихся для терапии патологий, связанных с гипер/гипокоагуляцией и синдромом тромбообразования. Особый интерес в данном исследовании представляет фибриноген. Стабильность и низкая вариабельность данного показателя дает возможность измерять фибриноген не только как показатель гемостаза, но и как острофазный белок, концентрация которого возрастает при воспалении в 2-5 раз. При этом значения фибриногена, полученные у крыс близки к таковым значениям у человека (1,8 - 3,5 г/л), что позволяет прогнозировать ответные реакции, подтверждая лабораторными методами развитие воспалительных реакций.

Коммерческие тест-системы (кит), которые используются для определения показате-

лей гомеостаза у людей, могут быть применены в экспериментальных исследованиях на лабораторных животных.

ВВЕДЕНИЕ

Система гемостаза - биологическая система, обеспечивающая, с одной стороны, сохранение жидкого состояния крови, а с другой — предупреждение и остановку кровотечений путем поддержания структурной целостности стенок кровеносных сосудов и достаточно быстрого тромбообразования последних при повреждениях.

Клеточный гемостаз в эволюционном отношении является более ранним. Так, у низших беспозвоночных остановка кровотечений обеспечивается только клетками гемолимфы, и в плазме этих животных еще нет факторов свертывания. У более высокоорганизованных животных в плазме уже появляется аналог фибриногена, но еще нет тромбина, и примитивное свертывание при удалении клеток крови идет под влиянием трансглутаминазы. И лишь у позвоночных свертывающая система плазмы получает развитие и значительную автономию, хотя и у них выход из клеток активаторов свертывания играет важную роль в осуществлении гемостаза.

В сложном процессе остановки кровотечения условно выделяют 2 этапа:

1. Первичный, или сосудисто-тромбоцитарный (временный), существование которого обусловлено спазмом сосудов и их механической закупоркой агрегатами тромбоцитов с образованием, так называемого белого тромбоцитарного (первичного) тромба

2. Вторичный, или коагуляционный (окончательный) тромбоз, протекающий с использованием многочисленных факторов свертывания крови и обеспечивающий плотную закупорку поврежденных сосудов фибриновым тромбом (красным кровяным сгустком).

Важным аспектом поддержания го-

меостаза организма является последующий лизис образовавшегося тромба, осуществляемый фибринолитической системой.

Целью данной работы явилось изучение системы гемостаза крыс (как наиболее часто используемых лабораторных животных) и сравнительная оценка современных тестов, проводимых в лабораторной практике. Кроме этого большой интерес представляли сами тестовые системы, разработанные для измерения показателей гемостаза человека и возможность их использования в эксперименте на животных. В данном исследовании проводились тесты направленные на изучение показателей тромбоцитарного, коагуляционного и фибринолитического звеньев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились беспородные крысы (самцы и самки) в возрасте 30 недель, весом 200-250 гр. в количестве 80 особей (40 самок, 40 самцов) (питомник лабораторных животных «Рапполово»). Во время периода акклиматизации и самого времени эксперимента животные содержались в стандартных условиях с неограниченным доступом к стандартной пище и воде.

По окончании акклиматизационного периода (14 дней) у всех крыс был произведен забор крови из хвостовой вены для оценки показателей гемостаза (количество тромбоцитов, тест на агрегацию тромбоцитов с адреналином, АЧТВ, ПВ, фибриноген тест и определение спонтанной фибринолитической активности цельной крови). Как дополнительный критерий функциональной активности тромбоцитов учитывали такие показатели, как PCT (platelet crit – тромбокрит), PDW (platelet distribution width – ширина распределения тромбоцитов по объему), MPV (mean platelet volume – средний объем тромбоцитов). Количество тромбоцитов, PCT, PDWc, MPV определяли на автоматическом гематологическом анализа-

торе Abacus Junior Vet, (Diatron, Австрия). Кровь для исследования забирали из хвостовой вены и стабилизировали раствором ЭДТА в концентрации 2 мг/мл цельной крови. Определение ПВ и АЧТВ проводили на коагулометре АПГ2-02п-ЭМКО (СПб, Россия) с помощью стандартных наборов реагентов фирмы НПО РЕНАМ (Москва, Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка сосудисто-тромбоцитарного (первичного) гемостаза

Для оценки данного звена системы гемостаза были выбраны стандартные тесты, использующиеся в клинической практике: общее количество тромбоцитов и тест на агрегацию с адреналином. Данные показатели характеризуют агрегатное состояние крови и функциональную активность кровяных пластинок (табл.1).

Как видно из таблицы 1 показатели общего количества тромбоцитов коррелируют с полученными ранее результатами [5,8,9]. У человека данные величины существенно ниже $150-450 \cdot 10^9/\text{л}$ [3]. Особый интерес, данный факт представляет с точки зрения гиперкоагуляционного синдрома у крыс [7], а также межвидовых и морфологических различий тромбоцитов [2]. Поскольку ключевая роль в запуске гемостатических реакций отводится тромбоцитам, то соответственно их большое количество должно свидетельствовать о повышенной свертываемости кро-

ви у крыс. Однако тромбоциты крыс и человека гетерогенны и существенно различаются по морфологии. В популяции людей преобладают Д формы тромбоцитов (дисковидные) по сравнению с С1 формами (сферическими с большим количеством псевдоподий - признак активации), а также обнаруживаются протромбоциты (ПТ) в минимальных количествах и не обнаруживаются С2 (большие сферические) формы. У крыс также приоритет принадлежит Д формам, однако содержание С1 форм выше, чем у человека и эти формы отличаются минимальной активностью (на поверхности клеток почти не обнаруживаются псевдоподии), наблюдается большое количество ПТ - функционально незрелых клеток. Такие различия позволяют предположить, что, несмотря на высокое содержание тромбоцитов в крови крыс, активность их минимальна.

Это хорошо сочетается с данными теста на агрегацию с адреналином. Следует отметить половые различия по данному показателю, в группе интактных самок агрегация происходила быстрее, чем в группе интактных самцов.

При этом у самок время агрегации приближено к нормам в человеческой популяции (40-50 с.) и составляет $47,3 \pm 1,9$ сек, в то время как у самцов данный показатель выше и составляет $62,8 \pm 3,6$ сек. Этот факт согласуется с тем, что женщины имеют тенденцию к более

Таблица 1

Показатели первичного гемостаза у крыс, $M \pm m$

Группа животных	Общее кол-во $T_r \cdot 10^9 / \text{л}$	Тест на агрегацию с адреналином T_r , сек.	PCT, % (тромбокрит)	MPV, fl (средний объем тромбоцитов)	PDWc,% (ширина распределения тромбоцитов по объему)
Самки, n=40	692 ± 26	$47,3 \pm 1,9$	$0,49 \pm 0,02$	$7,1 \pm 0,2$	$31,4 \pm 0,3$
Самцы, n=40	625 ± 30	$62,8 \pm 3,6^*$	$0,41 \pm 0,02$	$6,8 \pm 0,1$	$31,6 \pm 0,3$

Примечание: * - различия статистически значимы по t-критерию Стьюдента между группами самцов и самок, при $p < 0,05$; fl - фемолитры

Таблица 2

Показатели коагуляционного гемостаза у крыс, $M \pm m$

Группа	АЧТВ, сек.	ПВ, сек.	Фибриноген, г/л
Самки, n=40	17,9±0,9	21,5±0,3	2,5±0,1
Самцы, n=40	21,1±1,0	21,9±0,4	2,8±0,1

высокой исходной реактивности тромбоцитов, чем мужчины [12].

Тромбоцит и широта распределения тромбоцитов по объему у крыс значительно выше, чем у человека (PCT в человеческой популяции составляет 0,11-0,28 %, PDW от 10 до 15 %). А средний объем клеток не превышает нижнюю границу показателя в популяции людей (MPV у человека составляет 7-10 fl (фемолитров)).

Оценка коагуляционного гемостаза

Для оценки данного звена системы гемостаза были выбраны стандартные тесты, использующиеся в клинической практике: АЧТВ, ПВ и фибриноген. Показатели характеризуют первую фазу свертывания крови - образование протромбиназного комплекса (АЧТВ), которое заканчивается образованием протромбина. Протромбиновое время (ПВ) отвечает за образование тромбина (2 фаза свертывания), удлинение которого является маркером наличия в крови непрямого антикоагулянтов и (или) дефицита витамин К-зависимых факторов свертывания (II, VII, IX, X). Третья фаза включает образование фибрина (фибриноген).

Из таблицы 2 видно, что АЧТВ у самок и у самцов значительно укорочено по сравнению с нормами у человека. В популяции людей нормальные значения теста составляют 30- 55 сек. [3,6]. Показатели ПВ приближены к таковым у человека. В популяции людей нормальные значения теста составляет 9-20 сек. [3,4].

На основании вышеизложенного можно сделать вывод о том, что механизм образования протромбиназного комплекса (первой фазы свертывания крови) у крыс и человека различается, что, вероят-

но, связано с количеством факторов свертывания. А механизм образования тромбина (второй фазы свертывания) имеет много общего.

Необходимо отметить, что линейность метода определения АЧТВ лежит в диапазоне от 30 до 300 с. Уровень значений, полученных нами в ходе эксперимента находится в диапазоне от 17 до 22 с. Однако, во всех пробах CV (коэффициент вариации) не превышал 6%, допустимый разброс результатов определения АЧТВ в одной пробе плазмы разными наборами одной серии не превышал 10%, вследствие чего он может использоваться для определения АЧТВ и у крыс. Полученные данные хорошо сочетаются с исследованиями, проведенными в других лабораториях [10].

Оценка фибринолитической активности крови

Для оценки данного звена был выбран тест определения спонтанной фибринолитической активности крови по Fearnley [11] в модификации Андреевко и Серебряковой [1]. Данный тест на крысах воспроизвести не удалось. При работе по стандартной методике, предложенной для измерения у человека, не образовывался сгусток. А при модификации, исключающей использования цитратно - ацетатного буфера, сгусток не растворялся. Поэтому для исследования системы фибринолиза у лабораторных крыс должны быть выбраны другие тесты, например, определение концентрации плазминогена, его активаторов и ингибиторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе эксперимента были определены нормальные критерии для крыс, как наиболее часто используемых лаборатор-

ных животных. Однако необходимо учитывать вариабельность показателей у животных в зависимости от породы, возраста и пола.

Лекарственные препараты могут оказывать влияние на систему гемостаза. Поэтому при проведении доклинических исследований необходимо включать в стандартные схемы показатели свертывающей системы. При этом необходимо учитывать следующие критерии:

- если исследуемое вещество заведомо влияет на систему гемостаза, то предлагается использовать полную схему анализа показателей (определение общего количества тромбоцитов, тест на агрегацию, тромбоцитарные индексы, АЧТВ, ПВ, фибриноген и плазминоген);
- если неизвестно, как вещество влияет на систему гемостаза, предлагается использовать упрощенную схему (общее количество тромбоцитов, АЧТВ). В случае колебаний данных показателей предлагается использовать тесты полной схемы;
- при трактовке результатов обязательно учитывать пол животных.

Следует принять во внимание и то, что в человеческой популяции так же существуют базисные методы диагностики нарушений коагуляции, которые позволяют судить не только о состоянии всей свертывающей системы в целом, но и о возможной недостаточности отдельных факторов свертывания. Дальнейшее уточнение механизмов нарушения коагуляции крови производят с помощью дифференцирующих тестов.

Коммерчески доступные тестовые системы для оценки гемостаза у человека, могут быть использованы у лабораторных животных.

Особый интерес в данном исследовании представляет фибриноген. Стабильность и низкая вариабельность данного показателя дает возможность измерять фибриноген не только как показатель ге-

мостаза, но и как острофазный белок, концентрация которого возрастает при воспалении в 2-5 раз. При этом значения фибриногена, полученные у крыс близки к таковым значениям у человека (1,8 - 3,5 г/л), что позволяет прогнозировать ответные реакции, подтверждая лабораторными методами развитие воспалительных реакций.

Features of homeostasis in rat.

V. Kashkin, A. Sokolova, T. Abrashova, M. Makarova, V. Makarov.

SAMMARY

The purpose of this study was to evaluate the hemostatic system in rats (one of the most common types of laboratory animals), as well as a comparative evaluation of the results obtained with reference books and data from other laboratories .

Research conducted on outbred rats aged 30 days in an amount of 40 males and 40 females.

Experienced all animals was performed blood sampling from the tail vein to assess hemostasis (platelet count, platelet aggregation test with adrenaline , aPTT , PT , fibrinogen test and determination of spontaneous fibrinolytic activity of whole blood) . As an additional criterion of the functional activity of platelets into account such factors as the PCT (platelet crit - Thrombocrit), PDW (platelet distribution width - width of the distribution of platelet volume), MPV (mean platelet volume - mean platelet volume) .

In the experiment were determined criteria for normal rats , as commonly used laboratory animals. However, it must take into account the variability in performance of animals depending on the species , age and sex.

It was also shown that the evaluation indices koagulyatornoy informative capacity of the blood , and should be included in the plan of pre-clinical trials of drugs . Moreover, the particular importance of these data are in the evaluation of drugs used for the

treatment of pathologies associated with hyper / anticoagulation and thrombotic syndrome . Of particular interest in this study is fibrinogen . Stability and low variability of this indicator makes it possible to measure fibrinogen not only as an indicator of hemostasis , but also as an acute phase protein whose concentration increases during inflammation by 2-5 times . The values of fibrinogen obtained in rats are similar to those in human values (1.8 - 3.5 g / l) , which allows to predict responses , confirming laboratory methods development of inflammatory reactions.

Commercial test system (kit) that is used to determine the parameters of homeostasis in humans , can be used in experimental investigations on laboratory animals.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев Г.В., Серебрякова Т.Н. Определение фибринолитической активности цельной крови // Лабораторное дело – 1980 – 4 – с.16–18.
2. Бурячковская Л.И. Гетерогенность тромбоцитов человека и животных. Связь морфологических особенностей с функциональным состоянием // Автореферат. Москва-2007г.
3. Справочник медицинские лабораторные технологии / Под ред. А.И. Карпищенко. – Санкт-Петербург : Интермедика, - 2002. – Т. 2. – 600 с.
4. Клинико-лабораторная диагностика системы гемостаза, принципы и схемы исследования / Под ред Кизилова Н.С. - Новосибирск. – 2007.
5. Кондратьев В.С. Морфологическое и биохимическое исследование крови у животных // Учебное пособие. Ленинград- 1976.
6. Расшифровка клинических лабораторных анализов // К.Хиггинс; пер. с англ.; под ред. проф. В. Л. Эмануэля. - 3-е изд., испр.. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008.-376 с.: ил.
7. Самойлова З.Т., Панченко В.М. Результаты сравнительного изучения свертывающей системы крови и фибринолиза у неинбредных крыс и человека // Москва-1980 г.
8. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А., Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте // Москва. Медицина-1978.
9. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных // Под редакцией Макарова В.Г., Макаровой М.Н. СПб, 2013. 116 с.
10. Garcia-Manzano et al., Standardization of rat blood clotting tests with the reagents used for humans // Proc. West. Pharmacol. Soc. 2001. V.44. p.153-155.
11. Fearnley GR. Spontaneous fibrinolysis // Am J Cardiol. 1960. V. 6. P.371-7.
12. Shen H, Herzog W, Drolet, MA, et al., Aspirin resistance in healthy drug-naïve men versus women (from the Heredity and Phenotype Intervention Heart Study) // Am J Cardiol. 2009. V. 104(4). P. 606–612.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ДИКВЕРТИНА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ ВЫНОСЛИВОСТИ

М.А. Ковалева, А.И. Селезнева, С.В. Гущина, М.Н. Макарова (НПО ДОМ Фармации)

Ключевые слова: диквертин, глюкоза, лактат, частота дыхательных движений, частота сердечных сокращений. **Key words:** *Diquertin, glucose, lactate, respiratory rate, heart rate.*



Изучена возможность применения препаратов на основе диквертина в качестве средств, для повышения мышечной выносливости. Исследование выполнено на 40 крысах-самцах линии Wistar. Животные были распределены на 4 группы в зависимости от вводимого вещества. Исследуемые вещества вводили по профилактической схеме в течение 7-ми дней. Актопротекторную активность веществ оценивали через 30 минут после введения препарата по показателям содержания глюкозы и лактата в периферической крови, по изменению частоты сердечных сокращений, а также частоты дыхательных движений. Спустя час от момента введения препарата животных, помещали в беговое колесо и подвергали динамической нагрузке с использованием двух циклов: стандартная физическая нагрузка в течение 10 минут и дополнительная нагрузка до утомления. После каждой из двух нагрузок проводили определение показателей углеводного обмена в крови, а также оценивали ЧСС и ЧДД.

Необходимо отметить, что биохимические и физиологические показатели у животных во всех экспериментальных группах до введения веществ не отличались от нормальных величин [5].

При оценке влияния диквертина на биохимические показатели было отмечено улучшение переносимости физической нагрузки, которое выражалось в позитивном изменении метаболического профиля.

Установлено, что диквертин оказывает выраженное влияние на энергетический обмен и повышает физическую выносливость млекопитающих. Использование диквертина в комбинации с изолимонной кислотой и кофеином не приводило к увеличению эффекта. Применение данного препарата в качестве актопротектора, позволит повысить эффективность тренировок, и спортивных достижений лошадей без нанесения вреда их здоровью.

ВВЕДЕНИЕ

Впервые конные пробеги в их современном спортивном виде со строгим ветеринарным контролем состоялись в 1955 году, в Америке на турнире "TEVIS Cup". Их отличительной особенностью стал строгий ветеринарный контроль, направленный на сохранение здоровья лошади.

На сегодняшний день достижение высоких спортивных результатов, с помощью использования только тренировоч-

ного процесса, стало практически невозможным, так как в современном спорте физические нагрузки достигли уровня, который трудно преодолеть без фармакологической коррекции, направленной на расширение резервных возможностей организма. Группа фармакологических препаратов, повышающих физическую выносливость, получила название актопротекторы. Под действием актопротекторов повышается содержание гликогена

в мышцах, печени и сердце, возрастает коэффициент полезного действия системы тканевого дыхания.

Особый интерес представляет применение в качестве актопротекторов флавоноидов, в частности диквертина, который обладает иммуностимулирующим, гепатопротекторным, капилляропротекторным действием, а также нормализует реологические свойства крови, микроциркуляцию, вазомоторные реакции кровеносных сосудов, что улучшает кровообращение и снабжение тканей кислородом и глюкозой [1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10].

Также установлено, что препарат уменьшает вязкость крови, улучшает работу сердца, восстанавливает сердечный ритм, оказывает стимулирующее действие на тканевый кровоток, стабилизирует барьерную функцию микрососудов, снижает проницаемость стенок капилляров и, тем самым, способствует снижению застойных явлений в микроциркуляторном русле, что чрезвычайно важно при интенсивных физических нагрузках [3].

Целью нашего исследования явилось изучение возможности применения диквертина и его комбинаций с метаболическим средством (изолимонная кислота) и дыхательным аналептиком (кофеин) в качестве средств повышающих работоспособность и выносливость при интенсивных физических тренировках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования явились препарат Диквертин (ОАО «Диод») с содержанием флавоноида таксифолина не менее 97%, а также изолимонная кислота и кофеин.

В исследовании были использованы 40 крыс-самцов линии Wistar, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово», вес животных к началу эксперимента составил $340,0 \pm 20,0$ г. У всех животных до начала исследования

были оценены исходные параметры: содержание глюкозы и лактата в периферической крови, частота дыхательных движений (ЧДД) и частота сердечных сокращений (ЧСС) в покое.

Животные были распределены на 4 группы в зависимости от вводимого вещества. В группу контроль (n=10) вошли животные, которые получали 1% крахмальную взвесь (плацебо); в группу №2 (n=10) вошли животные, которые получали диквертин в дозе 6,7 мг/кг. В группе №3 (n=10) крысам-самцам вводили диквертин (6,7 мг/кг) с изолимонной кислотой (1,7 мг/кг). В группу №4 (n=10) вошли животные, которые получали комбинацию диквертина (6,7 мг/кг) с кофеином (12,6 мг/кг). Все препараты вводили в 1% крахмальной взвеси.

Исследуемые вещества вводили по профилактической схеме в течение 7-ми дней. Через 30 минут после введения препарата оценивали количество глюкозы и лактата в крови, а так же ЧСС и ЧДД. Спустя час от момента введения препарата животных, помещали в беговое колесо (d=1 м, скорость вращения 30 об/мин, что эквивалентно 5,6 км/час) и подвергали динамической нагрузке с использованием двух циклов: стандартная физическая нагрузка в течение 10 минут и дополнительная нагрузка до утомления (утомлением считался момент отказа от бега – падение животного). После каждой из двух нагрузок проводили определение показателей углеводного обмена (концентрации глюкозы и лактата) в крови, а также оценивали ЧСС и ЧДД.

Для определения содержания глюкозы в крови, отобранной из хвостовой вены, был использован глюкометр OneTouch Horizon («Lifescan», США) с линейным диапазоном измерения 1,1 – 33,3 ммоль/л. Для определения содержания лактата в крови был использован лактометр ACCU-TREND® Lactate («Roche», Германия) с линейным диапазоном измерения 0,8 – 22

ммоль/л. Измерение ЧСС осуществляли на приборе «Поли-спектр – 8/В», с дальнейшей компьютерной обработкой данных. Измерение ЧДД проводили визуально, путем подсчета количества дыхательных движений в минуту.

Статистическую обработку полученных результатов исследований проводили с использованием общепринятых методов параметрической (t-критерий Стьюдента) статистики при помощи пакета статистических программ Statistica 6.0 (Statsoft, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ключевым вопросом адаптации к повышенной физической нагрузке является энергообеспечение мышечных клеток. Образование энергии в клетке складывается из функционирования различных метаболических путей и зависит от обеспеченности клетки субстратами и кислородом. Основные метаболические энергообеспечивающие процессы протекают в цитозоле и митохондриях клетки.

В условиях физической нагрузки у нетренированного организма наблюдается дефицит поступления кислорода в клетку (несоответствие между потребностью тканей в кислороде, частотой дыхания и частотой сердечных сокращений). В

результате, аэробное окисление, протекающее в митохондриях, тормозится, а глюкоза окисляется по анаэробному пути, с накоплением лактата. Лактоацидоз при этом стимулирует усиление ЧСС и ЧДД.

Необходимо отметить, что биохимические и физиологические показатели у животных во всех экспериментальных группах до введения веществ не отличались от нормальных величин [5].

При оценке влияния диквертина (таб. 1 и 2) на биохимические показатели было отмечено улучшение переносимости физической нагрузки, которое выражалось в позитивном изменении метаболического профиля.

Полученные данные позволяют предположить, что диквертин улучшает обеспеченность мышц кислородом, что связано с его влиянием на капиллярный кровоток. С другой стороны, это может быть связано со способностью основного компонента препарата – таксифолина активировать тирозиновые рецепторы инсулина, способствуя поступлению глюкозы в клетку, при этом нарастание поступления в клетку кислорода обеспечивает утилизацию глюкозы в клетке по аэробному пути до CO₂.

При постановке эксперимента мы

Таблица 1
Динамика концентрации глюкозы в цельной крови, 7-ой день исследования, ммоль/л, M±m

Группа	Уровень глюкозы			
	Нулевой уровень	Через 30 мин поступления препарата	После стандартной нагрузки	После дополнительной нагрузки
Контроль, n=10	4,03±0,07	4,05±0,07	5,27±0,16■	4,64±0,12■
Диквертин, n=10	3,85±0,16	4,18±0,24	4,82±0,15■	4,29±0,13■
Диквертин+изолимонная кислота, n=10	4,03±0,09	4,47±0,10●	5,08±0,15■	4,67±0,14■
Диквертин+кофеин, n=10	4,19±0,27	5,08±0,14●■	6,04±0,23●■	4,88±0,24■

Примечание: здесь и далее

- — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой, при p<0.05;
- — различия статистически значимы по сравнению с нулевым уровнем показателя внутри группы, при p<0.05.

Таблица 2

Динамика концентрации лактата в цельной крови,
7-ой день исследования, ммоль/л, М±m

Группа	Уровень лактата			
	Нулевой уровень	Через 30 мин поступления препарата	После стандартной нагрузки	После дополнительной нагрузки
Контроль, n=10	2,04±0,15	2,01±0,14	3,75±0,19■	3,53±0,16■
Диквертин, n=10	2,70±0,14	2,57±0,09	3,32±0,13■	3,23±0,13■
Диквертин+изолимонная кислота, n=10	2,09±0,13	2,46±0,07●	3,25±0,11●■	3,31±0,12●■
Диквертин+кофеин, n=10	2,31±0,08●	2,77±0,07■	4,08±0,15■	4,96±0,21●■

Таблица 3

Динамика частоты сердечных сокращений в минуту,
7-ой день исследования, М±m, ЧСС/мин

Группа	До нагрузки	После дополнительной нагрузки
Контроль, n=10	465±23	497±28
Диквертин, n=10	464±17	484±1,8
Диквертин+изолимонная кислота, n=10	467±20	489±23
Диквертин+кофеин, n=10	481±17	509±26

Таблица 4

Динамика частоты дыхательных движений в минуту,
7-ой день исследования, М±m, ЧДД/мин

Группа	До нагрузки	После дополнительной нагрузки
Контроль, n=10	62±2	84±4■
Диквертин, n=10	65±3	77±5
Диквертин+изолимонная кислота, n=10	68±3	80±2
Диквертин+кофеин, n=10	64±3	92±3■

полагали, что изолимонная кислота будет стимулировать работу цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), одним из субстратов которого она является. Включаясь в ЦТК, изолимонная кислота могла способствовать протеканию метаболизма глюкозы по аэробному типу, тем самым, снижая образование лактата, и потенцируя эффект диквертина. Однако было установлено, что биохимические изменения, в этой группе животных, соответствовали изменениям, наблюдаемым при монотерапии диквертином. Возможно, отсутствие эффекта обусловлено профилактическим

введением изолимонной кислоты, и такая схема поступления метаболита не является приемлемой.

При совместном 7-ми дневном профилактическом применении диквертина и кофеина у экспериментальных животных уровень глюкозы повышался после первого пробега на 44% по сравнению с исходным уровнем, после второго пробега уровень глюкозы несколько снижался на 28 % (+16% по сравнению с исходным уровнем), такое колебание концентрации глюкозы, скорее всего связано со стимулирующим действием кофеина. Во время

стандартной нагрузки происходила мобилизация гликогена, можно предположить, что кофеин достаточно быстро приводит к истощению энергетического депо организма. Так же обращает на себя внимание и статистически значимое увеличение концентрации лактата в периферической крови после дополнительной нагрузки (по отношению к контрольным животным), скорее всего это явление связано с неспособностью кофеина переключать обменные процессы на аэробное окисление.

Оценивая влияние препаратов на динамику ЧСС после физической нагрузки, изменений выявлено не было (табл. 3).

При оценке влияния препаратов на уровень ЧДД (табл. 4) в группе контрольных животных было установлено статистически значимое увеличение показателя на 26% после физической нагрузки. А в группах животных получавших диквертин и смесь диквертина с изолимонной кислотой лишь на 15%. В группе животных, получавших смесь диквертина с кофеином, увлечение ЧДД происходило на 31%, что закономерно связано с прямым стимулирующим действием кофеина на дыхательный центр продолговатого мозга.

Полученные данные свидетельствуют о нецелесообразности введения кофеина в комплексные флавоноидсодержащие препараты для повышения выносливости, так как это будет приводить к быстрому истощению энергетических ресурсов организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая полученные данные, можно сделать вывод о наличии актопротекторных свойств у препарата диквертин и возможности его применения в спортивной практике. Поскольку при профилактическом применении препарата происходило снижение риска развития мышечного утомления, за счет нормализации энергетических процессов.

Комбинация диквертина с изолимонной кислотой и кофеином по своему фармакологическому эффекту не дала дополнительного преимущества.

Применение данного препарата в качестве актопротектора, позволит повысить эффективность тренировок, и спортивных достижений лошадей без нанесения вреда их здоровью.

Prospects of Diquertin to increase physical stamina.

M.A. Kovaleva, A.I. Selezneva, S.V. Gushina, M.N. Makarova.

SAMMARY

The possibility of using drugs based on Diquertin as a means to improve muscular endurance . The study was performed on 40 Wistar male Wistar. Animals were divided into four groups depending on the injectate . The test substances were administered for preventive circuit for 7 days . Active substances actoprotective xerez evaluated 30 minutes after administration of the drug in terms of glucose and lactate in the peripheral blood by the change in heart rate , and respiration rate . After an hour from the time of administration the animals were placed in the running wheel and subjected to dynamic loading using two cycles : the standard physical activity for 10 minutes and the additional burden to fatigue. After each of the two load by determination of carbohydrate metabolism in the blood , as well as heart rate and respiratory rate were evaluated .

It should be noted that the biochemical and physiological parameters in experimental animals in all groups before the administration of substances not differ from the normal values . [5]

In assessing the impact on biochemical indices Diquertin had improvement in exercise tolerance , which was expressed in a positive change in the metabolic profile.

Found that Diquertin has a pronounced effect on energy metabolism and increases physical endurance mammals. Use in combination with Diquertin isocitric acid and caf-

feine did not increase the effect. Use of the drug as actoprotector will enhance the effectiveness of training and sports achievements horses without harming their health.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Александрова А.Е., Макаров В.Г., Зайцева М.А., Макарова М.Н. Антиишемическая активность экстрактов из винограда культурного при экспериментальном инфаркте миокарда // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения – Фитофарм. -2005, 22-25 июня: Матер. IX международного съезда. –Санкт-Петербург, Россия. –2005. –С. 55- 60.
- 2.Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений/ В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комисаренко, С.Е. Дмитрук.-Новосибирск: Наука. Сиб. Отд-ние, 1990. – 333с.
- 3.Колхир В.К., Тюкавкина Н.А., Быков В.А. и др. Диквертин – новое антиоксидантное и капилляропротекторное средство // Хим.-фарм. Журн. 1995. Т. 29, № 9. С. 61-64.
- 4.Макарова М.Н., Макаров В.Г. Молекулярная биология флавоноидов (химия, биохимия, фармакология): Руководство для врачей. СПб., 2010. - 428 с.
- 5.Справочник. "Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных", под ред. Макаровой М.Н., Макарова В.Г., Санкт-Петербург, 2013
- 6.Щегольков А.М., Белякин С.А., Шакула А.В. и др. Медицинская реабилитация больных ишемической болезнью сердца после операции аортокоронарного шунтирования с применением дигидрокверцетина. Вестн. Восстановит. Мед. 2007. – Вып. 3(21) С. 93-96.
- 7.Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C. The effect of plant flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart disease and cancer // Pharmacol. Rev. 2000. Vol. 52. - P. 673-751.
- 8.Pathak D., Pathak K., Singla A.K. Flavon-

- oids as medicinal agents recent advances // Fitoterapia. 1991. Vol. 62, № 5. - P. 371-389
- 9.Tesakova S.V., Makarova M.N., Stolaschuk N.V., Makarov V.G. Capillary-protective activity of combination of ascorbic acid and various flavonoids on a model of endothelial dysfunction // Fhytopharm. 2007. 11th International congress. Book of abstracts. Leiden. Netherlands. 27-30 June 2007. –P. 74.
- 10.Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Makarova M.N., Dorman H.J.D., Makarov V.G. Hiltunen R., Galambosi B. Adaptogenic effect of black and fermented leaves of *Bergenia crassifolia* L. in mice// J. of Functional Foods. -2010. -Vol. 2. -P. 71-76.

К МЕХАНИЗМУ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ПЕЧЕНИ ТРЕСКИ. АНТИЭКССУДАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ. (СООБЩЕНИЙ №1)

Крышень К.Л., Демченко Д.В., Шиков А.Н. Пожарицкая О.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г.
(СПБИФ)

Ключевые слова: каррагениновый воздушный мешочек у крыс, антиэкссудативное действие, печень трески.

Key words: carrageenan air pouch in the rat, antiexudative effects, cod liver



Морские организмы является богатым источником биологически активных соединений, обладающих противовоспалительными свойствами. Целью исследования явилась оценка антиэкссудативных свойств пептидно-фосфолипидного комплекса (ПФК), полученного из печени трески, а также его жирорастворимой и водорастворимой фракций. Для изучения антиэкссудативных свойств использовали классическую модель острого воспаления каррагениновый воздушный мешочек у крыс.

Исследование провели на крысах самцах линии Вистар. Животные были распределены на 7 групп по 10 животных. Воздушный мешочек формировался подкожной инъекцией стерильным шприцом объемом 20 мл, заполненным воздухом, во внутри-капсульную область спины крысы. Эта инъекция воздуха создает воздушный мешочек. Спустя 3 дня вводили 10 мл воздуха в то же место.

Через 6 дней внутрь мешочка вводили 3 мл 0,5% раствора λ -каррагенина для индукции острого воспалительного процесса. ПФК и его фракции вводили внутрь мешочка сразу после введения каррагенина в дозе 0,4 мг/кг. Через 6 часов осуществляли забор экссудата для анализа общего количества лейкоцитов, а также концентрации простагландина PGF 2α . Одним из возможных механизмов снижения антиэкссудативного действия может быть ингибирование синтеза простагландинов. Простагландины обладают широким биологическим действием, участвуют в нормальном гомеостазе, являются ключевыми медиаторами в развитии воспалительного процесса.

Результаты исследования показали, что ПФК и его липидная фракция снижали общее количество лейкоцитов в экссудате, а также уровень PGF 2α равноэффективно. Полученные данные позволяют утверждать, что за антиэкссудативную активность ответственна липидная фракция субстанции ПФК.

ВВЕДЕНИЕ

В мировой практике имеется множество примеров обнаружения и выделения из печени водных организмов различных биологически активных веществ. Так, в печени и других органах японской камбалы *Paralichthys olivaceus* был обнаружен богатый цистеином пептид, проявляющий

высокую антимикробную активность и получивший название гепсидин [9]. В печени атлантического лосося *Salmo salar* найдены и локализованы клетки, вырабатывающие эстроген и ксеноэстроген [6].

В качестве объекта исследования использовали пептидно-фосфолипидный комплекс (ПФК), полученный из печени

трески (*Gadus morrhua* L) по оригинальной технологии в соответствии с патентом РФ 2420213. Липидный комплекс представляет собой уникальную композицию соединений. Аналитические исследования подтверждают, что основными группами соединений в субстанции ПФК являются пептиды, свободные аминокислоты, липиды и минеральные вещества [5].

Ранее показано выраженное противовоспалительное и противоаллергическое действие ветеринарного препарата Афлогилекс, выпускаемого компанией ООО “НПК “Фармасофт” на основе ПФК, применяемого в лечении таких заболеваний как эндометриты и маститы у коров [3, 4], контактный дерматит [1], адьювантный артрит [2].

Целью исследования явилась оценка ангиэкссудативных свойств пептидно-фосфолипидного комплекса, полученного из печени трески, а также его липид-обогащенной, пептид-обогащенной и низкомолекулярных фракций на модели каррагининового воздушного мешочка у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Тестируемые вещества

Для препаративного разделения субстанции ПФК на гидрофильную и гидрофобную фракции образец диспергировали в воде, нерастворившуюся часть отфильтровывали через бумажный фильтр, лиофильно высушивали и получали, таким образом, гидрофобную фракцию (в эксперименте фракция “Липиды” липид-обогащенная). Водный раствор концентрировали и затем лиофильно высушивали, получая, гидрофильную (пептидную) фракцию. Водорастворимую часть разделяли путем последовательного отсеечения компонентов с молекулярным весом более 10 кДа и менее 1 кДа с использованием ультрафильтрации в камере (Amicon-Millipore, США).

Для эксперимента были использованы

три фракции липид-обогащенная “Липиды”, низкомолекулярная водорастворимая фракция “<1 кДа”, пептид-обогащенная фракция “>10 кДа”. В качестве препарата сравнения использовали классический нестероидный противовоспалительный препарат диклофенак (раствор для инъекций 25 мг/мл, Неморфарм, Сербия).

Животные

Крысы-самцы породы Wistar были получены из питомника лабораторных животных “Рапполово”. Масса животных к началу исследования составляла 220-250г. Период акклиматизации составлял 14 дней. Животных в течение всего эксперимента кормили комбикормом ПК-120-1, приготовленным по ГОСТ Р 50258-92. Животные получали воду ad libitum. Световой режим составлял 12 часов света и 12 часов темноты, температура и влажность соответствовала нормам для вивария.

Дизайн исследования

Животные были распределены на 7 групп по 10 животных в каждой в соответствии с планом эксперимента (табл. 1).

За шесть дней до начала лечения крыс помещали в CO₂ камеру до достижения анестезии на 30 секунд. Стерильным шприцом объемом 20 мл, заполненным воздухом, вводили 20 мл воздуха подкожно во внутрикапсульную область спины крысы. Эта инъекция воздуха создает воздушный мешочек. Спустя 3 дня вводили 10 мл воздуха в то же место. Вторая инъекция составляет половину от первоначального объема воздуха и используется, чтобы поддержать целостность воздушного мешочка без увеличения раны.

На 6 день под CO₂ анестезией вызывали воспаление, вводя 5 мл 0,5 % раствора каррагинина непосредственно в мешочек. ПФК и его фракции “Липиды”, “<1 кДа” и “>10 кДа” вводили в дозе 0,4 мг/кг на каждое животное внутрь мешочка. Рас-

Характеристика экспериментальных групп

№ группы	Характеристика групп	Кол-во животных	Доза	Путь введения
1	Интактные (введение п/к физ. раствора) + плацебо (5% ДМСО)	10	0	Внутрь мешочка
2	Контроль (введение п/к каррагинина без лечения) + плацебо (5% ДМСО)	10	0	
3	Введение п/к каррагинина + Диклофенак	10	2 мг/кг	
4	Введение п/к каррагинина + ПФК	10	0,4 мг/кг	
5	Введение п/к каррагинина + ">10 кДа"	10	0,4 мг/мл	
6	Введение п/к каррагинина + "<1 кДа"	10	0,4 мг/кг	
7	Введение п/к каррагинина + "Липиды"	10	0,4 мг/кг	

творителем служил 5% ДМСО. Препарат сравнения Диклофенак вводили внутрь мешочка сразу после инъекции раствора каррагинина в дозе 2 мг/кг.

Спустя 6 часов после инъекции, животное подвергалось эвтаназии ингаляцией CO₂. Для сбора экссудата из воздушного мешочка сразу после эвтаназии вводили физиологический раствор для промывания по 10 мл в воздушный мешочек каждой крысы, используя шприц на 10 мл. Вскрывали воздушный мешочек сагиттальным разрезом поперек мешочка (5 см) и собирали весь объем экссудата в стерильную центрифужную пробирку на 15 мл.

Анализировали клеточный состав экссудата при помощи ветеринарного гематологического анализатора ABACUS UN-IOR VET (Diatron, Австрия).

После центрифугирования в экссудате проводили анализ концентрации простагландина PGF_{2α} с помощью набора для количественного определения методом иммуно-ферментного анализа Prostaglandin F_{2α} EIA kit (Cayman Chemicals, США).

Статистический анализ результатов

Межгрупповые различия анализировали с использованием параметрического критерия Стьюдента. Анализ выполнен для каждой группы отдельно. Различия определяли при 0,05 уровне значимости.

Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения Статистика 6.0 (StatSoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Острое воспаление через 6 часов характеризовалось инфильтрацией лейкоцитов до $13,4 \times 10^6$ кл/мл, 84% которых составляли нейтрофилы (таблица 2).

Препарат сравнения диклофенак в дозе 2 мг/кг статистически значимо подавлял инфильтрацию клеток на 75% до $3,3 \times 10^6$ кл/мл. ПФК в дозе 0,4 мг/кг статистически значимо в сравнении с контролем снижал количество лейкоцитов на 52% до $6,4 \times 10^6$ кл/мл. Статистически значимо и равноэффективно общее количество лейкоцитов снижала липид-содержащая фракция "Липиды". Пептид-содержащая фракция ">10 кДа" и низкомолекулярная фракция "<1 кДа" не повлияли на количество лейкоцитов с учетом отсутствия статистически значимых отличий с контрольной группой. Во всех исследуемых образцах преобладали нейтрофилы, более 80% от всей клеточной популяции.

Учитывая, что простагландины играют ведущую роль в инициации и развитии острого воспалительного процесса, приводя к вазодилатации сосудов и экссудации плазмы, хемотаксису лейкоцитов в зону воспаления, оценивали содержание одного из представителей класса простаг-

Таблица 2
Клеточный состав экссудата через 6 часов после индукции воспаления, $M \pm m$, $n = 10$

Группа	Общее количество лейкоцитов, $\times 10^6$ кл/мл	Лимфоциты, %	Моноциты, %	Нейтрофилы, %
Интактная (без индукции воспаления)	$0,3 \pm 0,1$	55 ± 3	38 ± 2	7 ± 2
Контрольная (плацебо)	$13,4 \pm 0,9^*$	14 ± 3	2 ± 1	84 ± 2
Диклофенак, 2 мг/кг	$3,3 \pm 0,9^* \#$	13 ± 1	3 ± 1	84 ± 1
ПФК, 0,4 мг/кг	$6,4 \pm 1,5^* \#$	17 ± 5	2 ± 1	81 ± 5
Фракция ">10 кДа" пептид-содержащая, 0,4 мг/кг	$16,2 \pm 1,5^*$	10 ± 3	3 ± 1	87 ± 3
Фракция "<1 кДа" низкомолекулярная, 0,4 мг/кг	$9,7 \pm 2,0^*$	17 ± 4	2 ± 1	81 ± 4
Фракция "Липиды", 0,4 мг/кг	$6,1 \pm 0,6^* \#$	12 ± 2	3 ± 1	85 ± 2

Примечание:

1 - * - статистически значимые отличия с интактной группой по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$;

2 - # - статистически значимые отличия с контрольной группой по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

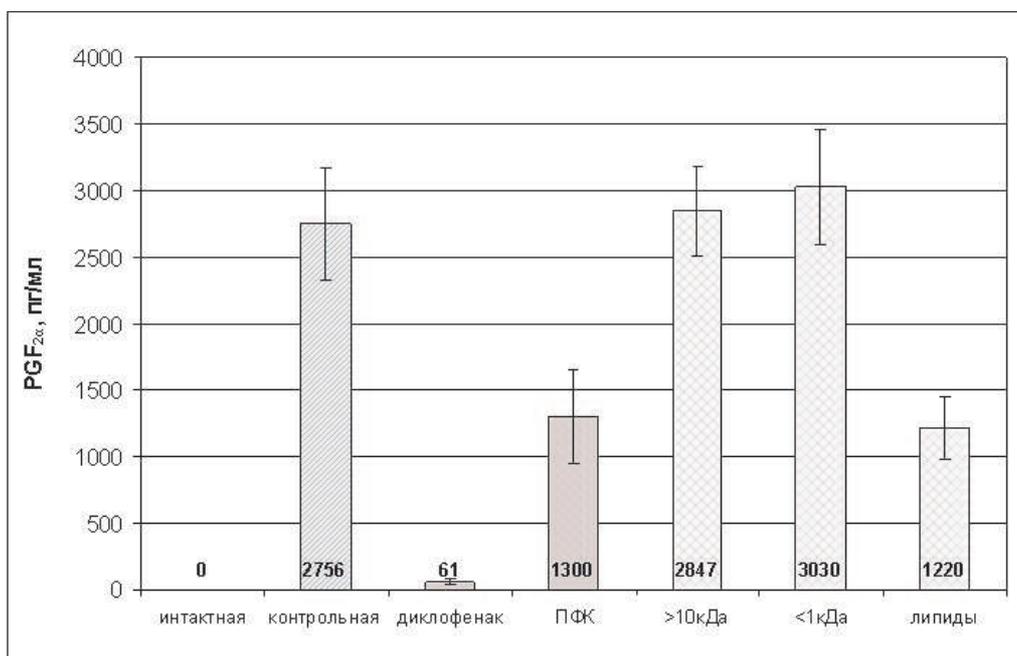


Рис. 1 - Концентрация простагландина F2α через 6 часов после индукции воспаления

Примечание - * - различие статистически значимо в сравнении с контрольной группой по t критерию Стьюдента при $p < 0,05$;

ландинов PGF2 α .

В контрольной группе составила 2756 пг/мл. Препарат сравнения диклофенак, неселективный ингибитор циклооксигеназы, ингибировал выброс PGF2 α практически до нуля, что полностью согласуется с его механизмом действия (рисунок 1).

В дозе 0,4 мг/кг ПФК снижал концентрацию PGF2 α в 2,2 раза по отношению к контролю. При этом, равноэффективно уровень PGF2 α снижала липидная фракция. Пептид-содержащая фракция ">10 кДа" и низкомолекулярная фракция "<1 кДа" не повлияла на концентрацию простагландина PGF2 α .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из возможных механизмов снижения антиэкссудативного действия может быть ингибирование синтеза простагландинов. Простагландины обладают широким биологическим действием, участвуют в нормальном гомеостазе, являются ключевыми медиаторами в развитии воспалительного процесса.

Полученные данные позволяют утверждать, что за антиэкссудативную активность ответственна именно липидная фракция субстанции ПФК. Липиды представляют собой большой класс соединений, практически нерастворимых в воде, к которым относят жиры, фосфолипиды, жирные кислоты и их производные, жирорастворимые витамины, стероидные гормоны и другие.

Из морских организмов получают биоактивные липиды, которые включают в себя жирные кислоты, сфинголипиды, стеролы, диацилглицеролы, дитерпены, сапонины [7]. Хорошо известно, что рыбий жир используют для лечения таких заболеваний как артрит, кожные заболевания и астма [8], а также для профилактики и снижения риска сердечно-сосудистых заболеваний [10].

В настоящее время огромное внимание уделяется новому классу липидных медиаторов, участвующих в завершении

воспалительного процесса. К ним относятся липоксины, резолвины и протектины, которые являются продуктом метаболизма ω -3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). ω -3 ПНЖК, такие как эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислоты, являются конкурентными субстратами для фермента ЦОГ2 и 5-липооксигеназы (5-ЛОГ), способствуют снижению синтеза провоспалительных простагландинов из арахидоновой ω -6 ПНЖК кислоты и активному синтезу противовоспалительных медиаторов [11]. По результатам аналитических исследований известно, что исследуемая субстанция ПФК содержит фосфолипиды, главным образом, фосфатидилхолин содержащий в своем составе остатки эйкозапентаеновой жирной кислоты [5].

Таким образом, на модели каррагенинового воздушного мешочка у крыс был изучен антиэкссудативный механизм ПФК, полученного из печени трески. Доказано, что данный фармакологический эффект связан с липидной составляющей комплекса.

Последние достижения липидомии дают основание предположить, что антиэкссудативный эффект объясняется торможением синтеза PGF2 α ферментом ЦОГ2 ω -3 ПНЖК, содержащимися в липидной фракции ПФК. Проведение дальнейших исследований по изучению взаимодействия с ферментами ЦОГ2 и 5-ЛОГ имеет большое значение в изучении молекулярных механизмов противовоспалительного действия ПФК.

To anti-inflammatory mechanisms of complex derived from the Cod liver. Carrageenan air pouch model in the rat.

K.L. Kryshen, D.V. Demchenko, O.N. Pozharitskaya, M.N. Makarova.

SAMMARY

Marine organisms are a rich source of biologically active compounds possessing anti-inflammatory properties. Aim of this study was to evaluate the anti-exudative

properties peptide- phospholipid complex (PFC) derived from cod liver oil, as well as its fat-soluble and water-soluble fractions. To study the anti-exudative properties using the classical model of acute inflammation carrageenan air pouch in rats.

Study was conducted in male Wistar rats . Animals were divided into 7 groups of 10 animals . Air bag formed by subcutaneous injection of sterile 20 ml syringe filled with air, the intracapsular area back in the rat. This injection of air creates an air bag. After 3 days, 10 ml of air was injected in the same place.

After 6 days the bag was introduced into 3 ml of a 0.5 % solution of λ - carrageenan to induce an acute inflammatory process. PFC and its fractions was injected into the pouch after carrageenan administration in the dose of 0.4 mg / kg. After 6 hours, collected the fluid for analysis of the total number of leukocytes as well as the concentration of prostaglandin PGF2 α . One of the possible mechanisms to reduce the anti-exudative action may be inhibition of prostaglandin synthesis . Prostaglandins exhibit a broad biological activity , are involved in normal homeostasis , is a key mediator in the development of the inflammatory process.

The results showed that the PFC and its lipid fraction reduced the total number of leukocytes in the exudate , as well as the level of PGF2 α EQUALLY . The data obtained suggest that the activity is responsible for antiexudativ lipid fraction of PFC substances.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крышень К.Л., Демченко Д.В., Рыбакова А.В., Дадали В.А., Рыдловская А.В., Пожарицкая О.Н., Макарова М.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г. Оценка противоаллергенных свойств нового полипептидного препарата из печени тресковых // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. 2012. № 2. С. 38-42.
2. Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Соколов В.Д. Изучение противовоспалительной

активности нового ветеринарного препарата афлогилекс на модели экспериментального адьювантного артрита // Международный вестник ветеринарии. 2012. №1. С. 39-43.

3. Рыбакова А.В., Демченко Д.В., Макарова М.Н., Пожарицкая О.Н., Шиков А.Н., Макаров В.Г., Забозлаев А.А., Романов М.Г. Применение Афлогилекса для лечения коров с маститами различной этиологии // Ветеринария. 2012. № 1. С. 35-38.

4. Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Макарова М.Н., Соколов В.Д. Сравнительная оценка эффективности полипептидного препарата при эндометритах коров // Международный вестник ветеринарии. 2012. № 4. С. 38-41.

5. Шиков А.Н., Пожарицкая О.Н., Уракова И.Н., Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Макаров, В.Г. Новые технологии переработки гидробионтов // Фармацевтические и медицинские биотехнологии. Биотехнология: состояние и перспективы развития. Москва, Россия. 2012. С. 385.

6. Arukwe A., Grotmol T., Haugen T. Fish model for assessing the in vivo estrogenic potency of the mycotoxin zearalenone and its metabolites // Sci. Total Environ. 1999. Vol.236(1-3). P.153-161.

7. Bhakuni D.S., Rawat D.S. Bioactive marine natural products // Springer: N.-Y. and Anamaya Publishers: N.-Delhi. –2005.

8. Calder P. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity: pouring oil on troubled waters or another fishy tale // Nutr. Res. 2001. Vol.21. P.309–341.

9. Hirono I., Hwang J., Ono Y. Two different types of hepcidins from the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* // FEBS J. - 2005. - Vol. 272(20). - P.5257-5264.

10. Paganelli F., Maixent J., Duran M., Parhizgar R., Pieroni G., Sennoune S. Altered erythrocyte n-3 fatty acids in Mediter-

ranean patients with coronary artery disease // Int. J. Cardiol. - 2001. - Vol. 78. - P.27-32.
11. Serhan C. Resolution phase of inflamma-

tion: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways // Annu. Rev. Immunol. - 2007. - Vol.25. - P.101-137.

УДК: 616.24-002:616-08:615:599

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛИРОВАНИЮ ЛПС ИНДУЦИРОВАННОЙ ОСТРОЙ ПНЕВМОНИИ У КРЫС. СООБЩЕНИЕ №1

А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова, В.Д. Соколов, К.Л. Крышень, С.В. Ходько, В.Г. Макаров (СПБИФ)

Ключевые слова: специфическая активность, крысы линии Вистар, липополисахарид, острая пневмония. **Keywords:** specific activity, Wistar rats, lipopolysaccharide, acute pneumonia.



Изучение специфической фармакологической активности препаратов на моделях заболеваний верхних и нижних дыхательных путей, на сегодняшний день является актуальным вопросом. Доклинические исследования специфической активности многих противовоспалительных препаратов необходимо проводить на модели экспериментальной острой пневмонии, при помощи введения липополисахарида интрахеально. ЛПС, один из наиболее часто используемых агентов при моделировании заболеваний легких, – гликолипид, являющийся основным компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий, обеспечивает структурную целостность бактериальной клетки и защитит мембрану от агрессивных воздействий окружающей среды. Для такого рода исследований используют крыс-самок линии Вистар. В результате исследования регистрировали следующие параметры: оценка клеточного состава бронхолегочного лаважа, исследование С-реактивного белка, гематологических показателей: общее количество лейкоцитов, подсчет лейкоцитарной формулы (лимфоциты, моноциты, эозинофилы, гранулоциты), определения СОЭ, гистология и морфология. В результате инстиляции раствора ЛПС в легкие у животных наблюдаются патологические сдвиги, характерные для реакции острого воспаления: лейкоцитоз с преобладанием нейтрофильного звена и со «сдвигом формулы влево», повышение С-реактивного белка плазмы крови, увеличение количества лейкоцитов (преимущественно за счет нейтрофилов) в бронхоальвеолярном лаваже. Также в бронхоальвеолярном лаваже наблюдается увеличение уровня общего белка и альбуминов, количества провоспалительных цитокинов. Повышение уровня последних также наблюдается и в крови. Интратрахеальное введение ЛПС вызывает мощную воспалительную реакцию различных отделов нижних дыхательных путей. Начальные стадии (24 часа) воспаления соответствуют острому бронхоолиту и острому бронхиту с характерными признаками: наличием экссудата с клеточным компонентом внутри воздухопроводящих путей, а также инфильтратом перибронхиолярной и перибронхиальной областей. В дальнейшем (24-72 часа) воспаление быстро прогрессировало и перерастало в острую пневмонию различной степени тяжести: от мелкоочаговой до крупноочаговой сливной пневмонии с распадом.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение специфической фармакологической активности препаратов на моделях заболеваний верхних и нижних дыхательных путей, на сегодняшний день является актуальным вопросом, так как болезни органов дыхания являются одним из наиболее встречающимися [4].

Одной из наиболее частых причин развития заболеваний дыхательных путей и легких, являются острые респираторные вирусные и бактериальные инфекции. Пневмонии могут быть как самостоятельными заболеваниями, так и вторичными. Наиболее частыми возбудителями вторичных пневмоний являются *H. Influenza*, *S. Pneumonia*, *St. Aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter*, and *Stenotrophomonas* [7]. Избыточный иммунный ответ, направленный на борьбу с вирусами, а также присоединившимися бактериями может сам явиться причиной повреждения легких, еще более усугубляя течение заболевания [3]. Для терапии показано использование противовирусных средств, антибиотиков или других химиотерапевтических препаратов. Задачей современной фармакологии является разработка фармакологических препаратов, обладающих противовирусным (или антибактериальным) в сочетании с умеренным противовоспалительным или иммуномодулирующим действием [8].

Доклинические исследования специфической активности таких препаратов необходимо проводить на моделях острого бронхита, пневмонии, острого респираторного дистресс синдрома, фиброза, хронической обструктивной болезни легких и другого рода патологии, воспроизводящей основные патогенетические черты воспаления легких независимо от типа возбудителя [10]. К таким способам относятся введение липополисахарида, каррагинина, использование курительных машин для моделирования острого или хро-

нического бронхита, основанных на вдыхании животными сигаретного дыма, длительное вдыхание чистого кислорода, введение различных кислот в легкие и др. [6].

В данной работе представлен наш опыт в моделировании острой небактериальной пневмонии на лабораторных грызунах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Индукция пневмонии проводится путем введения липополисахарида интратрахеально. ЛПС, один из наиболее часто используемых агентов при моделировании заболеваний легких, – гликолипид, являющийся основным компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий, обеспечивает структурную целостность бактериальной клетки и защищает мембрану от агрессивных воздействий окружающей среды [9]. Структура ЛПС включает 3 ковалентно-связанных компонента: липид А, центральный олигосахарид и О-антиген. Липид А – полярный липид, состоящий из дисахарида с несколькими соединёнными цепями гидроксимиристиновой жирной кислоты, который «заякоривает» молекулу ЛПС в бактериальной мембране. После разрушения бактериальной клетки липид А высвобождается в кровь и может вызывать тяжёлые токсические последствия вплоть до септического шока. Центральный олигосахарид состоит из кетодезоксиоктулозоната и гептозы, служит молекулярным мостиком и соединяет липид А с О-антигеном. Он является эндотоксином и при высвобождении в кровь, также, как и липид А, может вызывать явление интоксикации вплоть до септического шока, хотя и в меньшей степени, чем липид А. О-антиген представляет собой полисахаридные цепи, которые соединены с центральным олигосахаридом. Эта часть ЛПС экспонирована в окружающую среду. Состав О-антигена варьирует в зависимости от штамма бактерии. Эта часть

ЛПС является наиболее иммуногенной и легко распознаётся иммунной системой хозяина. Большая часть биологических эффектов липополисахарида воспроизводится за счет липида А [1].

ЛПС, присоединяясь к CD14/TLR4/MD2-рецепторному комплексу на поверхности клеток системы мононуклеарных фагоцитов, вызывает секрецию провоспалительных медиаторов, в том числе фактор некроза опухоли (TNF-alpha), интерлейкина 1 (IL-1), и других, и тем самым запускает неспецифический каскад воспалительных реакций. В связи с этим, ЛПС используется в качестве экспериментального агента в фармакологии как для изучения механизмов воспаления, так и для разработки и апробации новых фармакологических средств, направленных на подавление различных звеньев воспалительного каскада. При этом в зависимости от дозы, пути и способа введения ЛПС можно моделировать разные виды легочной патологии, наиболее распространенными из которых являются острое повреждение легких (модель острой пневмонии), острый респираторный дистресс синдром (ОРДС), фиброз легкого [5].

Процедура моделирования острой пневмонии подразумевает под собой инстилляцию раствора ЛПС в трахею с его последующим проникновением в нижние дыхательные пути и альвеолы, и развитием воспалительного процесса в легких, механизм которого описан выше. Она должна осуществляться одним человеком для всех животных в один промежуток времени для всех исследуемых групп. Лучше всего использовать крыс в качестве экспериментальных животных, поскольку из грызунов они являются наиболее удобным объектом для манипуляций. По множеству литературных данных для такого рода исследований рекомендуется использовать крыс-самок линии Вистар [2].

В качестве препаратов сравнения ис-

пользуются стандартные противовоспалительные препараты для патогенетического лечения пневмонии: НПВС (ибупрофен, диклофенак, мелоксикам и др.), а также глюкокортикоиды (гидрокортизон, дексаметазон).

Этапы моделирования:

Наркоз. Необходимо тщательно подбирать наркоз для малых хирургических операций на животных с целью быстрого наступления анестезии, максимально выраженного анальгетического эффекта, с минимальным подавлением дыхательного центра и миорелаксации с минимальным угнетением дыхания. Несмотря на возможность спазма мышц глотки дополнительно использовать миорелаксанты не следует во избежание остановки дыхания. Одним из наиболее удобных для подобных манипуляций является Золетил, содержащий общий анестетик диссоциативного действия Тилетамин и анксиолитик бензодиазепинового ряда Золазепам. Для крыс Золетил может использоваться в дозах 1,3 мг/кг при внутривенном введении или 2,6 мг/кг при внутримышечном. При необходимости во время манипуляций можно делать дополнительные инъекции Золетила.

Введение трахеального зонда в трахею. Данную манипуляцию можно проводить двумя путями: операционным и безоперационным. В первом случае необходимо сделать разрез кожи в области шеи по средней линии, тупым способом отодвинуть, а где нужно отсепарировать мышцы шеи, не повредив проходящие рядом сосуды и нервы. Выделить трахею и сделать в ней надрез на 1/4- 1/3 ее диаметра, а после инстилляции ЛПС ушить трахею и послойно ушить ранее разрезанные или отсепарированные ткани. Безоперационный способ инстилляции ЛПС через интубированный в трахею зонд требует большого мастерства исследователя и предварительного обучения этому навыку, однако обладает рядом преимуществ.

ществ. В частности, снижение травматизации животных путем исключения операционной раны, уменьшение времени манипуляции, снижение количества животных за счет исключения группы ложнооперированных. Основным недостатком интубации является отсутствие четкой верификации правильности введения зонда и исключения его введения в пищевод. Для проверки правильности эндотрахеального введения нужно непосредственно после введения зонда присоединить к нему шприц 5-10 см³ и сделать несколько плавных механических движений поршнем, положив палец другой руки на грудную клетку. При верном попадании будет происходить поднятие грудной клетки параллельно с движением поршня, при неверном – нагнетание воздуха в желудок, что будет видно по увеличению брюшной полости. Еще одним критерием правильного попадания может служить временная остановка или изменение ритма дыхания при начальном проникновении зонда в гортань.

Инстилляція ліпополісахаріда. Количество ЛПС зависит от фирмы-производителя, от партии, условий хранения и доставки и определяется опытным путем при проведении пилотных экспериментов. Для достижения необходимой степени воспаления в легких доза может варьировать в пределах 0,4-2 мг/кг, растворенная в 0,2-0,4 мл физиологического раствора. Снижение количества ЛПС может привести к отсутствию эффекта, увеличение – к гиперреакции организма с возможным последующим развитием геморрагической пневмонии, острого респираторного дистресс синдрома и гибели животного. Имеет значение количество вводимой в трахею жидкости, в которой растворен ЛПС, поскольку большой объем может привести к смерти, а слишком маленький – к неравномерному распределению ЛПС в дыхательных путях.

Искусственное нагнетание воздуха в

легкие с использованием шприца 5-10 см³ с целью имитации вдоха/выдоха и более полного и глубокого проникновения ЛПС в легкие.

Извлечение зонда. Зонд нужно извлекать плавным медленным движением с целью исключения травматизации трахеи и гортани.

Визуальный контроль состояния животного в течение 2-х часов. При наступлении смерти в данный промежуток времени нужно считать это осложнением введения/извлечения зонда и не учитывать таких животных при анализе результатов.

В результате исследования регистрируются следующие параметры: оценка клеточного состава бронхолегочного лаважа, исследование С-реактивного белка, гематологических показателей: общее количество лейкоцитов, подсчет лейкоцитарной формулы (лимфоциты, моноциты, эозинофилы, гранулоциты), определения СОЭ, гистология и морфология.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При успешном проведении инстилляций раствора ЛПС в легкие у животных наблюдаются патологические сдвиги, характерные для реакции острого воспаления: лейкоцитоз с преобладанием нейтрофильного звена и со «сдвигом формулы влево», повышение С-реактивного белка плазмы крови, увеличение количества лейкоцитов (преимущественно за счет нейтрофилов) в бронхоальвеолярном лаваже. Также в бронхоальвеолярном лаваже наблюдается увеличение уровня общего белка и альбуминов, количества провоспалительных цитокинов. Повышение уровня последних также может наблюдаться и в крови.

Морфологические изменения в легких животных на разных сроках от начала введения ЛПС характеризуются воспалительным процессом с различной степенью выраженности и отчетливой тенденцией к прогрессированию в динамике.

Основным патоморфологическим явлением на начальных стадиях является наличие перибронхиальной и бронхиальной инфильтрации средних и мелких бронхов, а также бронхиол, что позволяет установить наличие бронхита и бронхиолита у данных животных, в то же время у них развивается интерстициальный отек с инфильтрацией и утолщением межальвеолярных перегородок, расширением и полнокровием сосудов. Инфильтрат обычно представлен нейтрофилами, реже лимфоцитами и макрофагами. В дальнейшем наблюдаются признаки усиления воспалительного процесса, проявляющиеся в основном повреждением не только и не столько воздухопроводящей части, сколько повреждением альвеол с увеличением степени интерстициальной инфильтрации и площади альвеолярной инфильтрации, занимающей порой до 30% всего среза легкого. Инфильтраты могут быть диссеминированы по всему срезу в виде мелких очагов или сливаться в крупные очаги с распадом, что свидетельствует о переходе воспаления в более тяжелую стадию повреждения легких и позволяет констатировать наличие мелко-, средне- или крупноочаговой пневмонии. Кроме того, может наблюдаться формирование крупных очагов сливной пневмонии с распадом как вокруг бронхов и бронхиол, так и на расстоянии от них, занимая в некоторых случаях до 50% всего среза легкого.

Патоморфологические изменения в легких оцениваются по выраженности интерстициального отека и инфильтрации, альвеолярной инфильтрации, расширения и полнокровия сосудов, перибронхиальной и перивазальной инфильтрации. При этом она может быть учтена полуколичественным методом в баллах или в % поврежденной части от неповрежденной. Гистологическая картина внутренних отделов дыхательных путей экспериментальных животных характеризуется вос-

палительными процессами в различной степени выраженности с отчетливой тенденцией к их прогрессированию в динамике. Основным патоморфологическим явлением на первые 24 часа (рис. 1,2) является перибронхиальная и бронхиальная инфильтрация средних и мелких бронхов, а также бронхиол, что позволяет установить наличие бронхита и бронхиолита у данных животных (рис. 3, 4, 5). Также у данных животных на 1-е сутки был выражен интерстициальный отек с инфильтрацией и утолщением межальвеолярных перегородок (рис. 3, 4). В некоторых случаях наблюдалась выраженная альвеолярная инфильтрация, расширение и полнокровие сосудов, диapedез эритро-

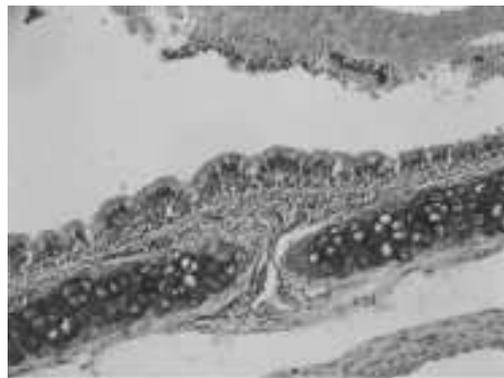


Рис. 1. Крыса интактной группы. Бронх. Окраска альциановым синим. Увеличение 200.

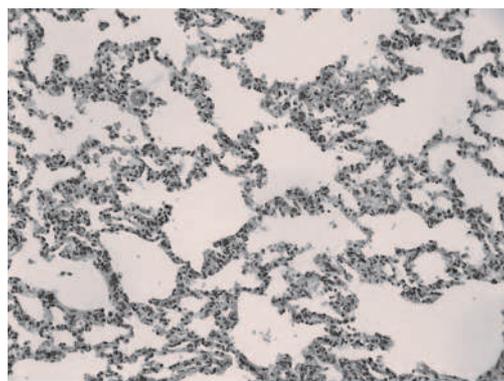


Рис. 2. Крыса интактной группы. Легкое. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200.

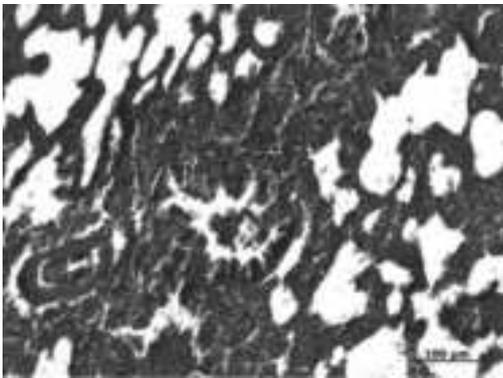


Рис. 3. Срез легких контрольных животных через 24 часа после введения ЛПС.

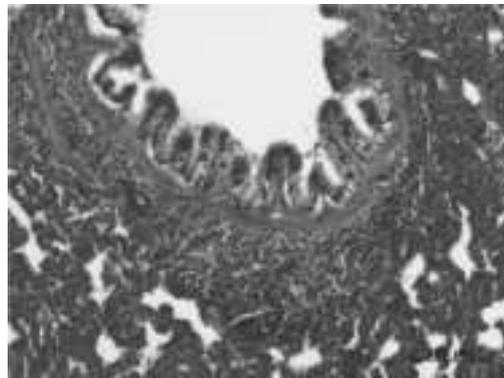


Рис. 6. Срез легких контрольных животных через 24 часа после введения ЛПС.

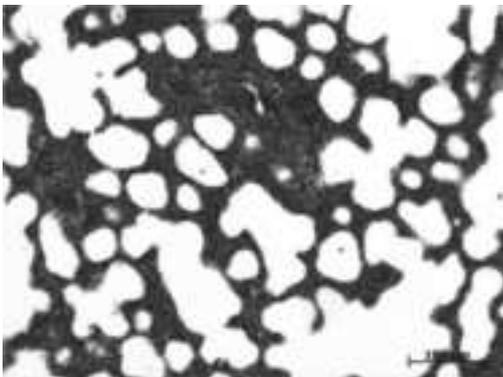


Рис. 4. Срез легких контрольных животных через 24 часа после введения ЛПС.

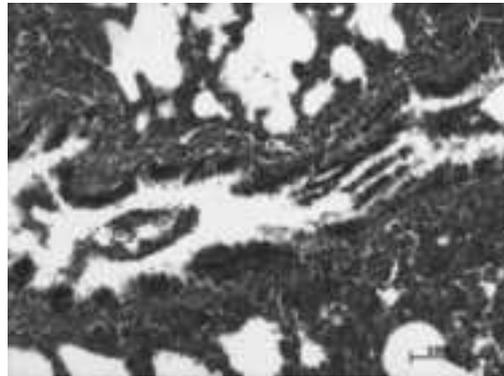


Рис. 7. Срез легких контрольных животных через 24 часа после введения ЛПС.

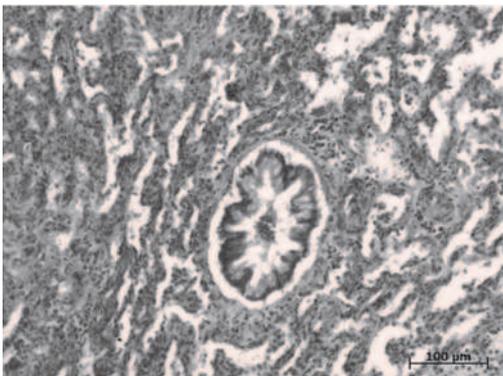


Рис. 5. Срез легких контрольных животных через 24 часа после введения ЛПС.

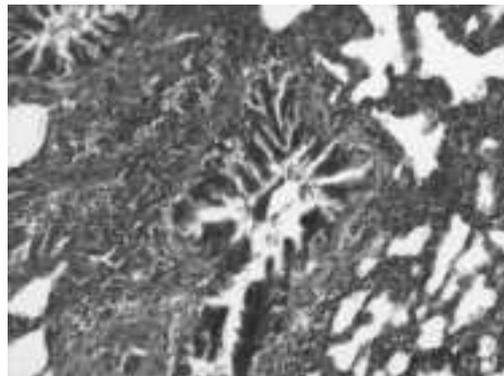


Рис. 8. Срез легких контрольных животных через 24 часа после введения ЛПС.

цитов и геморрагии (рис. 6,7). Также усиливалась перибронхиальная инфильтрация вокруг главных бронхов. Инфильтрат

был представлен в основном нейтрофилами, реже лимфоцитами и макрофагами (рис. 8,9).

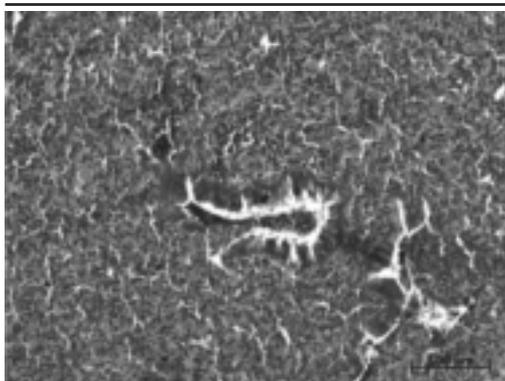


Рис. 9. Срез легких контрольных животных через 48 часов после введения ЛПС.

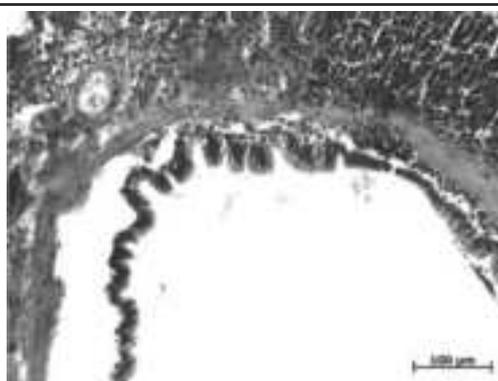


Рис. 12. Срез легких контрольных животных через 48 часов после введения ЛПС.

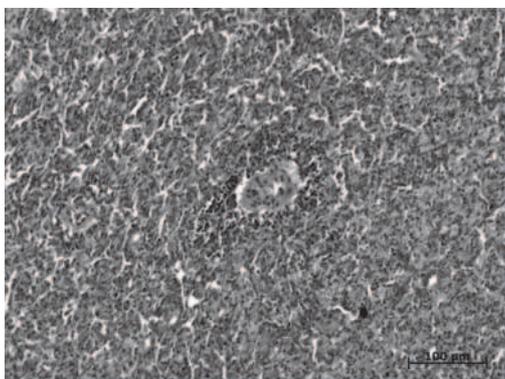


Рис. 10. Срез легких контрольных животных через 48 часов после введения ЛПС.

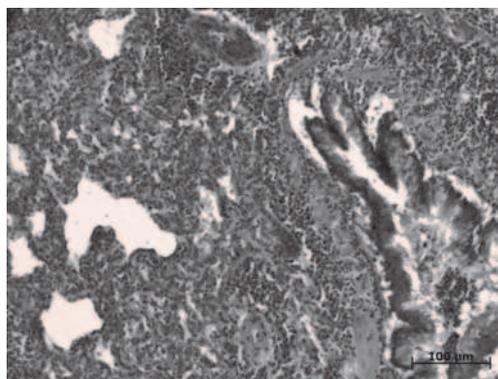


Рис. 13. Срез легких контрольных животных через 72 часа после введения ЛПС.

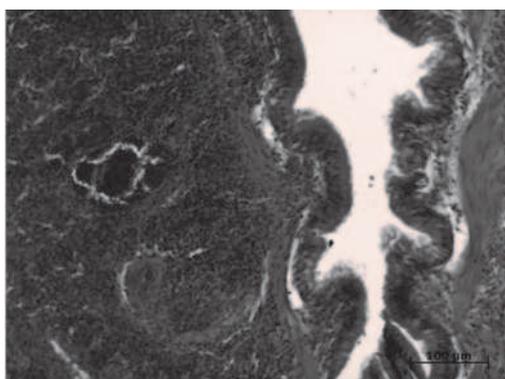


Рис. 11. Срез легких контрольных животных через 48 часов после введения ЛПС.

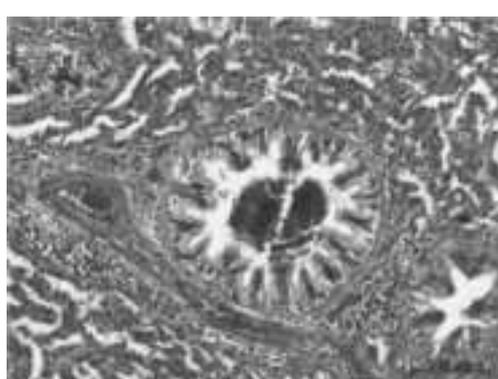


Рис. 14. Срез легких контрольных животных через 72 часа после введения ЛПС.

На вторые сутки после индукции острой пневмонии наблюдались признаки усиления воспалительного процесса, про-

являющиеся в основном повреждением не только и не столько воздухопроводящей части (рис. 9, 10), сколько повреждением

альвеол. Так, выявлена большая степень интерстициальной инфильтрации, приводящая к снижению общей площади дыхательной поверхности. Кроме того значительно увеличилась площадь альвеолярной инфильтрации, занимая порой до 30% всего среза легкого. При этом у разных животных такие инфильтраты были выражены по-разному. В некоторых случаях они были диссеминированы по всему срезу в виде мелких очагов, тогда как в других сливались в крупные очаги с распадом (рис. 11, 12). Эти процессы свидетельствуют о переходе воспаления в более тяжелую стадию повреждения легких.

Через 72 часа после введения ЛПС гистологическая картина характеризовалась еще большим повреждением респираторной части с формированием крупных очагов сливной пневмонии как вокруг бронхов и бронхиол, так и на расстоянии от них, занимая в некоторых случаях до 50% всего среза легкого, резко снижая площадь дыхательной поверхности. Динамика изменений в легких после введения ЛПС, выраженная полуколичественно (выраженность интерстициального отека в баллах) или в процентном соотношении поврежденной части среза легкого, представлена на рис. 13, 14.

При оценке общего количества и характера клеточного состава БАЛ интактных животных отмечается, наличие клеток иммунной системы поскольку легкие и находящиеся в их составе бронхи помимо дыхательной функции имеют еще и иммунную, находясь на границе раздела внутренней среды организма с внешней средой. Клеточный состав при этом смещен в сторону лимфоцитарно-макрофагального звена (таб. 1, 2).

На *первые сутки* после индукции острой пневмонии в контроле наблюдается мощная бронхоальвеолярная инфильтрация, превышающая таковую у интактных животных, примерно, в 10 раз и составляющая $233,4 \pm 57,4 * 10^5$ кл/мл. с преобла-

Таблица 1

Динамика изменения клеточного состава БАЛ при индукции острой пневмонии (* 10^5 кл/мл)

Группы	Лейкоцитарная формула бронхоальвеолярного лаважжа											
	1-е сутки				2-е сутки				3-и сутки			
	Нейтр.	Макроф.	Лимфоц.	Нейтр.	Макроф.	Лимфоц.	Нейтр.	Макроф.	Лимфоц.	Нейтр.	Макроф.	Лимфоц.
Инт-ая	7,068±0,9	4,56±0,6	11,17±1,5	7,068±0,9	4,56±0,6	11,17±1,5	7,068±0,9	4,56±0,6	11,17±1,5	7,068±0,9	4,56±0,6	11,17±1,5
Кон-ая	107,8±26,5*	86,82±21,3*	38,98±9,6*	85,43±20,7*	91,44±22,2*	54,03±13,*	156,5±28*	113,28±20,3*	84,25±15,1*			

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с интактной группой при $P < 0,05$

Таблица 4

Динамика изменения общего количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы в крови при индукции острой пневмонии (клет. $\cdot 10^5$ кл./л)

Группы	1-е сутки			2-е сутки			3-и сутки			
	Лейк.	Лимф.	Мон.	Лейк.	Лимф.	Мон.	Лейк.	Лимф.	Мон.	Гран.
Инт-ая	3,1 \pm 0,3	2,1 \pm 0,2	0,2 \pm 0,2	3,1 \pm 0,3	2,1 \pm 0,2	0,2 \pm 0,2	3,1 \pm 0,3	2,1 \pm 0,2	0,2 \pm 0,2	0,9 \pm 0,2
Кон-ая	8,6 \pm 1,5*	6,2 \pm 0,7*	1,47 \pm 0,	7,6 \pm 1,5*	5,1 \pm 0,7*	0,9 \pm 0,4	5,1 \pm 0,4*	4,5 \pm 0,3*	0,5 \pm 0,2	1,8 \pm 0,4*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с интактной группой при P<0,05

Таблица 2

Динамика изменения клеточного состава БАЛ при индукции острой пневмонии (* 10^5 кл./мл)

Группы	Общее количество лейкоцитов		
	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки
Интактная	22,8 \pm 3	22,8 \pm 3	22,8 \pm 3
Контрольная	233,4 \pm 57,4*	230,9 \pm 56*	354 \pm 63,3*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с интактной группой при P<0,05

Таблица 3

Динамика изменения СРБ при индукции острой пневмонии (мг/л) - макрофагального звена, что соответствует первой стадии воспаления. СРБ в сыворотке крови и в периферической крови являются первыми индикаторами воспаления и в первую очередь реагируют на изменения в очаге воспаления.

Группы	СРБ, мг/л		
	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки
Интактная	40,8 \pm 4	40,8 \pm 4	40,8 \pm 4
Контрольная	37,8 \pm 2,8*	42,5 \pm 2,7*	41,2 \pm 1,7*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с интактной группой при P<0,05

Таблица 5

Динамика изменения СОЭ при индукции острой пневмонии (мм/час)

Группы	СОЭ, мм/час		
	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки
Интактная	2,8 \pm 0,3	2,8 \pm 0,3	2,8 \pm 0,3
Контроль-ная	12,8 \pm 0,4*	14,5 \pm 1,0*	10,3 \pm 0,5*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с интактной группой при P<0,05

возрастает, клеточный состав, однако, значимо при этом не изменяется, что может свидетельствовать об остро протекающем процессе во все дни исследования.

При измерении С-реактивного белка в плазме крови контрольных животных наблюдалось стойкое повышение СРБ по сравнению с интактными таб.3, что свидетельствует о развитии общего ответа на воздействие патогенного фактора ЛПС.

У контрольных животных в результате индукции острой пневмонии наблюдался выраженный лейкоцитоз по сравнению с интактными крысами, начиная с 24 часов, продолжающийся до 48 часов. Однако через 72 часа после индукции острой пневмонии количество лейкоцитов сни-

жается, приближаясь к таковому у интактных. Данный лейкоцитоз обусловлен в основном лимфоцитозом и гранулоцитозом, в меньшей степени моноцитозом, что соответствует картине острого бактериального воспаления. Снижение же на 72 час обусловлено снижением количества гранулоцитов при сохранено повышенном уровне лимфоцитов (таб. 4).

Изменение скорости оседания эритроцитов у контрольных животных имело стойкий характер повышения на всех сроках, достоверно увеличивалось в сравнении с интактными показателями, с небольшой тенденцией снижения к 72 часам (таб. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интратрахеальное введение ЛПС вызывает мощную воспалительную реакцию различных отделов нижних дыхательных путей. Начальные стадии (24 часа) воспаления соответствуют острому бронхолиту и острому бронхиту с характерными признаками: наличием экссудата с клеточным компонентом (нейтрофилами, макрофагами и лимфоцитами) внутри воздухопроводящих путей, а также инфильтратом перибронхиолярной и перибронхиальной областей. В дальнейшем (24-72 часа) воспаление быстро прогрессировало и перерастало в острую пневмонию различной степени тяжести: от мелкоочаговой до крупноочаговой сливной пневмонии с распадом. ЛПС-индуцированное повреждение легких вызывало как системную, так и местную реакции, проявляющиеся лейкоцитозом с изменением формулы крови, повышением С-реактивного белка и СОЭ, интерстициальным отеком, альвеолярной инфильтрацией, изменением клеточного состава бронхоальвеолярного лаважа, что имело быть положено в основу оценки степени тяжести протекания заболевания и влияния на нее исследуемых препаратов.

В течение эксперимента может наблюдаться единичная гибель во всех

группах животных, не имеющая статистически значимых различий. На вскрытии таких животных чаще всего обнаруживались мощные воспалительно-инфильтративные процессы в легких, соответствующие картине острого респираторного дистресс-синдрома с повреждением альвеолоцитов, интерстициальной и альвеолярной инфильтрацией, выраженным диапедезом эритроцитов, интерстициальными гемorragиями, интерстициальным и альвеолярным отеком легких, формированием «гиалиновых» мембран. Гибель определенного числа животных в данной модели закономерна, поскольку тяжелая пневмония может вызвать описанные изменения, являющиеся причиной смерти больных бронхо-легочной патологией вирусной, бактериальной или асептической этиологии. Предложенная модель может быть рекомендована при изучении новых нестероидных противовоспалительных препаратов, глюкокортикоидов, антибиотиков.

Guidelines for: Experimental modeling of LPS induced acute PNEUMONIA IN RATS. number 1.

A.V. Rybakova, M.N. Makarova, V.D. Sokolov, K.L. Kryshen, S.V. Khodko, V.G. Makarov.

SAMMARY

Study of specific pharmacological activity of drugs in models of upper and lower respiratory tract, today is a topical issue. Preclinical studies of the specific activity of many anti-inflammatory drugs should be carried out on an experimental model of acute pneumonia, using LPS injection intratracheally. LPS, one of the most commonly used agents for modeling lung disease - a glycolipid, a key component of the cell wall of Gram-negative bacteria, provides structural integrity of the bacterial cell membrane and being protected from the corrosive effects of the environment. For such studies using female rats Wistar. The study recorded the following parameters: assess-

ment of cellular composition of bronchopulmonary lavage study of C-reactive protein, hematological parameters: total leukocyte count, leukocyte count (lymphocytes, monocytes, eosinophils, granulocytes), ESR determination, histology and morphology. As a result, the instillation of LPS solution in the lungs of animals observed pathological changes characteristic of acute inflammation reaction: predominance of neutrophilic leukocytosis with management and with a "shift to the left of the formula," the elevation of C-reactive protein blood plasma, increasing the number of leukocytes (mainly due to neutrophils) in bronchoalveolar lavage. Also observed in the bronchoalveolar lavage fluid increase in total protein and albumin, the amount of pro-inflammatory cytokines. Increasing the level of the latter also observed in the blood. Intratracheal administration of LPS induces a strong inflammatory response of various departments of the lower respiratory tract. Initial stage (24 hours) correspond inflammation acute bronchiolitis and acute bronchitis with characteristic features: the presence of exudate from the cellular component within the airways, as well as infiltration and peribronchial peribronchiolar areas. Later (24-72 hours) and inflammation progressed rapidly developed into acute pneumonia of varying severity from melkoochagovogo macrofocal to drain with the collapse of pneumonia.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beutler, B., Rietschel, E. T. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. // *Nat. Rev. Immunol.*, 2003, vol. 3, p. 169-176.
2. Bhakdi S, Grimminger F, Suttrop N, Walmrath D, Seeger W. Proteinaceous bacterial toxins and pathogenesis of sepsis syndrome and septic shock: the unknown connection. // *Med Microbiol Immunol*, 1994, vol. 183, p. 119-144.
3. Caroff, M., Karibian, D. Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydr. Res*,

2003, vol. 338, p. 2431-2447.

4. Hament, J. M.; Kimpen, J. L.; Fleer, A. & Wolfs, T. F. Respiratory viral infection predisposing for bacterial disease: a concise review. // *FEMS Immunol Med Microbiol*, 1999, vol. 26, p. 189-195.
5. Lynch JP. Hospital-acquired pneumonia. // *Chest*, 2001, vol. 119, p. 373S-384S.
6. Meduri GU. The role of the host defense response in the progression and outcome of ARDS: pathophysiological correlations and response to glucocorticoid treatment. // *Eur Respir J*, 1996, vol. 9: p. 2650-2670.
7. Nathens, A. B.; Bitar, R.; Watson, R. W.; Issekutz, T. B.; Marshall, J. C.; Dackiw, A. P. & Rotstein, O. D. Thiol-mediated regulation of ICAM-1 expression in endotoxin-induced acute lung injury. // *J Immunol*, 1998, vol. 160, p. 2959-2966.
8. Oliveira, E. C.; Marik, P. E. & Colice, G. Influenza pneumonia: a descriptive study. // *Chest*, 2001, vol. 119, p. 1717-1723.
9. Peltola, V. T.; Murti, K. G. & McCullers, J. A. Influenza virus neuraminidase contributes to secondary bacterial pneumonia. // *J Infect Dis.*, 2005, vol. 192, p. 249-257.
10. Wolfe F, Michaud K. The clinical and research significance of the erythrocyte sedimentation rate. // *J. Rheumatol*, 1994; vol. 21, p. 1227-37

СПИСОК СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ В ЖУРНАЛЕ В 2013 ГОДУ

Рубрика	Название статьи, авторы	№	Страницы
Инвазионные болезни	Разработка гипериммунной сыворотки против пневмонии свиней. <i>Вербицкий А.А.</i>	1	6-10
	Динамика отдельных показателей минерального обмена при ассоциированной форме цирковироза. <i>Крысенко Ю.Г., Трошин Е.И., Капачинских Н.А.</i>	1	10-13
	Влияние дозы заражения на репродукцию ооцист эймерий цыплят. <i>Бочин В.А.</i>	1	13-17
	Степень зараженности свиней паразитами желудочно-кишечного тракта на промышленных комплексах Удмурдской республики. <i>Мкртчян М.Э., Трошин Е.И., Вострухина А.С.</i>	2	6-10
	Естественная резистентность организма свиней при смешанной нематодозной инвазии. <i>Пономарь С.И.</i>	2	10-16
	Эффективность исектоакарицидных ошейников Барс против блох, иксодовых клещей у собак и кошек. <i>Енгашев С.В., Енгашева Е.С., Новак М.Д., Повод А.В.</i>	3	6-9
	Кинетика и динамика выведения ивермектина из организма овец после применения препарата «Иверлог» (Сообщение 1). <i>Енгашева Е.С., Русаков С.В., Бонарцев А.П., Яковлев С.Г.</i>	3	9-13
	Производственные испытания препарата «Гельмицид» при трематодозах, цестодозах и стронгилятозах овец и крупного рогатого скота. <i>Шодмонов И., Енгашев С.В.</i>	3	13-19
	Динамика оседания ооцист <i>Eimeria tenella</i> в различных поддерживающих средах. <i>Бочин В.А.</i>	3	19-22
	Биохимические показатели крови индюков при эймериозно-гистомонозной инвазии. <i>Харив И.И.</i>	4	6-12
Эффективность иммунизации инактивированной эмульсионной вакциной против респираторного микоплазмоза и ее ассоциированной формы с вирусными антигенами. <i>Панкратов С.В., Рождественская Т.Н., Придыбайло Н.Д.</i>	4	12-17	
Незаразные болезни	Влияние абдоминальной декомпрессии на структуру популяции эритроцитов крыс в условиях стресса. <i>Корочкина Е.А., Племяшов К.В.</i>	1	17-20
	Некоторые показатели обмена веществ крупного рогатого скота при язвенной болезни языка. <i>Локес П.И., Канивец Н.С.</i>	1	20-23
	Кислотная резистентность и популяционный состав эритроцитов коров, больных хронической гематурией. <i>Левченко В.И., Сливинская Л.Г., Максимович И.А., Лывчук Н.Г., Щербатый А.Р.</i>	2	16-22
	Результаты лечения больных кроликов анемией. <i>Ковалёв С.П., Овсянников А.Г.</i>	3	22-26
	Экологически безопасные средства фармакокоррекции минерально-витаминной недостаточности у поросят на фоне вторичного иммунодефицитного состояния. <i>Овчаренко Т.М., Дерезина Т.Н., Виноходов В.В.</i>	3	26-31
	Повышение эффективности химиотерапии бронхопневмонии телят с помощью иммуностимуляторов. <i>Войтенко В.Д.</i>	4	17-22

Международный вестник ветеринарии, № 4, 2013г.

Рубрика	Название статьи, авторы	№	Страницы
Хирургия	Структурно-функциональные изменения коленного сустава у крыс при экспериментальном артрите. <i>Нифонтов К.Р.</i>	1	23-26
	Микробный пейзаж и эффективность хирургического лечения при пародонтозе у домашних кошек. <i>Звенигородская Т.В.</i>	2	22-26
	Копытная гниль у овец в провинции Сетиф Республики Алжир. <i>Сиссауи Мехди.</i>	2	26-30
	Опыт лечения ран у собак. <i>Слюсар Г.В.</i>	4	22-26
	Клинико-морфологические параллели остеодегенерации в условиях применения имплантов с покрытием на основе сверхтвердых соединений. <i>Мечов М.П., Шакирова Ф.В.</i>	4	26-31
	Гистологическая оценка эффективности лечения гнойного остеомиелита у кошек. <i>Собчишина Т.Н.</i>	4	31-35
Акушерство, гинекология	Этиология и профилактика послеродовых болезней у коров. <i>Батраков А.Я., Виденин В.Н.</i>	1	26-29
	Морфометрические показатели шейки матки крольчих. <i>Малакшинова Л.М., Попов А.П.</i>	1	29-34
	Воспроизводительная способность самцов в условиях стресса и методы ее коррекции. <i>Корочкина Е.А., Племяшов К.В.</i>	3	31-35
Фармакология, токсикология, фармация	Влияние «Мастинола» и «Мастисана А» на биохимические показатели секрета вымени лактирующих коров. <i>Барышев В.А.</i>	1	34-36
	Повышение эффективности мазей при лечении животных с гнойными ранами. <i>Войтенко В.Д., Фисенков Н.Н.</i>	1	36-39
	Изучение противовоспалительной активности нового ветеринарного препарата Афлогилекс на модели экспериментального адьювантного артрита. <i>Рыбакова А.В., Крышень К.Л., Соколов В.Д.</i>	1	39-43
	Адаптогенные свойства премикса янтамет. <i>Скалкина О.А., Андреева Н.Л.</i>	1	43-47
	Изучение терапевтической эффективности кормовой добавки «Спорометрин» на телятах. <i>Балышев А.В., Абрамов С.В., Буглак А.Е., Власкина Е.А.</i>	2	30-34
	Острая пероральная и подострая токсичность препарата Трисульфон сульфон суспензия. <i>Емельянова Н.Б., Абрамов В.А., Глазьев Е.Н., Балышев А.В.</i>	2	34-37
	Оптимизация экспресс-метода определения токсичности биологических субстратов с использованием инфузорий <i>Paramecium caudatum</i> . <i>Соколов В.Д., Смирнова Е.М., Попов А.В.</i>	2	37-40
	Сравнительная оценка диоксициновых мазей. <i>Фисенков Н.Н.</i>	3	35-38
	Влияние хлорида кадмия на ферментативную систему антиоксидантной защиты организма бычков. <i>Гутый Б.В.</i>	3	38-42
	Острая и субхроническая токсичность препарата Эминол 10%. <i>Никонова Э.Б., Новиков Д.Д., Кузнецов Ю.Е.</i>	3	42-46
	Оценка раздражающего действия глазных капель Аллергоспин 1% раствор (тест Драйза, Draize eye irritation test). <i>Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Пожарицкая О.Н., Макаров В.Г.</i>	3	46-49
Стресс-вызванный кратковременной 3-х часовой иммобилизацией у крыс. <i>Винникова С.В.</i>	4	35-38	

Международный вестник ветеринарии, № 4, 2013г.

Рубрика	Название статьи, авторы	№	Страницы
Фармакология, токсикология, фармация	О безопасности и эффективности применения пищевой добавки Дилактин Форте Плюс в производстве мяса кур. <i>Шамеко И. В., Андреева Н.Л., Евелева В.В.</i>	4	38-44
	Влияние мезенхимальных стволовых клеток на восстановление выделительной функции почек у котят при острой экспериментальной почечной недостаточности. <i>Мазуркевич А.И., Бобось А.Л.</i>	4	44-51
Зоогигиена, санитария, кормление	Эколого-токсикологическая оценка аэрогенного пути загрязнения поверхностных вод. <i>Гребцов М.Р., Стекольников А.А.</i>	1	47-51
	Влияние способов содержания на резистентность новорожденных телят. <i>Пономарев В.В.</i>	1	51-55
	Свойства <i>Enterococcus faecalis</i> , изолированных из куриных и перепелиных яиц. <i>Смирнова Л.И., Приходько Е.И., Булушов Д.Г.</i>	2	40-45
	Обсеменность мяса боровой дичи сальмонеллами в Республике Саха (Якутия). <i>Петрова Е.М., Малтугуева М.Х., Васильев С.В.</i>	2	45-47
	Ветеринарно-санитарная экспертиза и оценка коровьего молока при применении препарата «Мультиджект ИММ». <i>Ветров И.Б.</i>	2	47-50
	Биологическая оценка применения диоксида кремния на организм лабораторных крыс. <i>Кузнецов А.Ф., Ачилов В.В., Зенков К.Ф., Никитин Г.С.</i>	2	50-55
	Аминокислотный состав мышечной ткани северных оленей при афлатоксикозе В1. <i>Сидоров М.Н., Томашевская Е.П.</i>	3	49-52
	Санитарная оценка рыб при триенофорозе, в пресноводных водоемах Якутии, с учетом интенсивности инвазии. <i>Громова М.А., Малтугуева М.Х.</i>	4	51-55
Биохимия, анатомия, физиология	Гистохимические показатели фундальных желез сычуга ягнят при искусственном выращивании. <i>Валькова В.В., Бушуккина О.С., Здоровинин В.А.</i>	1	55-59
	Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови крыс после локальной абдоминальной декомпрессии. <i>Кочергин И.А.</i>	1	59-62
	Обмен белков сыворотки крови бычков вольнской мясной породы разных типов высшей нервной деятельности. <i>Паска М.З.</i>	2	55-59
	Процентное соотношения массы внутренних органов с точки зрения поиска органа-мишени при оценке токсического воздействия. <i>Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Авдеева О.И., Ходько С.В., Ковалева М.А.</i>	2	59-63
	Оценка неврологического статуса домашних и лабораторных животных. <i>Васильев Ю.Г., Вольхин И.А., Данилова Т.Г., Берестов Д.С.</i>	3	52-56
	Влияние препарата Сорби на биохимические показатели телят с диарейным синдромом. <i>Михалева Т.В.</i>	3	56-60
	Факторы неспецифической резистентности у коров, страдающих микотоксикозом. <i>Попова О.М., Скопичев В.Г.</i>	3	60-64

Международный вестник ветеринарии, № 4, 2013г.

Рубрика	Название статьи, авторы	№	Страницы
Биохимия, анатомия, физиология	Влияние кадмия на активность церулоплазмينا и АСТ сыворотки крови крыс. <i>Шорникова Н.И., Судакова Н.Н., Конопатов Ю.В., Васильева С.В.</i>	3	64-67
	Оценка влияния пивных дрожжей, цеолита на электрическую активность желудка голубого песца при гиповитаминозе В1. <i>Мантатова Н.В., Тасарунова А.С., Санжиева С.Е.</i>	4	55-60
	Показатели местного иммунитета ротовой полости собак при хроническом катаральном гингивите. <i>Семанюк Н.В., Хомин Н.М.</i>	4	60-65
	Влияние гена KCNQ3 на содержание жира в молоке коров. <i>Мукий Ю.В., Смарагдов М.Г.</i>	4	65-68
	Химический состав жира-сырца лосей в условиях Республики Саха (Якутия). <i>Агеев В.П., Аргунов А.В., Дьячковская Л.С.</i>	4	68-72
	Индикация реовируса методом ПЦР. <i>Ефимова М.А., Гаффаров Х.З., Фаизов Т.Х., Хаммадов Н.И.</i>	4	72-76
	Определение клеточного состава молозива клинически здоровых и больных маститом свиноматок при лечении антистафилококковым препаратом. <i>Корзенников С.Ю.</i>	4	76-80
Экспериментальная фармакология	Лабораторные животные: нужен ли специалист для работы с ними? <i>Фатеева Е.И.</i>	3	67-72
	Психоэмоциональное состояние и подготовка лабораторных крыс к диагностическим процедурам. <i>Селезнева А.И., Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Ковалева М.А., Ходько С.В., Макаров В.Г.</i>	3	72-78
	Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным. <i>Макаренко И.Е., Авдеева О.И., Ванатиев Г.В., Рыбакова А.В., Ходько С.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	3	78-84
	Характеристика строения скелета эмбрионов крыс при изучении эмбриотоксичности лекарственных препаратов. <i>Посысаева Е.С., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Авдеева О.И., Седова С.В., Рыбакова А.В.</i>	3	84-89
	Влияние условий содержания и повторности тестирования на поведение крыс линии Вистар в тесте «Открытое поле». <i>Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	4	80-88
	Особенности состояния гемостаза у крыс. <i>Кашкин В.А., Соколова А.П., Абрашова Т.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	4	88-94
	Перспективы применения диквертина для повышения физической выносливости. <i>Ковалева М.А., Селезнева А.И., Гуцина С.В., Макарова М.Н.</i>	4	94-100
	К механизму противовоспалительного действия комплекса, выделенного из печени трески. Антиэкссудативное действие. (сообщений №1). <i>Крышень К.Л., Демченко Д.В., Шиков А.Н., Пожарицкая О.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г.</i>	4	100-106
	Методические указания по экспериментальному Моделированию ЛПС индуцированной острой пневмонии у крыс. Сообщение №1. <i>Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Соколов В.Д., Крышень К.Л., Ходько С.В., Макаров В.Г.</i>	4	106-116



НПП «АВИВАК»

*гарантия здоровья
Вашей птицы*

АВИВАК-САЛЬМОВАК

ПРОФИЛАКТИКА
САЛЬМОНЕЛЛЕЗА
ПТИЦ



188502, Ленинградская область,
Ломоносовский район, д. Горбунки
Тел.: (812) 677-38-80, 677-38-81
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

**ВАКЦИНА ПРОТИВ
САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ПТИЦ,
ИНАКТИВИРОВАННАЯ**

Ари-Сан
Профессиональная ветеринария



- **ПИРО-СТОП - препарат выбора** при составлении схемы лечения кровепаразитарных заболеваний у животных.
- Обеспечивает **100%-ную терапевтическую эффективность** в течение 4-6 недель.
- **За 48 часов** очищает организм от возбудителей пироплазмидоза животных.
- **Низкая токсичность (содержит имидакарб).**
- **Широкий спектр действия.**
- **Низкая стоимость препарата.**
- **Прост и удобен в применении.**

ООО НПО "АПИ-САН" - производство и продажа широкого ассортимента ветеринарных препаратов и средств по уходу за животными.
Тел./факс: +7 (495) 580-7713,
web: www.api-san.ru, e-mail: info@api-san.ru

ПИРО-СТОП
ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА
КРОВЕПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

МВВ

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